

Sledování antimikrobiální rezistence ve vodním prostředí: kombinace kultivačních metod a qPCR

Štěpánka Šabacká, Kateřina Sovová, Hana Zvěřinová Mlejnková

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i. Praha, Brno

Co je antimikrobiální rezistence a proč nás zajímá?

☐ Antimikrobiální odolávání

☐ Úmrtnost

☐ Neúčinnost

☐ Mimořádné

Bacterial species	Antimicrobial group/agent	Estimated incidence ^a of isolates from bloodstream infections with resistance phenotype (n per 100 000 population)						Trend 2019-2023 ^b	Change 2019-2023 (%) ^c
		2019	2020	2021	2022	2023			
<i>E. coli</i>	Aminopenicillin (amoxicillin/ampicillin) resistance	22.51	18.45	17.63	21.87	26.48	-		+17.6
	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	6.56	4.65	4.94	6.25	8.15	-		+24.2
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0.00 ^a	0.02 ^a	0.00 ^a	0.04 ^a	0.00 ^a	-		NA
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	9.49	7.07	6.75	7.73	8.81	-		-7.2
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^d	4.71	3.57	3.29	3.99	5.01	-		+6.4
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones, and aminoglycosides ^d	2.70	1.88	1.93	2.06	2.49	-		-7.8
<i>K. pneumoniae</i>	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	9.18	7.90	9.39	9.65	10.19	↑		+11.0
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0.09 ^a	0.07 ^a	0.16 ^a	0.24 ^a	0.26 ^a	↑		+188.9
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	8.82	7.62	8.08	8.40	8.34	-		-5.4
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^d	8.64	7.33	7.86	7.76	8.06	-		-6.7
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones, and aminoglycosides ^d	7.12	5.96	6.40	6.36	6.23	-		-12.5
	Piperacillin-tazobactam resistance	1.60	1.31	1.48	1.91	1.89	↑		+18.1
<i>P. aeruginosa</i>	Ceftazidime resistance	1.56	1.24	1.34	1.75	1.65	-		+5.8
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	1.00	1.03	1.13	1.58	1.62	↑		+62.0
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	2.32	1.86	1.86	2.13	1.83	-		-21.1
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^e	1.50	0.86	0.88	1.27	1.07	NA		-28.7
	Combined resistance to ≥3 antimicrobial groups (among piperacillin-tazobactam, ceftazidime, carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides) ^e	1.29	0.99	1.06	1.34	1.23	NA		-4.7
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0.34	0.32	0.76	0.39	0.45	-		+32.4
<i>Acinetobacter</i> species	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	0.36	0.34	0.76	0.42	0.46	-		+27.8
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^d	0.37	0.33	0.72	0.38	0.42	-		+13.5
	Combined resistance to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides ^d	0.32	0.29	0.72	0.37	0.41	-		+28.1
	MRSA ^f	3.06	2.28	2.51	2.15	2.92	-		-4.6
<i>S. aureus</i>	Penicillin non-wild-type ^g	0.22	0.11	0.15	0.30	0.26	-		+18.2
<i>S. pneumoniae</i>	Macrolide (azithromycin/clarithromycin/erythromycin) resistance	0.46	0.16	0.28	0.48	0.65	-		+41.3
	Combined penicillin non-wild-type and resistance to macrolides ^g	0.10	0.05	0.09	0.12	0.08	-		-20.0
<i>E. faecalis</i>	High-level gentamicin resistance	1.92	2.06	3.42	2.33	2.47	-		+28.6
<i>E. faecium</i>	Vancomycin resistance	0.80	0.79	0.85	0.89	1.10	↑		+37.5

