

Epidemiologia oporności na substancje antybakteryjne

Monitoring *Escherichia coli*

Magdalena Zając, Dariusz Wasyl
Zakład Mikrobiologii PIWet-PIB
Krajowe Laboratorium Referencyjne
Salmonellozy i Antybiotykooporności



Puławy, 2019-06-11

Oporność – definicje

zdolność niektórych drobnoustrojów do przeżycia i wzrostu przy danej koncentracji czynnika przeciwdrobnoustrojowego, która jest zazwyczaj wystarczająca do zabicia drobnoustrojów tego samego gatunku (Dyrektywa 2003/99/WE, art. 2, pkt. 2 c)

Oporność:

- kliniczna – brak skuteczności klinicznej substancji czynnej;
- farmakologiczna – brak możliwości osiągnięcia stężenia substancji czynnej niezbędnej do osiągnięcia działania antybakteryjnego;
- mikrobiologiczna – obecność mechanizmu warunkującego brak skuteczności antybakteryjnej substancji czynnej



Epidemiologia oporności

- MRSA** – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – gronkowiec złocisty oporny na metycylinę
– oporność na penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy, karbapenemy
- VRE** – Vancomycin-Resistant *Enterococcus* – enterokoki odporne na wankomycynę
– nabyta oporność na wszystkie glikopeptydy
- ESBL** – extended spectrum β -lactamases – β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym
– oporność na penicyliny, cefalosporyny (w tym 3G i 4G, z wyj. cefamycyn), monobaktamy (aztreonam)
- KPC** – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
– *K. pneumoniae* i inne *Enterobacteriaceae* – oporność na karbapenemy (leki „ostatniej szansy”) i wszystkie inne β -laktamy
- MBL** – metallo- β -laktamaza
– oporność prawie wszystkie β -laktamy
- NDM** – New Delhi MBL
- MDR** – Multi-drug resistance – wielooporność
– nabyta oporność na co najmniej 3 klasy antybiotyków
- XDR** – Extensive drug resistance – rozszerzona wielooporność;
– nabyta oporność na wszystkie, z wyjątkiem 2 lub mniej, badanych klas antybiotyków
- PDR** – Pan drug resistance
– nabyta oporność na wszystkie substancje ze wszystkich badanych klas antybiotyków



Referencyjna metoda oznaczania oporności PN-EN ISO 20776-1:2007

Przygotowanie zawiesiny bakterii



Posiew i inkubacja testu



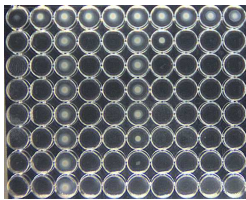
Odczyt i interpretacja



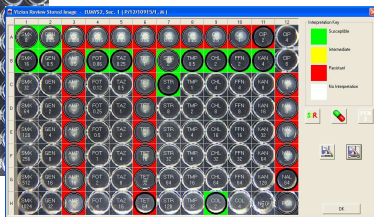
Metoda mikrozocień w bulionie

TREK
DIAGNOSTIC SYSTEMS
LABORATORY TECHNOLOGIES

Minimum Inhibitory Concentration najmniejsze stężenie hamujące (mg/L)



odczyt



interpretacja

Kryteria interpretacji

epidemiological cutoff values (ECOFFs)
epidemiologiczne wartości odcięcia

kategoryzują izolat do grupy szczepów:

- Wild Type (WT \leq x mg/L)
- Non-Wild Type (NWT $>$ y mg/L)

ocena prawdopodobieństwa wystąpienia mechanizmów oporności nabytej

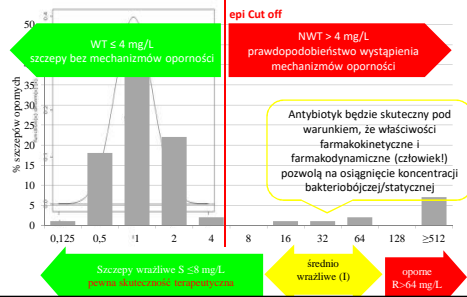
breakpoints
wartości graniczne

kategoryzują izolat do grupy szczepów:

