

Karbapeneme Dirençli Gram-Negatif İzolatlarda New Delhi Metallo-Beta-Laktamaz-1 (NDM-1) Varlığının PCR ile Araştırılması

Investigation of the Presence of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase-1 (NDM-1) by PCR in Carbapenem-Resistant Gram-Negative Isolates

Keremettin YANIK¹, Dilek EMİR¹, Cafer EROĞLU¹, Adil KARADAĞ¹, Akif Koray GÜNEY²,
Murat GÜNAYDIN¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

¹ Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Samsun, Turkey.

² Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

² Atatürk Chest Diseases and Chest Surgery, Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 13.12.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 14.03.2013

ABSTRACT

Bacteria producing New Delhi metallo-beta-lactamase-1 (NDM-1) exhibit high level resistance to beta-lactams including carbapenems. This broad-spectrum resistance limits treatment options for infections caused by NDM-1 producers. NDM-1 was first isolated from an Indian patient in Sweden; since then, NDM-1 producing isolates have been identified in many countries including Turkey. In this study, we investigated the presence of NDM-1 by PCR method in various gram-negative isolates recovered from clinical specimens in tertiary care hospitals in Samsun, Turkey. A total of 210 carbapenem-resistant gram-negative isolates (132 *Acinetobacter baumannii*, 54 *Pseudomonas aeruginosa*, 5 *Pseudomonas putida*, 8 *Enterobacter cloacae*, 3 *Enterobacter aerogenes*, 3 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Providencia rettgeri*, 2 *Escherichia coli* and 1 *Citrobacter freundii*) were included in the study. Identification and antibiotic susceptibility testing of the isolates were performed by using Vitek-2 Compact (bioMérieux, France) and BD Phoenix (BD Diagnostic Systems, MD) automated systems. The results of antibiotic susceptibility testing were interpreted according to the CLSI recommendations. In our study, NDM-1 gene was not detected in any of the clinical isolates by PCR. There was only one case study that reported the presence of NDM-1 in clinical isolates from Turkey [Poirel L et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:2784]. Our data, together with the others, indicated that the existence of NDM-1 in clinical isolates is not common in Turkey. However, since NDM-1 is a plasmid-encoded enzyme, there is always a risk of spread of this resistance through the bacterial strains in our country. Therefore, continuous surveillance and investigation of carbapenem-resistant isolates with resistance patterns suggestive of NDM-1 may enable to identify NDM-1 producing isolates. Meanwhile special care should be given on rational antibiotic use and establishment of appropriate infection control policies to prevent the spread of NDM-1 producers and other potential resistant strains.

Key words: NDM-1; metallo-beta-lactamase; carbapenem resistance; PCR.

İletişim (Correspondence): Dr. Akif Koray Güney, Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Keçiören, 06280 Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 355 2110-7275, **E-posta (E-mail):** drakifkorayguney@hotmail.com

