



ESBL-, AmpC- und Carbapenemase-bildende Keime beim Menschen

Yvonne Pfeifer

FG13 Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen
Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode

**BfR Symposium „Antibiotikaresistenzen in der Lebensmittelkette“
02.-03. November 2015, Berlin**

Multiresistente Erreger (MRE) und β -Laktamase-Bildung

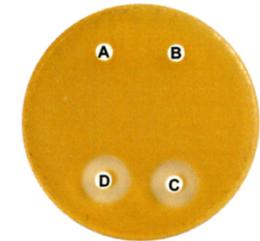
▶ ESBL = „extended-spectrum β -lactamase“

- Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine
- **ESBL-Gene sind zwischen gram-negativen Bakterien übertragbar**
- Häufige Enzymvarianten sind **CTX-M**-ESBL sowie **TEM**- und **SHV**-ESBL



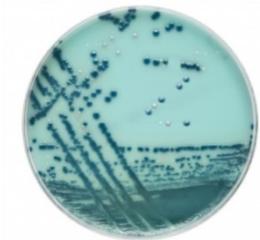
▶ AmpC- β -Laktamasen

- Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine
- AmpC-Gene sind z.T. zwischen gram-negativen Bakterien übertragbar
- Häufige Plasmid-kodierte Enzymvarianten: **CMY, DHA, ACC**



▶ Carbapenemasen

- Resistenz gegen Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme
- **Carbapenemase-Gene sind zwischen gram-negativen Bakterien übertragbar**
- Häufige Enzymvarianten: **KPC, OXA-48, VIM, NDM**



MRE: Sowohl ESBL- als auch Carbapenemase-Bildner sind neben der β -Laktamresistenz häufig auch resistent gegenüber Substanzen anderen Antibiotikaklassen (Fluorchinolone, Aminoglykoside, Sulfonamide etc.)

MRGN – multiresistente Gram-negative Erreger

KRINKO-Definition Bundesgesundheitsblatt 10/2012

Die MRGN-Definition der Multiresistenz dient vorwiegend hygiene relevanten Fragestellungen im Krankenhaus:

2MRGN-NeoPäd: Resistenz gegenüber Penicillinen (Piperacillin) und 3. Gen. Cephalosporinen (Cefotaxim/Ceftazidim)

3MRGN: Resistenz gegenüber Penicillinen (Piperacillin), 3. Gen. Cephalosporinen (Cefotaxim/Ceftazidim) und Fluorchinolonen (Ciprofloxacin)

4MRGN: Resistenz gegenüber Penicillinen (Piperacillin), 3. Gen. Cephalosporinen (Cefotaxim/Ceftazidim), Fluorchinolonen (Ciprofloxacin) und Carbapenemen (Imipenem/Meropenem) bzw. Nachweis einer Carbapenemase

Tab. 2 Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften (R=resistent oder intermediär empfindlich, S = sensibel)

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	Enterobakterien		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²
Acylureidopenicilline	Piperacillin	R	R	Nur eine der 4 Antibiotikagruppen wirksam (sensibel)	R	R	R
3./4. Generations-Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Ceftazidim	R	R		R	R	R
Carbapeneme	Imipenem und/oder Meropenem	S	R		R	S	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	R	R		R	R	R

¹ 3MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen)

² 4MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen)

Escherichia coli:

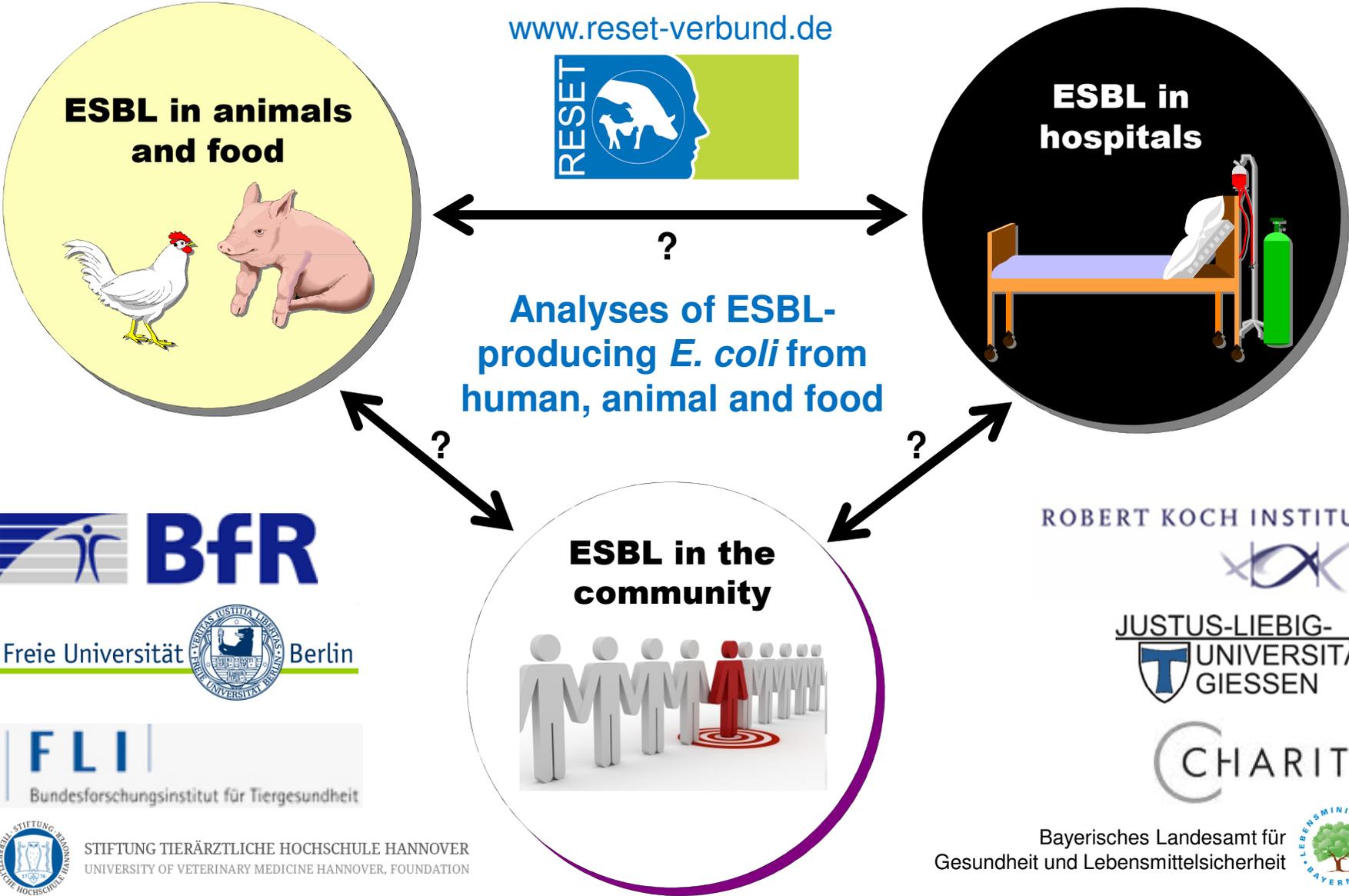
	ambulant	stationär	Intensivstationen
Jahr	3MRGN	3MRGN	3MRGN
2008	1,9%	5,1%	7,6%
2009	2,5%	5,9%	8,8%
2010	3,1%	6,6%	9,5%
2011	3,3%	6,8%	9,5%
2012	4,7%	7,7%	10,3%
2013	5,2%	8,8%	10,8%
2014	5,4%	8,9%	11,5%

Klebsiella pneumoniae:

Jahr	3MRGN	3MRGN	3MRGN
2008	1,9%	7,8%	9,3%
2009	3,3%	9,3%	11,2%
2010	3,5%	8,9%	13,0%
2011	4,0%	8,7%	11,1%
2012	5,4%	9,4%	11,9%
2013	6,8%	10,9%	14,8%
2014	7,1%	10,2%	12,8%

3MRGN: resistance to 3rd gen. cephalosporins (cefotaxime) mainly caused by ESBL production and resistance to flouoroquinolones (ciprofloxacin)

RESET-Verbund (2011-2016)