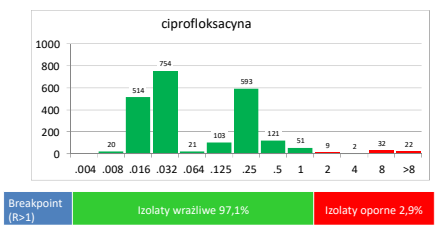
- wrażliwych (S $<$ x mg/L)
- średniowrażliwych (x \leq I $<$ y mg/L)
- opornych (R $>$ y mg/L)

ocena prawdopodobieństwa skuteczności terapeutycznej

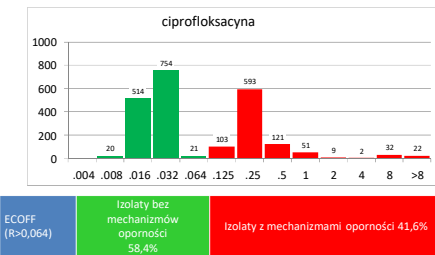
Kryteria epidemiologiczne a kliniczne



Kryteria epidemiologiczne a kliniczne



Kryteria epidemiologiczne a kliniczne



Monitoring oporności *E. coli*: badania urzędowe 2014 - 2018

DECYZJA WYKONAWCZA KOMISJI
z dnia 12 listopada 2013 r.
w sprawie monitorowania i sprawozdawczości w zakresie oporności na środki
przeciwdrobnoustrojowe u bakterii zoonotycznych i komensalnych
(notyfikowana jako dokument nr C(2013) 7145)
(Tekst mający znaczenie dla EOG)
(2013)652/UE



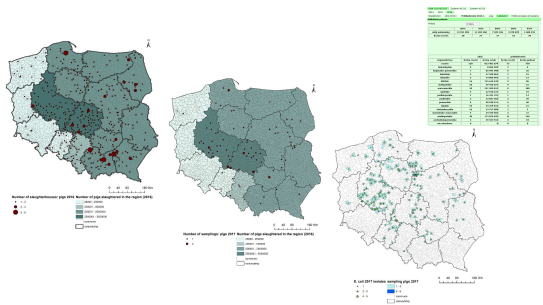
Escherichia coli: monitoring czynny - kał (jelita ślepe) zwierząt w trakcie uboju

Rok	<i>E. coli</i>		
	komensalne	oporne na cefalosporyny	oporne na karbapenemy
2014	brojlery, indyki		
2015	świnie (tuczniaki)	świnie (tuczniaki)	
2016	brojlery, indyki	brojlery, indyki	brojlery, indyki
2017	świnie (tuczniaki)	świnie (tuczniaki)	świnie (tuczniaki)
2018	brojlery, indyki	brojlery, indyki	brojlery, indyki
...			

Instrukcje GLW

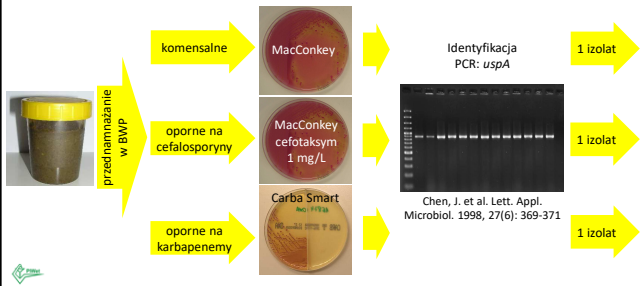
170 izolatów lub 300 próbek
Campylobacter: brojlery i indyki
oporne fenotypy *E. coli*: mięso w obrocie

Reprezentatywność pobierania próbek

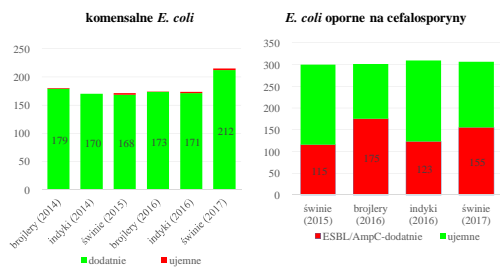


WWW: Koordynatorzy

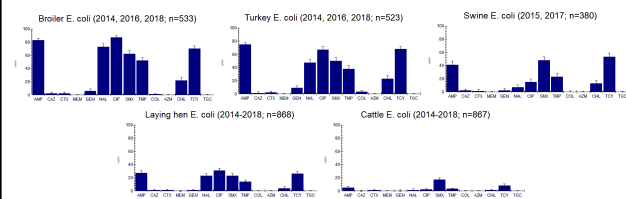
Metody: izolacja i identyfikacja *E. coli*



Liczba szczepów (częstość występowania)

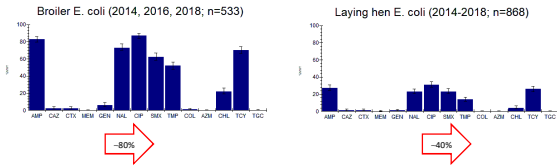


Komensalne *E. coli*: różnice w zależności od źródła izolacji



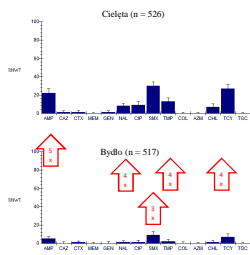
- Różna presja selekcyjna w zależności od gatunku