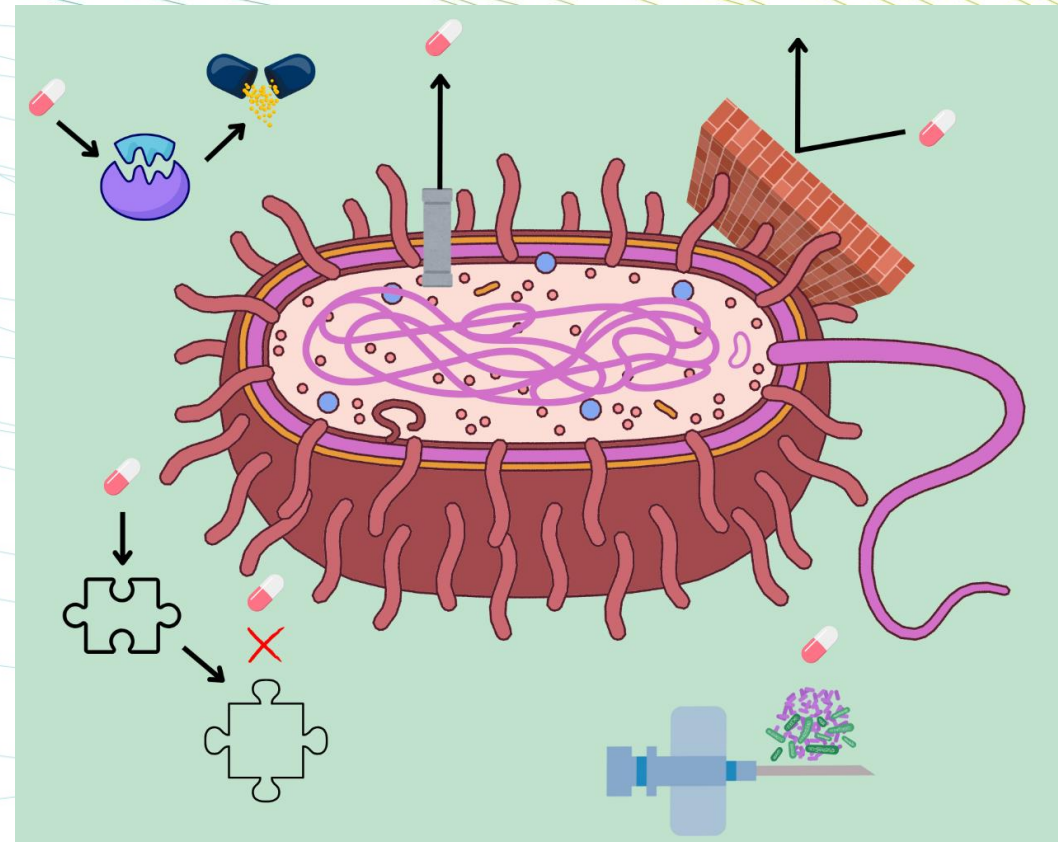
Geny antimikrobiální rezistence (ARG) a bakterie rezistentní k antibiotikům (ARB)

❑ Různé mechanismy:

- enzymy
- efluxní pumpy
- modifikace cílové struktury
- propustnost membrán
- biofilm

