

WGS sekvenace enterobakterií produkujících transferabilní karbapenemázy - možnost integrace a využití národních dat v rámci EpiPulse platformy ECDC

101113387 — HERA2CZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA-1

Lucia Mališová, Barbora Zapletalová, Petra Španělová, Vladislav Jakubů, Helena Žemličková
Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Státní zdravotní ústav, Praha
lucia.malisova@szu.cz



ÚVOD

Karbapenemázy jsou enzymy produkovány některými gramnegativními bakteriemi, zejména enterobakteriemi, které jsou schopny inaktivovat široké spektrum beta-laktamových antibiotik, včetně karbapenemů. Produkce těchto enzymů představuje závažný zdravotnický problém, protože karbapenemy jsou považovány za antibiotika poslední volby v léčbě infekcí způsobených multirezistentními bakteriemi.

Enterobakterie produkující karbapenemázy (CPE – Carbapenemase-Producing *Enterobacterales*) zahrnují zejména druhy *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*.

Tyto klinicky významné bakterie způsobují zejména uroinfekce, nebo pneumonie (*Klebsiella*), včetně těžkých septických stavů. Transferabilní karbapenemázy se mezi různými kmeny a druhy bakterií rychle šíří a to zejména v nemocničním prostředí, kde jsou pacienti často vystaveni riziku kolonizace nebo infekce.

V Evropě postupně dochází ke zvyšování podílu enterobakterií rezistentních vůči karbapenemům. Od roku 2021 v České republice dramaticky vzrůstá výskyt kmenů s produkcí karbapenemáz, změnila se i struktura zastoupení jednotlivých enzymů, a to zejména ve prospěch metalobetalaktamázy typu NDM.

Tento trend ukazuje na rostoucí hrozbu CPE a zdůrazňuje potřebu včasné a spolehlivé diagnostiky, celorepublikového monitoringu výskytu těchto bakterií a vzhledu do genomického pozadí šíření CPE metodou sekvenování celého genomu (WGS).

Cílem tohoto projektu bylo zavést WGS do systému národní a mezinárodní genomické surveillance, zlepšit diagnostiku a identifikaci mechanismů rezistence/virulence u CPE a event. využít WGS v systému epidemiologických šetření. Součástí implementace WGS byla standardizace metody vlastního sekvenování i analýzy sekvenačních dat, včetně externího hodnocení kvality WGS. Konečným cílem bylo vytvořit robustní metodologii pro WGS a účinné nástroje pro zdokonalení systému surveillance bakterií rezistentních k antibiotikům.

MATERIÁL A METODY

1. Sběr CPE vzorků
2. Identifikace bakterií pomocí MALDI TOF (Matrix Assisted Desorption Ionization, Bruker, Německo)
3. Fenotypová identifikace produkce karbapenemáz (detekce *bla* genů - RT-PCR)
4. Příprava knihoven (Illumina postupy)
5. Sekvenace vzorků (Illumina MiSeq)
6. Zpracování dat, skládání genomů
7. Analýza a interpretace dat



VÝSLEDKY

- Postup sekvenování wgs byl implementován (n=80): detekce mechanismů rezistence u CPE (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae complex*, *Serratia marcescens*)
- *Escherichia coli*: analyzováno 25 karbapenemáz produkujících kmenů izolovaných v letech 2020 – 2024
- Identifikované karbapenemázy: OXA-48 (n=10), NDM-5 (n=8), KPC-2 (n=3), NDM-1 (n=1), NDM-4 (n=1), NDM-1 a OXA-48 (n=1), NDM-5 a OXA-48 (n=1)
- Sekvenční typy: ST12 (n=1), ST38 (n=6), ST69 (n=3), ST46 (n=1), ST101 (n=1), ST131 (n=1), ST167 (n=3), ST354 (n=1), ST361 (n=2), ST404 (n=1), ST442 (n=1), ST1193 (n=1), ST2448 (n=1), ST3268 (n=1), ST3580 (n=1)

Výzva EpiPulse, ECDC (2024-ARH-00008): Nárůst CPE izolátů *E. coli* ST131 (22 izolátů v roce 2019 oproti dvěma v roce 2014) a jejich geografické rozšíření (detekce v 11 zemích v roce 2019 oproti dvěma v roce 2014) je znepokojující. ECDC proto požádalo národní referenční laboratoře, aby v reakci na tento příspěvek EpiPulse zveřejnily informace o četnosti *E. coli* ST131 nesoucích karbapenemázové geny a zaslaly národní epidemiologická a WGS data pro analýzu CPE *E.coli* ST131 na úrovni Evropy.

Na základě genomických a genetických analýz epidemiologických dat ze 17 zemí EU/EHP byl identifikován výskyt *Escherichia coli* klonálního typu ST131 nesoucí karbapenemázové geny.