Komensalne *E. coli*: różnice w zależności od sektora produkcji



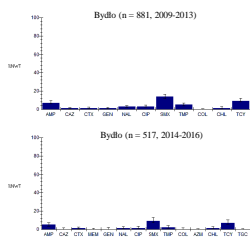
- Różna presja selekcyjna (zużycie antybiotyków) u:
 - Brojlerów
 - Kur niosek (ograniczenia użycia wynikające z nieśności)

Oporność komensalnych *E. coli* izolowanych od bydła i cieląt, 2014-2016



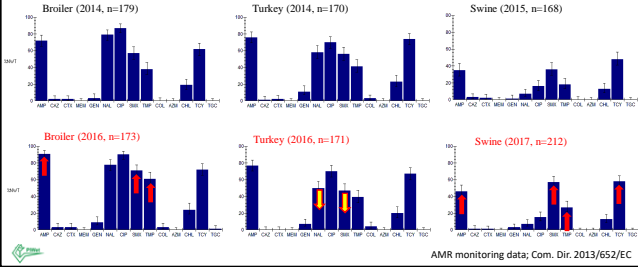
- Statystycznie istotne różnice
- Przyczyny (?)
 - fizjologia p. pok.
 - preparaty p/mastitis
 - skarmianie mleka krów w trakcie leczenia

Oporność komensalnych *E. coli* izolowanych od bydła, 2009-2016

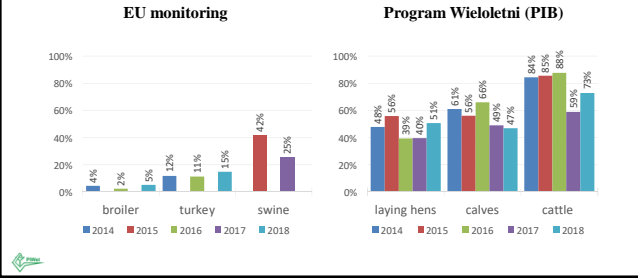


Brak różnic statystycznych

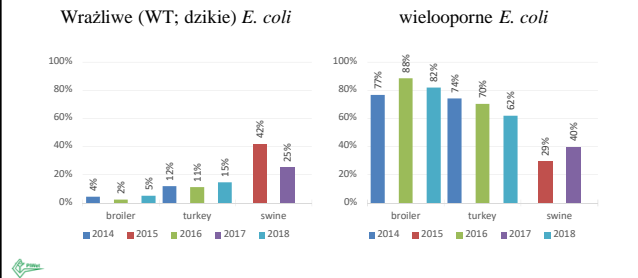
Trendy oporności *E. coli* w latach 2014-17



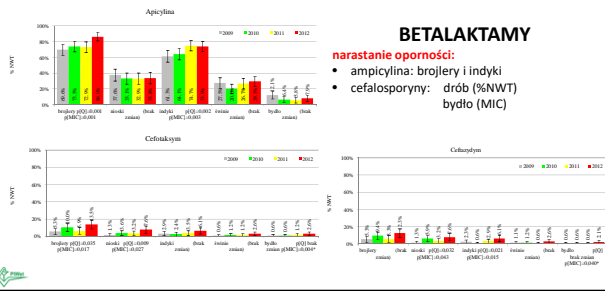
Indeks oporności: odsetek izolatów dzikich w komensualnych *E. coli*: ekstremalnie niski u drobiu



Indeks oporności: komensalne *E. coli*

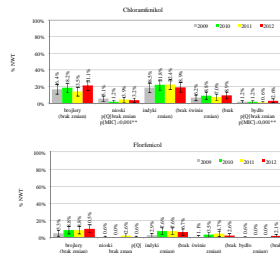


Trendy oporności komensalnych *E. coli*

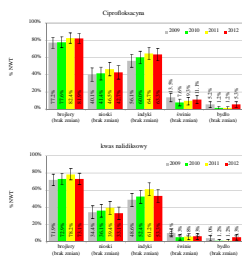


Trendy oporności komensalnych *E. coli*

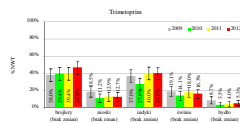
FENIKOLE
spadek wartości MIC
 • chloramfenikol i florfenikol: nioski
 • chloramfenikol: bydło