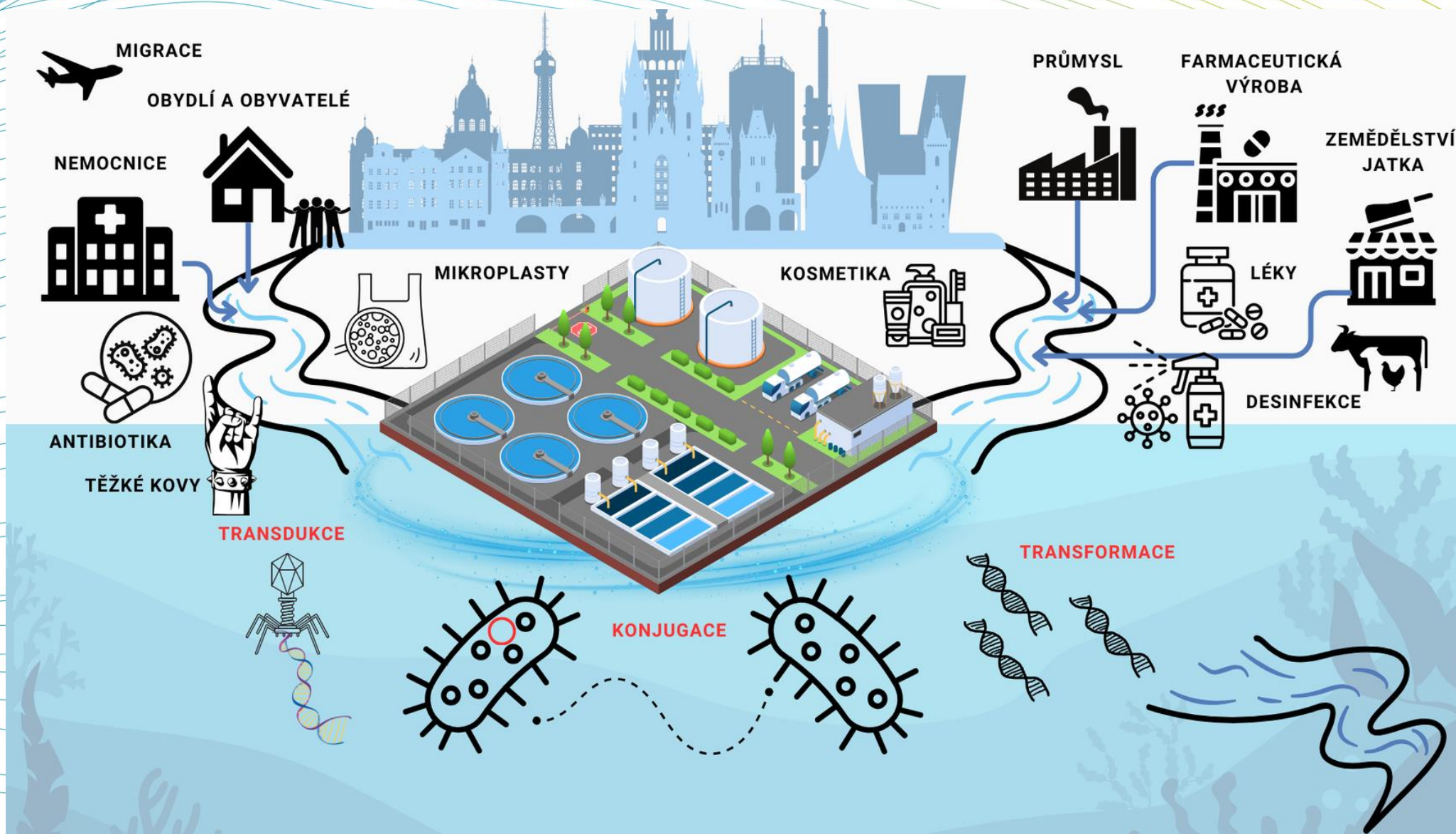
❑ přirozená vs. získaná

❑ fenotyp vs. genotyp

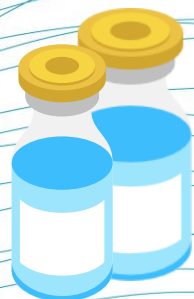


Jak se ve vodě ocitnou?