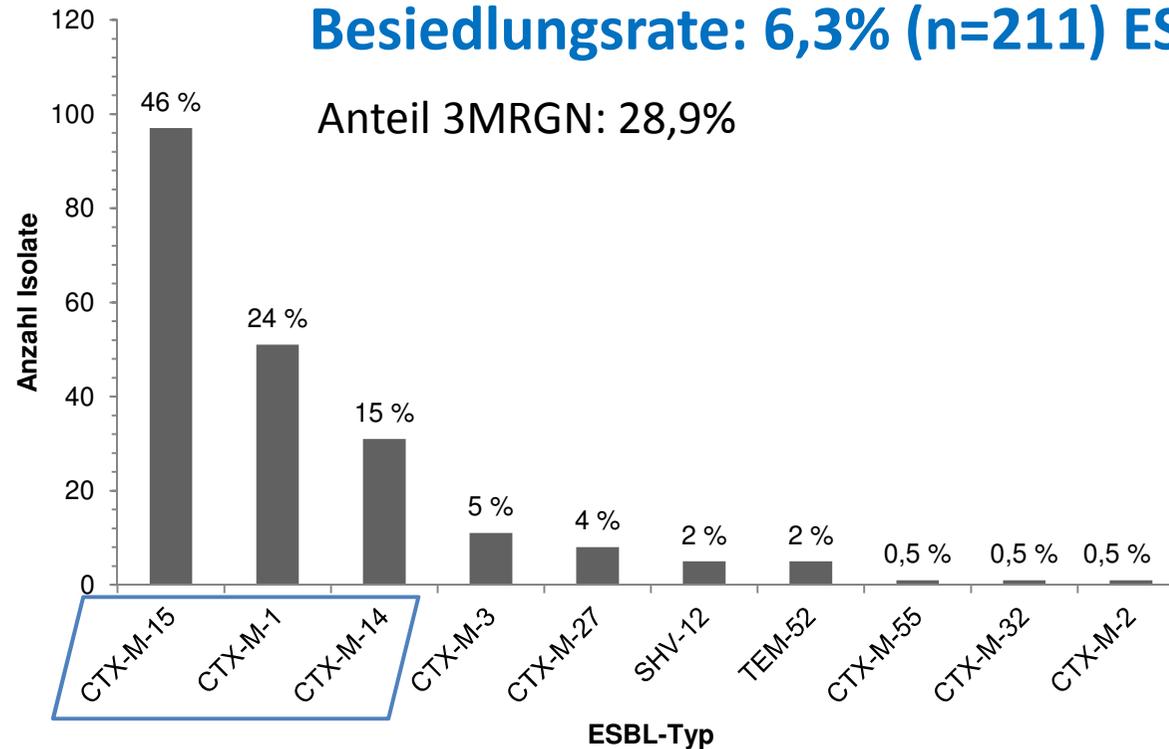


ESBL-*E. coli*: Screening Allgemeinbevölkerung

▶ Studien-Teilnehmer: 3344 Personen in Bayern

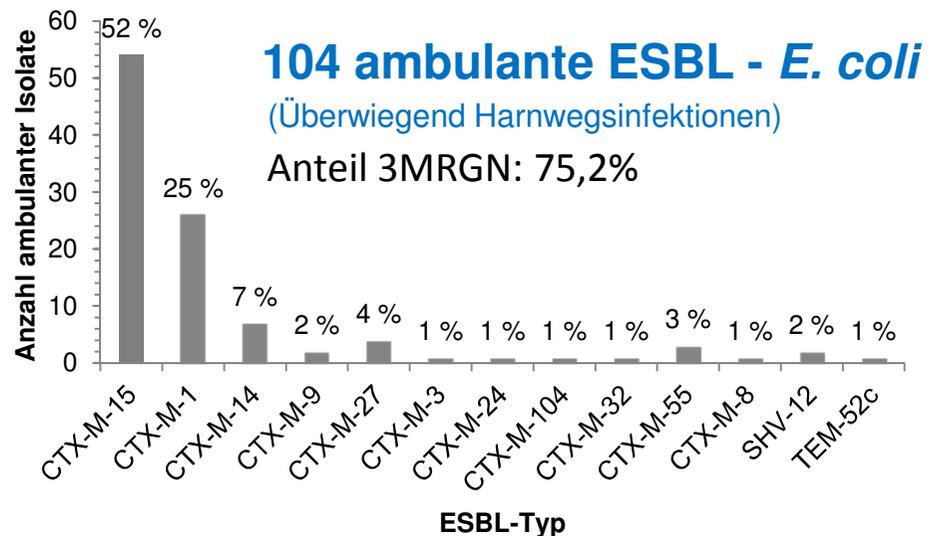
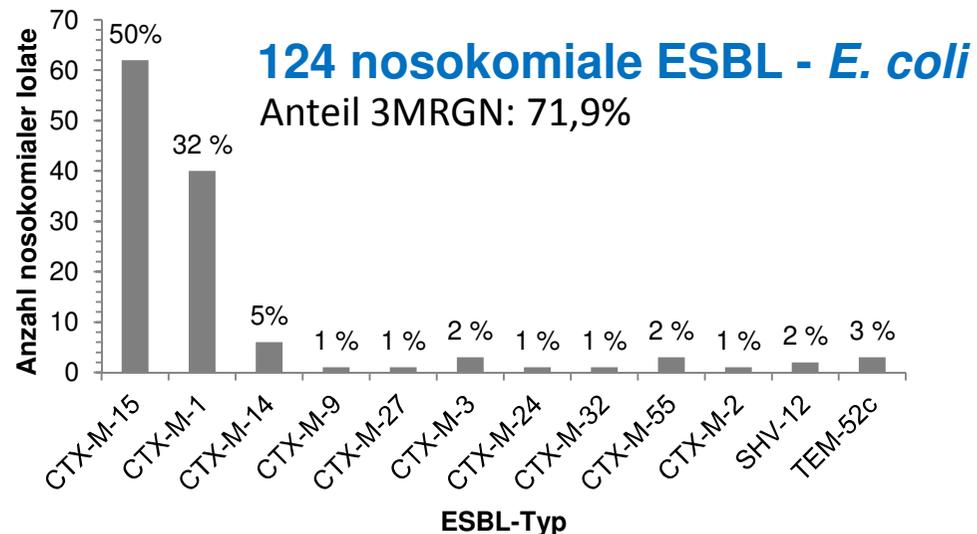
Besiedlungsrate: 6,3% (n=211) ESBL-*E. coli*