Trendy oporności komensalnych *E. coli*



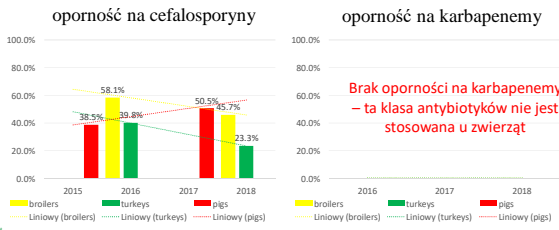
brak zmian częstości występowania oporności w czasie:
CHINOLONY
TRIMETOPRIM



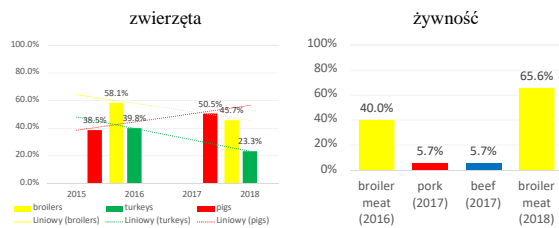
CIA



AMR Monitoring: oporność typu ESBL-/AmpC- oraz na karbapenemy u *E. coli* izolowanych od zwierząt



AMR Monitoring: oporność typu ESBL-/AmpC *E. coli* izolowanych od zwierząt i żywności



Oporność na kolistynę: na krawędzi kryzysu

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study



Background Colistin resistance has been documented worldwide but has never been reported via horizontal gene transfer. Finding a common resistance protein or associated resistance to colistin in both wild animals in China and human beings of colistin resistance was observed. Whole-genome sequencing, culture programs that could be performed in multiple sites, we linked these data to a detailed genetic analysis of plasmid-mediated colistin resistance. Herein, we report the emergence of the first plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in China.

Methods The mcr-1 gene in 22 colistin-resistant strains was identified by whole-genome sequencing and subsequent MCR-1 amplification. High-resolution melt analysis, comparative genomics, and phylogenetic analysis were performed between MCR-1 and human MCR-1. The ability of MCR-1 to confer colistin resistance in vivo was assessed in a murine model.

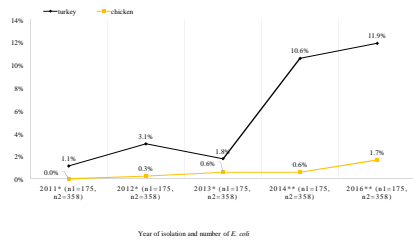
Findings Plasmid-mediated colistin resistance was observed in the majority of the plasmid-mediated mcr-1 genes. The plasmid carrying the mcr-1 gene was identified as IncX4, a member of the XbaI family of plasmids. The plasmid-mediated mcr-1 gene was identified as a member of the IncX4 family of plasmids. The plasmid-mediated mcr-1 gene was identified as a member of the IncX4 family of plasmids. The plasmid-mediated mcr-1 gene was identified as a member of the IncX4 family of plasmids.

Conclusions The emergence of MCR-1 outside the family of the first group of colistin resistance to plasmid-mediated colistin resistance through genetic transfer in China. MCR-1 is likely to confer colistin resistance in human beings such as MDR1. Our findings emphasize the urgent need for coordinated global action to the high-level multidrug-resistant colistin resistance.

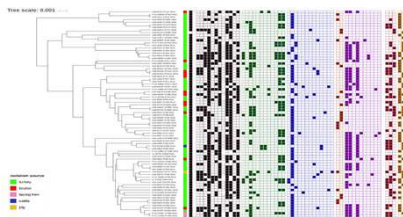
- 18 listopada 2015 r.
- obecność sekwencji genu *mcr-1* potwierdzona w Danii, Francji i UK (WGS)
- Polska: izolaty podejrzane (MIC >2 mg/L)
- 8 grudnia 2015
- EURL publikuje protokół PCR i wysyła materiał referencyjny (DNA)



Oporność na kolistynę: *E. coli* w Polsce



Oporność na kolistynę *E. coli* w Polsce (WGS – sekwencjonowanie genomowe)



76.3% IncX4-mcr-1 contigs
6.2% IncHI2-mcr-1 contigs



Podsumowanie

1. Zwierzęta hodowlane są rezerwuarem opornych *E. coli*
2. Oporność *E. coli* jest wskaźnikiem intensywności i preferencji stosowania substancji antibakteryjnych w chowie zwierząt
3. Zjawisko oporności ma charakter dynamiczny, a epidemiologia oporności jest bardzo skomplikowana
4. Selekcja opornych bakterii środowiskowych może zachodzić w wyniku presji związanej ze stosowaniem antybiotyków w rolnictwie i medycynie (gnojowica, obornik, ścieki)