VÚV
TGM



Zpracování vzorků



odběr

povrchové/
odpadní vody

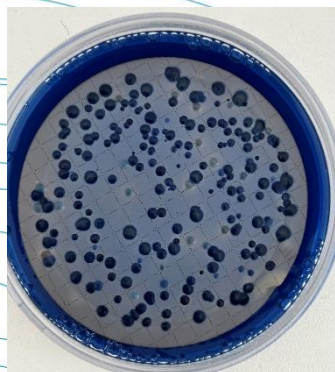


filtrace



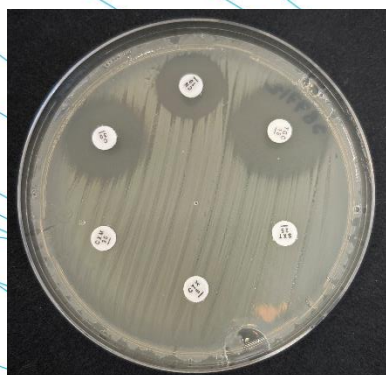
izolace DNA

kultivace



Escherichia coli

E. coli CTX+

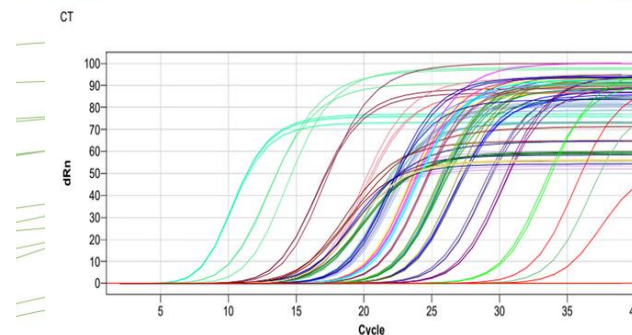


disková difúzní metoda

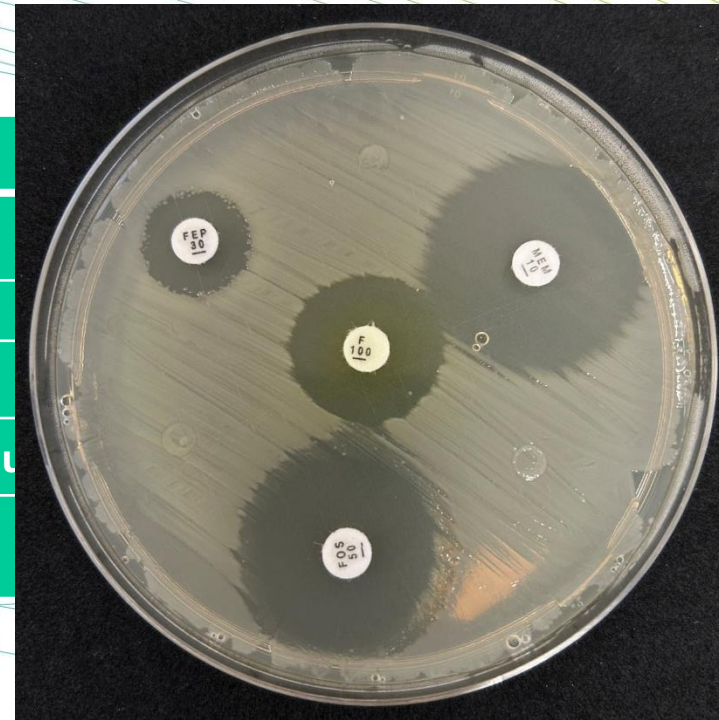
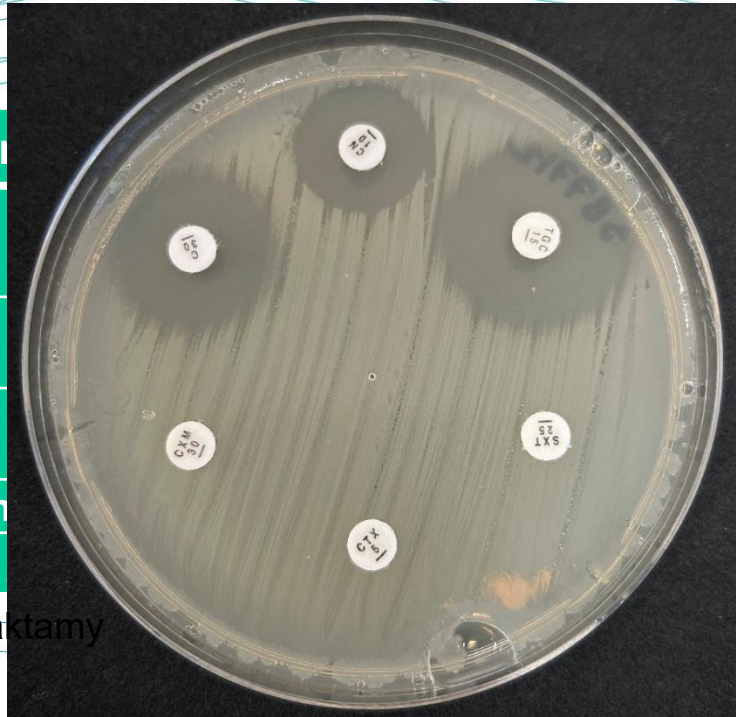