Anteil 3MRGN: 28,9%



CTX-M-15, CTX-M-1 und CTX-M-14 als häufigste ESBL-Typen

Valenza G. *et al.* Antimicrob Agents Chemother 2014



CTX-M-Enzyme mit > 95% häufigste ESBLs

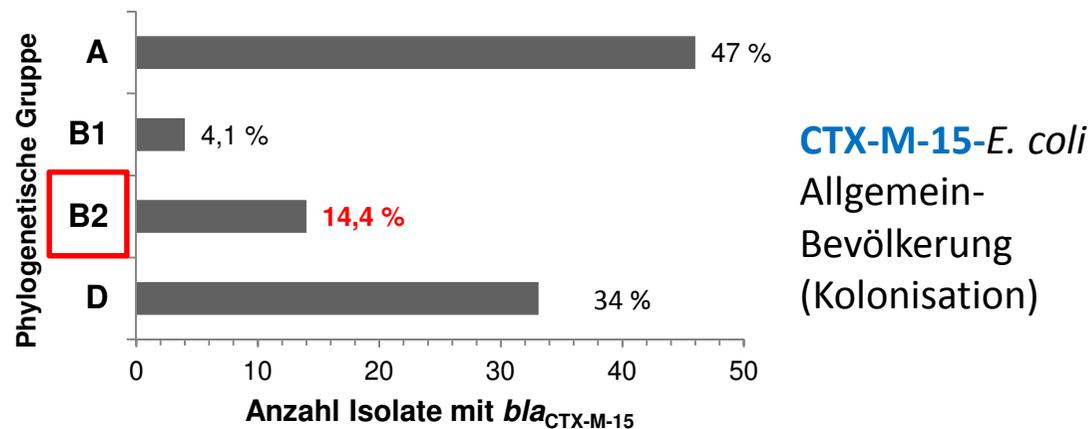
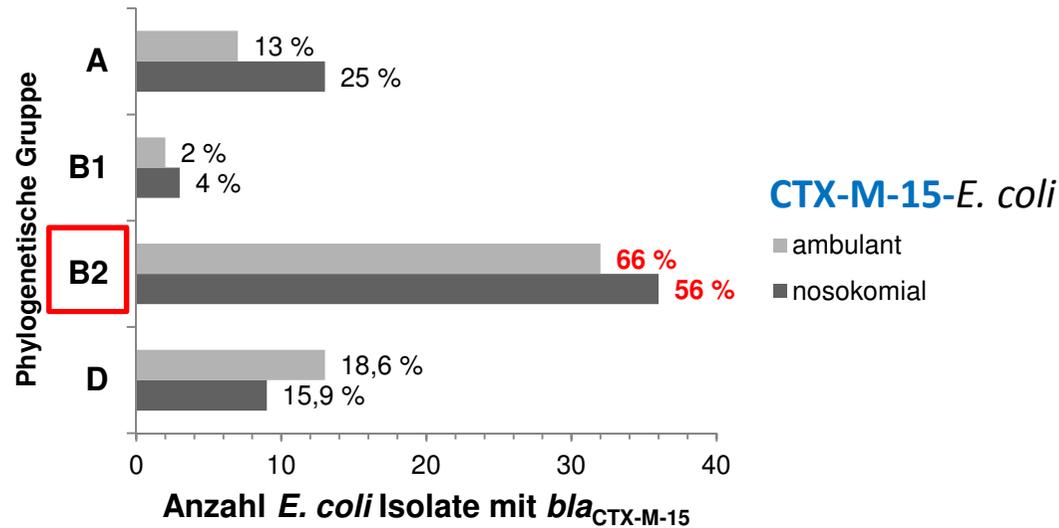
CTX-M-15, CTX-M-1 und CTX-M-14 als häufigste ESBL im ambulanten Bereich (Arztpraxen) und bei Patienten im Krankenhaus

CTX-M-15-Nachweis bei ca. 50% der Isolate

Pfeifer Y. *et al.* BGBL 55/2012
Pfeifer Y. *et al.* HygMed 38/2013

PCR-basierte Bestimmung der *E. coli*-Phylogruppe

Clermont O. *et al.*, 2000



CTX-M-15-*E. coli* der Phylogruppe **B2** sehr häufig bei ambulanten Patienten und Krankenhauspatienten

CTX-M-15-*E. coli* der Phylogruppe **B2** selten bei gesunden Personen

E. coli der Phylogruppe **B2** mit erhöhter Virulenz assoziiert

CTX-M-15-*E. coli* der Phylogruppe **B2** gehören meist zur klonalen Linie des Sequenztyps **ST131**

Brolund A *et al.* 2013,
Rogers BA *et al.* 2011

Pietsch M. *et al.* VETMIC manuscript submitted

► Methodik:

a) O25/O16-Antigen (*E. coli*-**ST131**) spezifische PCRs Clermont *et al.*, 2008
Johnson and Stell, 2014

b) MultiLocus Sequence Typing (MLST): PCR/Sanger-Sequenzierung
Next Generation Sequencing (Uni Gießen)