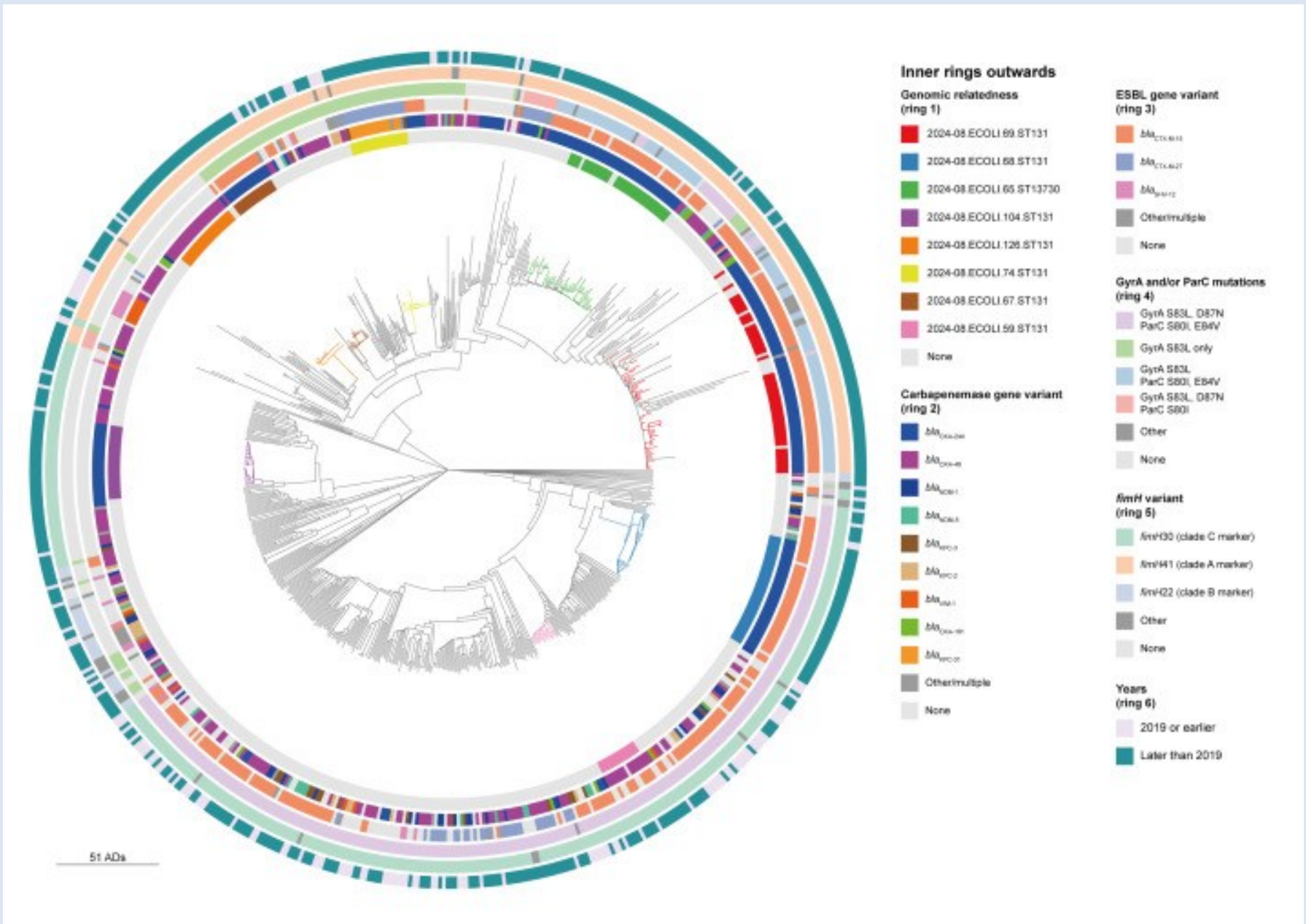
V období mezi lety 2012 a 2024 byla zaznamenána vzrůstající četnost detekce a diverzita těchto genů. Byla zjištěna i značná heterogenita v zeměpisném rozšíření a rychlosti šíření konkrétních genů těchto karbapenemáz, zejména v případě nedávného rychlého rozšíření izolátů *E. coli* ST131 nesoucích chromozomálně lokalizovaný gen *bla* OXA-244.

Publikace:

> Euro Surveill. 2024 Nov;29(47):2400727. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.47.2400727.

Emergence of *Escherichia coli* ST131 carrying carbapenemase genes, European Union/European Economic Area, August 2012 to May 2024

Anke Kohlenberg¹, Olov Svartström¹, Petra Apfalter², Rainer Hartl², Pierre Bogaerts³,



Fylogenetický strom izolátů *E. coli* ST131, včetně jejich SLV variant zahrnutých do analýzy genomické příbuznosti, EU/EHP a mimo EU, 2005-2024 (n = 691).

Závěry

1. V Národní referenční laboratoři pro antibiotika byl zaveden postup celogenomového sekvenování a analýza výstupních dat.
2. Národní referenční laboratoř pro antibiotika se účastnila výzvy evropského portálu pro surveillance infekčních onemocnění (EpiPulse).



Projekt „Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice“ (HERA2CZ) je spolufinancován Evropskou unií. Prezentované názory a postoje však představují pouze názory autorů a nemusí nutně odrážet názory a postoje Evropské unie nebo Evropské výkonné agentury pro zdraví a digitální oblast (HaDEA). Ani Evropská unie, ani Evropská výkonná agentura pro zdraví a digitální oblast (HaDEA) za ně nemohou nést odpovědnost.