PCR

kvantitativní polymerázová
řetězová reakce



Testovaná antibiotika a geny

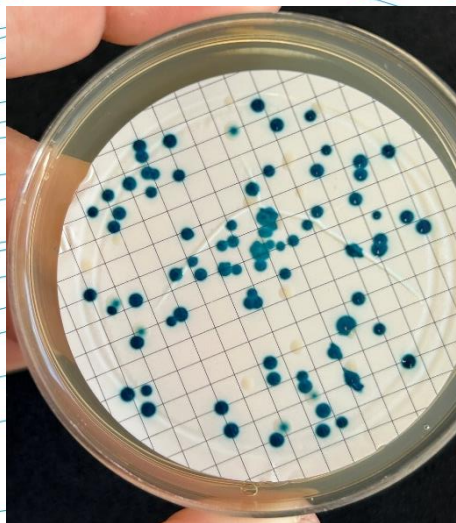


16S rDNA	<i>int1</i>	<i>aadA1</i>	<i>ermB</i>	<i>blaCTX-M1</i>	<i>vanA</i>	<i>sul1</i>	<i>tetW</i>	<i>blaKPC</i>
odhad bakteriálního oživení	potenciál genového přenosu	rezistence k aminoglykosidům	rezistence k makrolidům	rezistence k β-laktamům	rezistence k vankomycinu	rezistence k sulfonamidům	rezistence k tetracyklinům	rezistence ke karbapenemům

Geny antimikrobiální rezistence (ARG)

Cílení rezistentních kmenů – ESBL*

* *Producenti širokospektrých β -laktamáz*

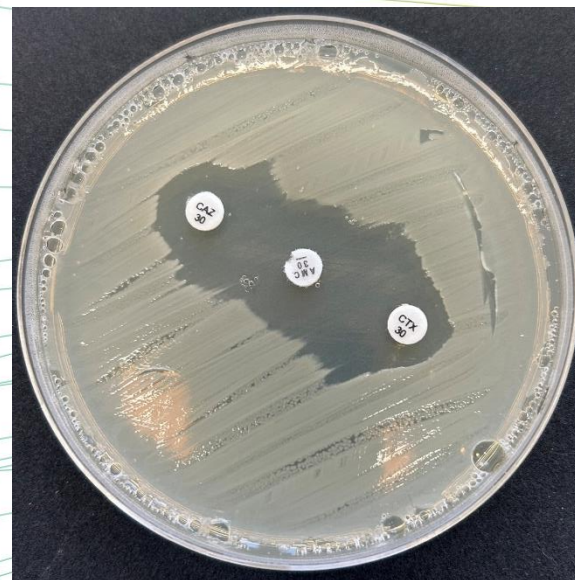
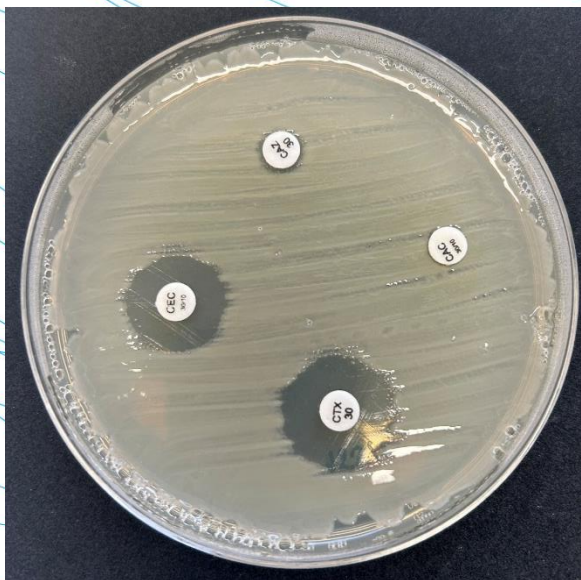