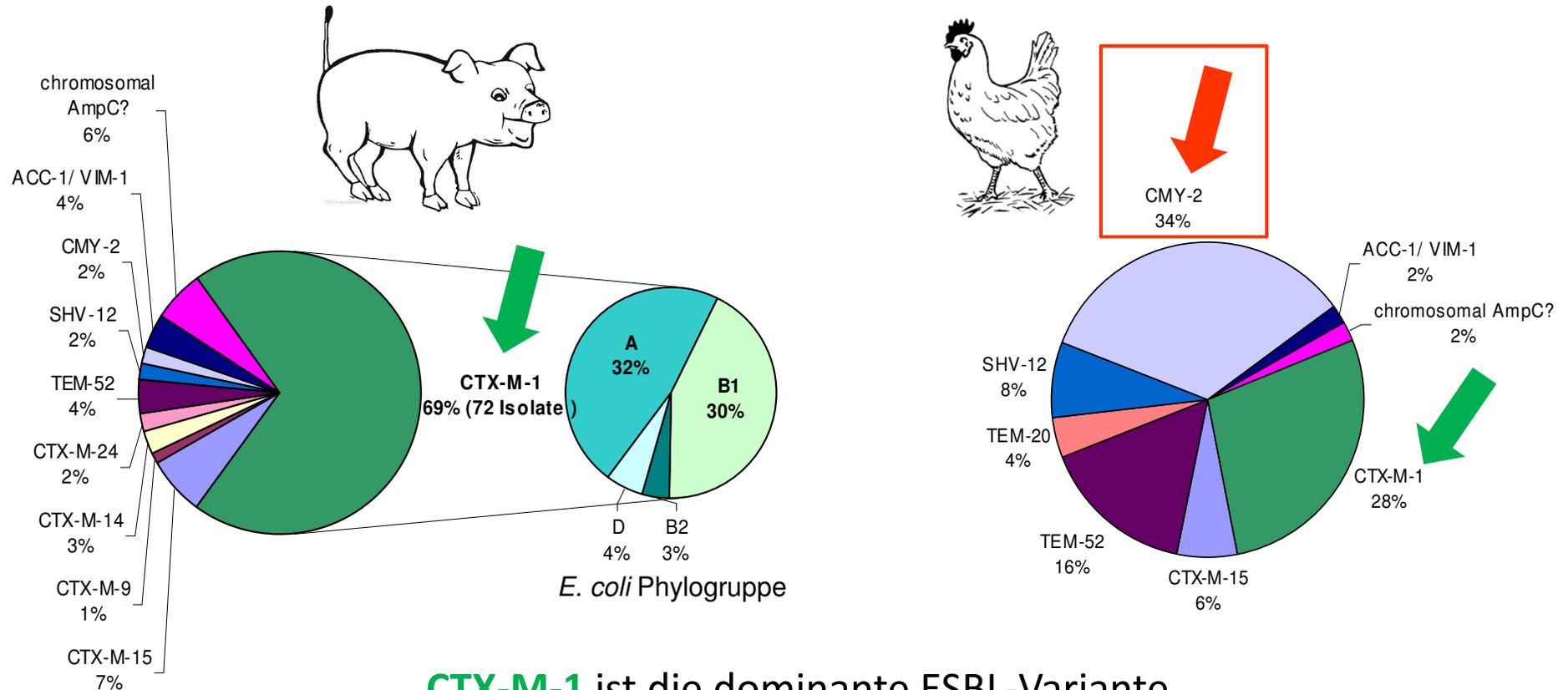
Nosocomiale ESBL- <i>E. coli</i> (MLST: n=86)		Ambulante ESBL- <i>E. coli</i> (MLST: n=66)		Community-acquired ESBL- <i>E. coli</i> Leistner R. <i>et al.</i> , 2013 (MLST: n=52)		<i>E. coli</i> colonisation of healthy persons Valenza G. <i>et al.</i> , 2014 (MLST: n=67)	
Sequence type	n (Rate of ST131)	Sequence type	n (Rate of ST131)	Sequence type	n (Rate of ST131)	Sequence type	n (Rate of ST131)
ST131	41 (32.0%)	ST131	42 (40.0%)	ST131	22 (26.0%)	ST131	26 (12.3%)
ST410	8	ST410	4	ST410	2	ST410	3
ST10	5	ST10	2	ST10	1	ST10	4
ST617	3	ST405	2	ST38	2	ST38	12
ST361	3	ST648	2	ST372	2	ST117	3
ST101	2	ST1170	1	ST617	2	ST69	7
ST141	2	ST5130	1	ST363	2	ST58	1
ST48	2	ST453	1	ST405	2	ST405	1

→ ESBL-bildende *E. coli*-ST131 sind häufig beim Menschen insbes. im stationären/ambulanten Bereich (>30%)

→ ESBL-bildende *E. coli*-ST131 sind deutlich seltener beim Tier (bisher zumeist nur Einzelfälle)

→ ST131-Selektion erfolgt (derzeit) im humanmedizinischen Bereich

ESBL- und AmpC in **deutschen Tierbeständen**: Cephalosporin-resistente *E. coli* aus Longitudinal- und Querschnittsstudien → **> 50% der gesunden Tiere tragen ESBL-*E. coli***



CTX-M-1 ist die dominante ESBL-Variante

Beim Huhn hoher **CMY-2** (AmpC-β-Laktamase) Anteil

AmpC-Bildender in der Produktionskette

► Beispiel Norwegen:

E. coli mit AmpC- β -Laktamase (**CMY-2**) in der Produktionskette Huhn

Emergence of AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production chain in a country with a low antimicrobial usage profile. [Solveig Sølverød Mo et al. Vet Microb 2014](#)