Sayın Editör,

New Delhi metallo-beta-laktamaz-1 (NDM-1) üretebilen patojenlerin ortaya çıkması dünya genelinde önemli bir problemdir¹. NDM-1 üreten bakteriler, birçok diğer antibiyotik gruplarına olduğu gibi, karbapenemleri de içeren beta-laktamlara oldukça dirençlidir². Bu geniş spektrumlu direnç, NDM-1 üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır³. NDM-1 üreten suşların diğer bakterilere direnç genlerini transfer edebilme özelliklerinden dolayı, bu direnç paterninin dünya genelinde yayılma potansiyeli mevcuttur⁴. NDM-1 ilk defa İsveç'te Hindistanlı bir hastadan izole edilmiş; daha sonra NDM-1 üreten bakteriler birçok ülkede tanımlanmıştır^{5,6}. Ülkemizde ise, Poirel ve arkadaşlarının⁷ yayınladıkları olgu bildirisi dışında NDM-1 varlığıyla ilgili veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Karadeniz Bölgesinde bulunan 1150 yataklı üniversite hastanemizde izole edilen çeşitli gram-negatif bakterilerde, PCR yöntemiyle NDM-1 varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya, tanısal bakterioloji laboratuvarında Haziran-Aralık 2011 tarihleri arasında izole edilen karbapeneme dirençli 210 gram-negatif suş dahil edilmiştir. İzolatların dağılımı; *Acinetobacter baumannii* (n= 132), *Pseudomonas aeruginosa* (n= 54), *Pseudomonas putida* (n= 5), *Enterobacter cloacae* (n= 8), *Enterobacter aerogenes* (n= 3), *Klebsiella pneumoniae* (n= 3), *Providencia rettgeri* (n= 2), *Escherichia coli* (n= 2) ve *Citrobacter freundii* (n= 1) şeklindedir. Çalışmaya alınan izolatlar, karbapenem grubunda yer alan imipenem, meropenem veya doripenem antibiyotiklerinden en az birine dirençlidir. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek-2 Compact (bioMérieux, Fransa) ve BD Phoenix (BD Diagnostic Systems, MD) otomatize sistemleri kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda yorumlanmıştır⁸. PCR yöntemi için DNA ekstraksiyonu ticari bir kit (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Applied Science, ABD) ile yapılmış; NDM-1 gen bölgesi Krüttgen ve arkadaşları⁹ tarafından tanımlanan primerler (Pr1F:5'-CTTCCAACGGTTT-GATCGTC ve Pr2R:5'-ATTGGCATAAGTCGCAATCC) kullanılarak çoğaltılmıştır. Çalışmada kullanılan pozitif kontrol suşları, Dr. A. Hishinuma (Japonya) ve Dr. J. Vila (İspanya)'dan temin edilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda, toplam 210 klinik izolatin hiçbirinde NDM-1 gen pozitifliği tespit edilmemiştir. Poirel ve arkadaşlarının¹⁰ 2011 yılında yayınlanan çalışmasında, NDM-1 üreten *K.pneumoniae* ST38 dizi tipinin Irak'tan Fransa'ya uluslararası transferi gösterilmiştir. Dolayısıyla bu araştırmacılar daha sonra Türkiye'de izole ettikleri suşun, muhtemelen başka bir ülkeden (Irak) transfer edildiğini öne sürmüşlerdir⁷. Bu olgu bildirimi dışında ülkemizde NDM-1 varlığını gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Birçok klinik izolatu değerlendirmediğimiz bu çalışmada da, NDM-1 varlığı tespit edilememiştir. Bu sonuçlar NDM-1 varlığının ülkemizde henüz yaygın olmadığına işaret etmektedir. Ancak, NDM-1 plazmid ile kodlanan bir enzim olduğundan ve farklı coğrafyalar arası insan seyahatleri giderek arttığından, bu direncin ülkemizde de bakteriler arasında yayılma riski bulunmaktadır. Dolayısıyla, NDM-1 varlığını düşündüren antibiyotik direnç paternine sahip karbapeneme dirençli izolatların araştırılması ve antibiyotik kullanımı ve enfeksiyon kontrol politikalarının izlenmesi, NDM-1 üreten bakterilerin tanımlanmasını ve yayılımlarının engellenmesini sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızda kullanılan pozitif kontrol suşlarını gönderen Dr. Akira Hishinuma (Dokkyo Medical University, Japan) ve Dr. Jordi Vila Estape'ye (Barcelona University Faculty of Medicine, Spain) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Berçot B, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. In vitro evaluation of antibiotic synergy for NDM-1-producing *Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother 2001; 66(10): 2295-7.
2. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. The emerging NDM carbapenemases. Trends Microbiol 2011; 19(12): 588-95.

3. Shakil S, Azhar EI, Tabrez S, et al. New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): an update. J Chemother 2011; 23(5): 263-5.
4. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by gram-negative bacteria? J Antimicrob Chemother 2011; 66(4): 689-92.
5. Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(12): 5046-54.
6. Nordmann P, Couard JP, Sansot D, Poirel L. Emergence of an autochthonous NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* in Europe. Clin Infect Dis 2012; 54(1): 150-1.
7. Poirel L, Ozdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoglu S, Ozer UG, Nordmann P. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56(5): 2784-5.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 21st Informational Supplement CLSI Document M100-S21, 2011. CLSI, Wayne, PA.
9. Krüttgen A, Razavi S, Imöhl M, Ritter K. Real-time PCR assay and a synthetic positive control for the rapid and sensitive detection of the emerging resistance gene New Delhi Metallo- β -lactamase-1 (bla(NDM-1)). Med Microbiol Immunol 2011; 200(2): 137-41.
10. Poirel L, Fortineau N, Nordmann P. International transfer of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from Iraq to France. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(4): 1821-2.