Escherichia coli
E. coli CTX+



Konfirmace na MUG pod
UV lampou

CDT
Combined Disk Test



DDST

Double Disk Synergy Test

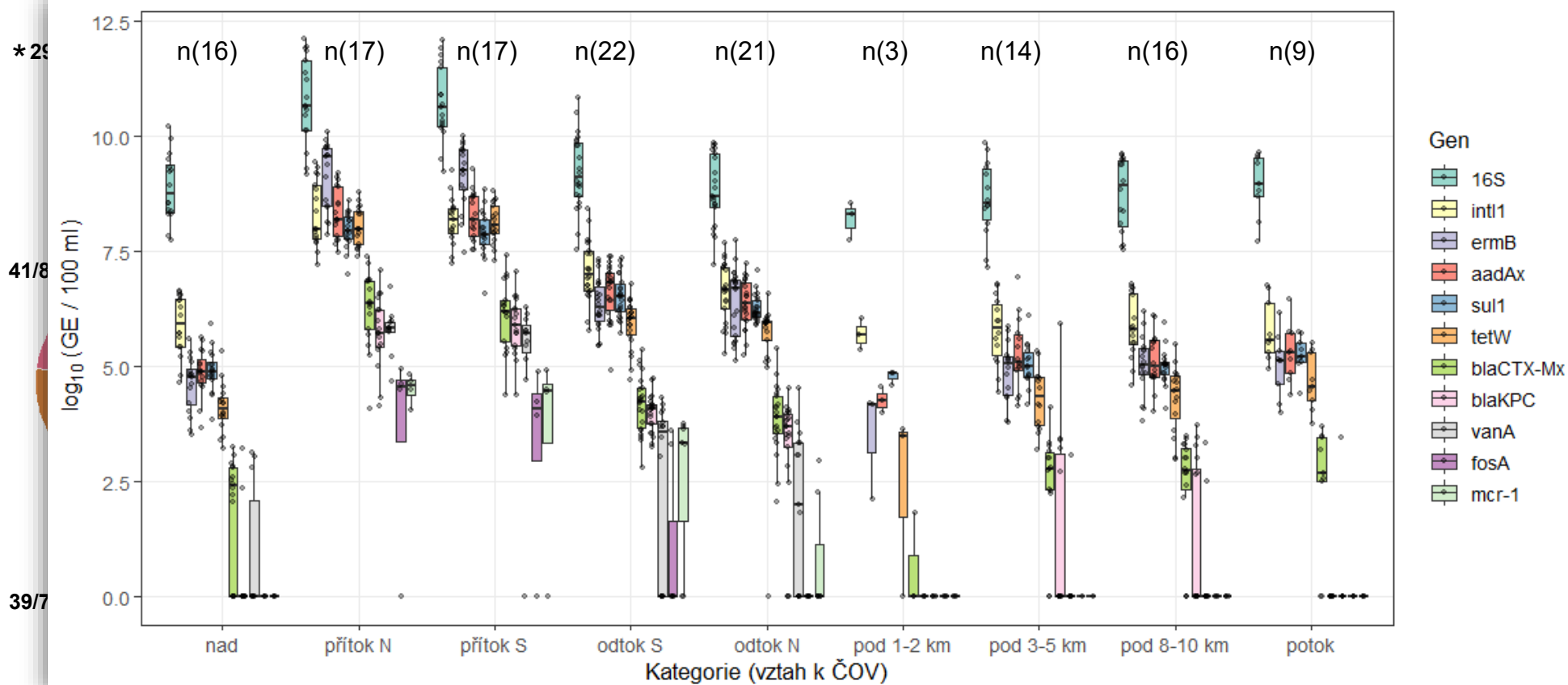
Příklady výsledků

Počty rezistentních izolátů (disková difúze)

nad (47)

přítok N (68)

přítok S (43)



* poč. izolátů rezistentních alespoň k jednomu ATB/ počet testovaných izolátů

Souhrn a co pak?

- ❑ AMR byla detekována ve všech sledovaných typech vod
 - ❑ Zaznamenané multi-rezistentní mikroorganismy
 - ❑ I klinicky významné geny a typy rezistencí
 - ❑ Nutno kombinovat více metod
-
- Zaměření na širší spektrum mikroorganismů a genů
 - Hodnocení sezónních vlivů, fyzikálně-chemických faktorů, rozdílných technologií čistírenských procesů
 - Zhodnocení míry rizik pro veřejné zdraví a životní prostředí

Děkuji za pozornost

Příspěvek vznikl za podpory institucionálních prostředků VÚV TGM, poskytovaných MŽP a nového WP8 „Voda a zdraví“ financovaného z operativního výzkumu Centra Voda SS02030027 „Vodní systémy a vodní hospodářství v ČR v podmínkách změny klimatu“.