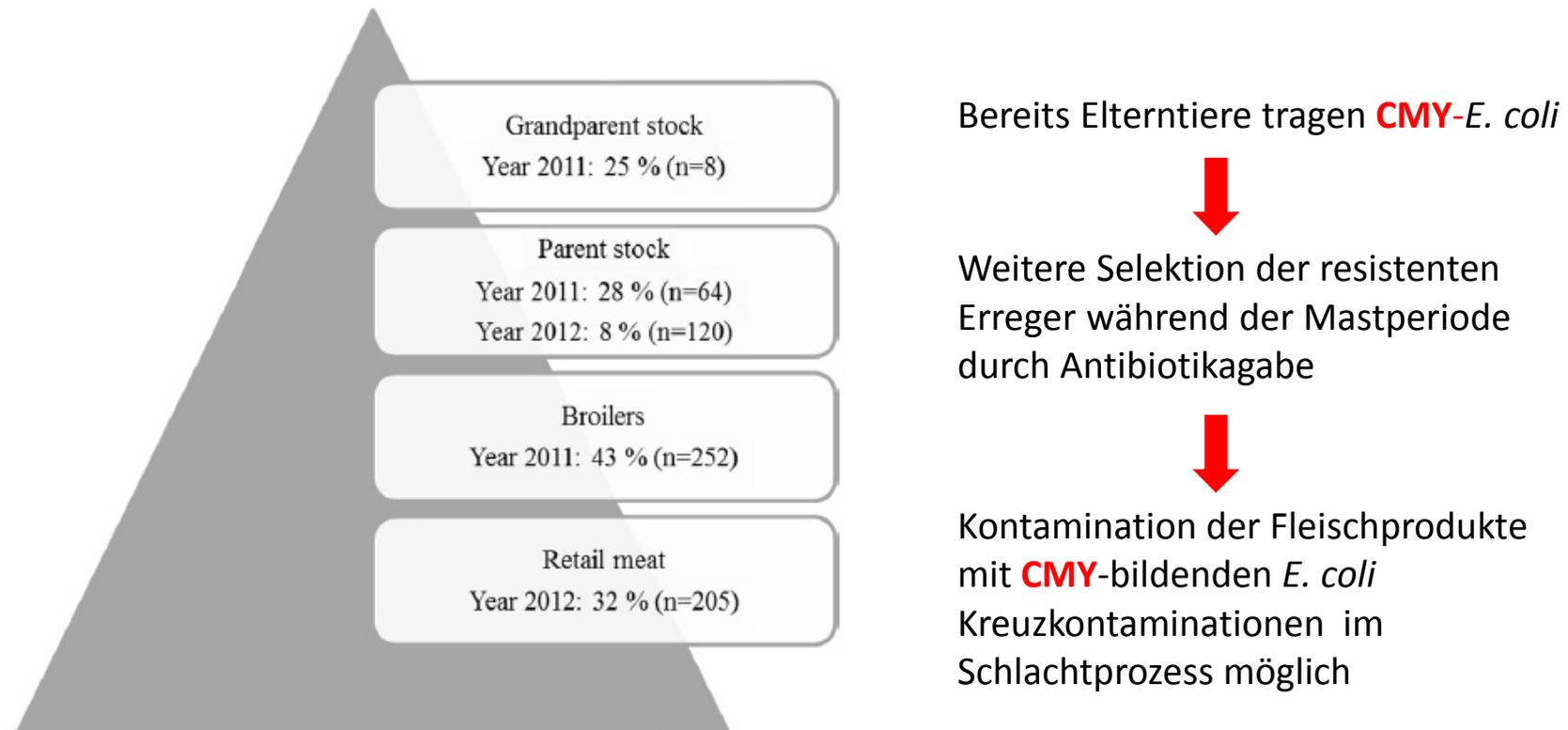


Fig. 1. Prevalence of plasmid mediated AmpC-producing *Escherichia coli* at the different levels of the broiler production pyramid in Norway during the study period (2011–2012).



CMY-2-Bildner beim Menschen (Deutschland)

- ▶ Anteil CMY-2-*E. coli* als Darmbesiedler: **1 %** (Valenza G. *et al.* 2014)
- ▶ Anteil CMY-2-*E. coli* in Ambulanz/Klinik: **ca. 1 %** (France: 1% Pascual V. *et al.* 2015)
- ▶ Anteil CMY-2-*Salmonella* in Ambulanz/Klinik: **< 1 %** (Eller C. *et al.* 2013)
- ▶ RKI: Untersuchungen von 80 Cephalosporin-resistenten *Proteus mirabilis* (Klinik)
Anteil CMY-2-*P. mirabilis*: **35 %**

Wenige Studien zu CMY-Bildnern im humanmed. Bereich verfügbar;
CMY-Prävalenz und klinische Relevanz schwer einzuschätzen

Problem Diagnostik: molekulare CMY-Tests sind selten - Fallzahlen daher möglicherweise unterschätzt

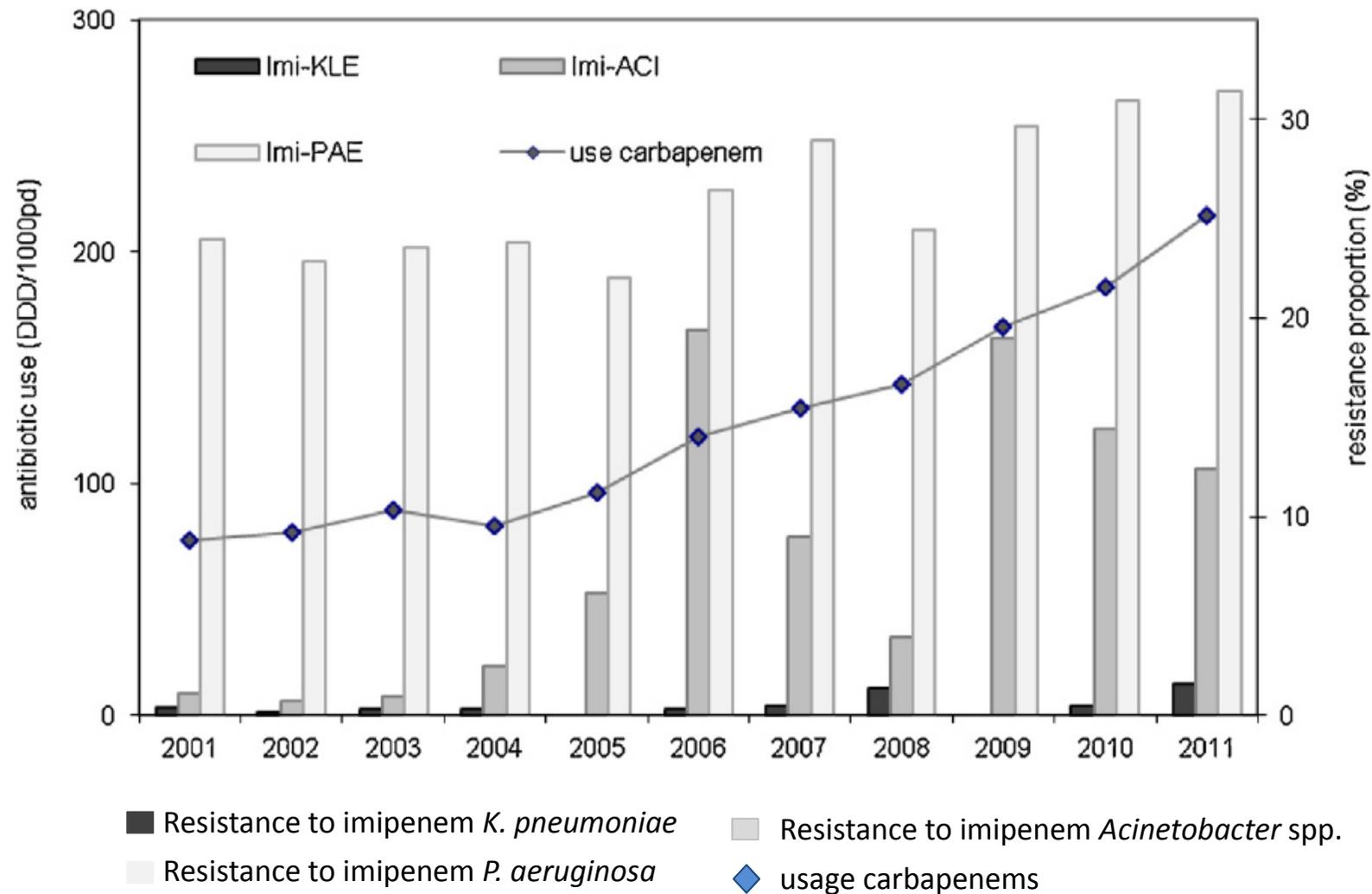
Problem Studiendesign: Screening oft durch Cephalosporinhaltigen „ESBL“-Agar, der auch Cloxacillin enthalten kann (AmpC-Inhibitor)

RESET-Projekt: Ganzgenom-Vergleiche CMY-2-*E. coli* von Mensch und Tier in Planung



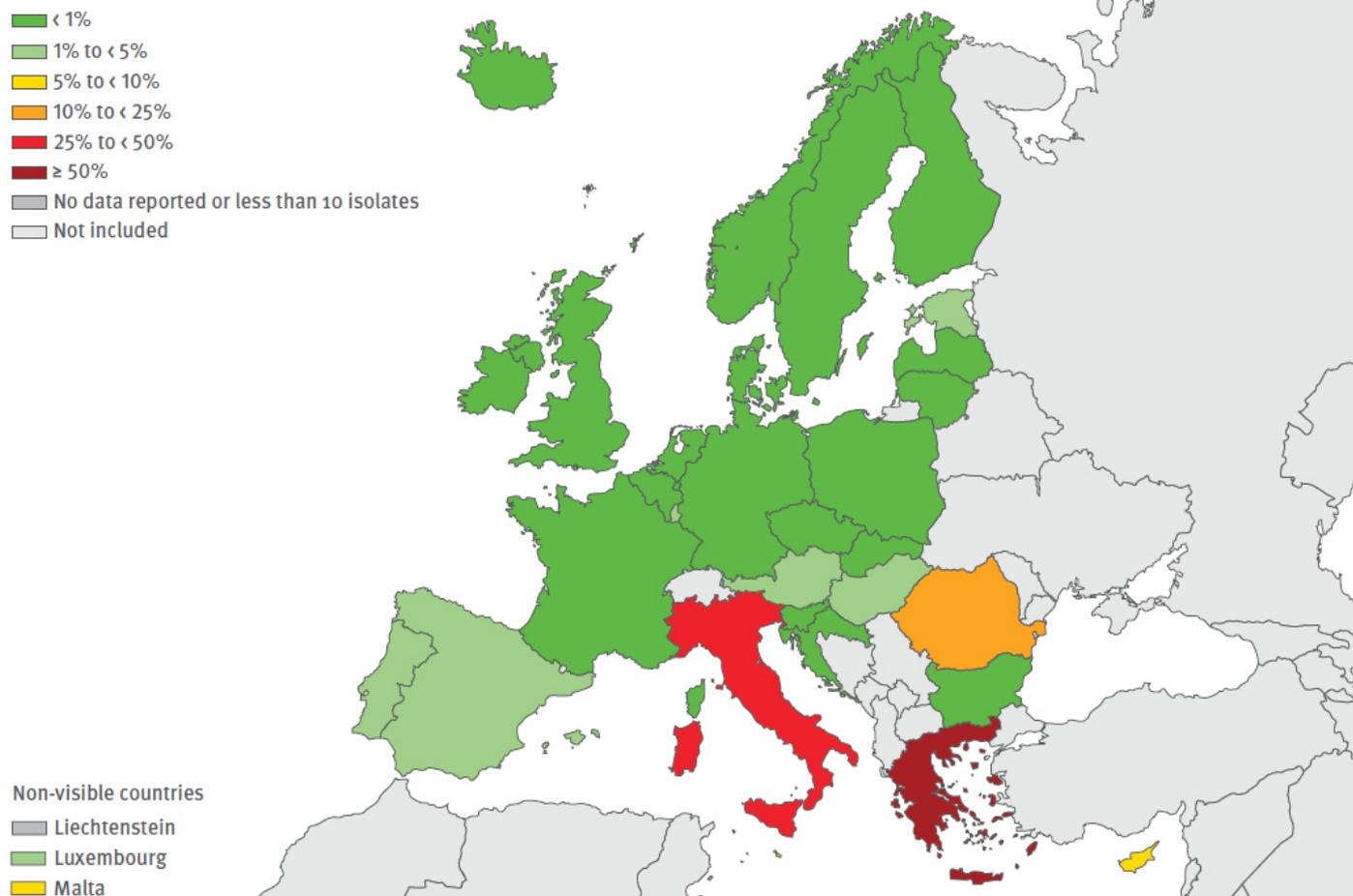
Antibiotikaeinsatz & Resistenz

E. Meyer et al. / International Journal of Medical Microbiology 303 (2013) 388–395



Ears-Net Surveillance Report 2013

Figure 3.9. *Klebsiella pneumoniae*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to carbapenems, by country, EU/EEA countries, 2013



Germany



<https://ars.rki.de>

(Stand 11.08.2015)

Imipenemresistenz

E. coli (2014)

stationär: ≤ 0,1%

ambulant: ≤ 0,1%

K. pneumoniae (2014)

stationär: 0,4%

ambulant: 0,2%

A. baumannii (2014)

stationär: 6,6%

ambulant: 0,9%



Escherichia coli:

	ambulant	stationär	Intensivstationen
Jahr	4MRGN	4MRGN	4MRGN
2008	<0.1%	<0.1%	0,2%
2009	<0.1%	<0.1%	0,2%
2010	<0.1%	<0.1%	<0.1%
2011	<0.1%	<0.1%	0,1%
2012	<0.1%	<0.1%	0,2%
2013	<0.1%	<0.1%	0,3%
2014	<0.1%	<0.1%	<0.1%

Klebsiella pneumoniae:

Jahr	4MRGN	4MRGN	4MRGN
2008	<0.1%	0,3%	0,8%
2009	<0.1%	0,2%	0,6%
2010	0,1%	0,3%	0,9%
2011	<0.1%	0,3%	1,0%
2012	0,2%	0,4%	0,9%
2013	0,2%	0,4%	1,1%
2014	0,1%	0,8%	1,8%

A. baumannii:

Jahr	4MRGN	4MRGN	4MRGN
2008	1,0 %	5,9 %	10,1 %
2009	1,2 %	5,0 %	15,0 %
2010	1,8 %	7,5 %	11,6 %

Carbapenem-Resistenzmechanismen

▶ Efflux-Pumpen

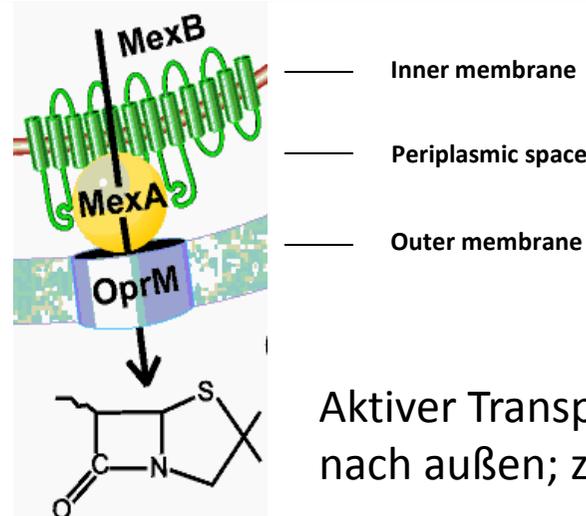


Abb. sitemaker.umich.edu/.../files/resistance.gif

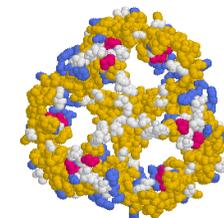
Aktiver Transport von antibiotischen Substanzen nach außen; z.B. häufig bei *P. aeruginosa* (>80%)

▶ Porinverlust

Mutationen in Poringenen führen zum Porinverlust (Permeabilitätsverlust)
Porine = Außenmembranproteine (OMP, outer membrane proteins)

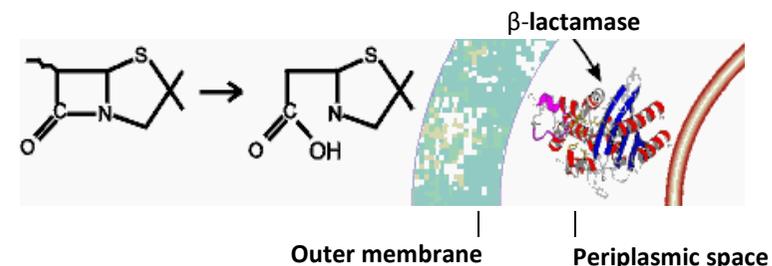
Kommt ESBL/AmpC-Bildung hinzu → Carbapenemresistenz (ETP, MPM)

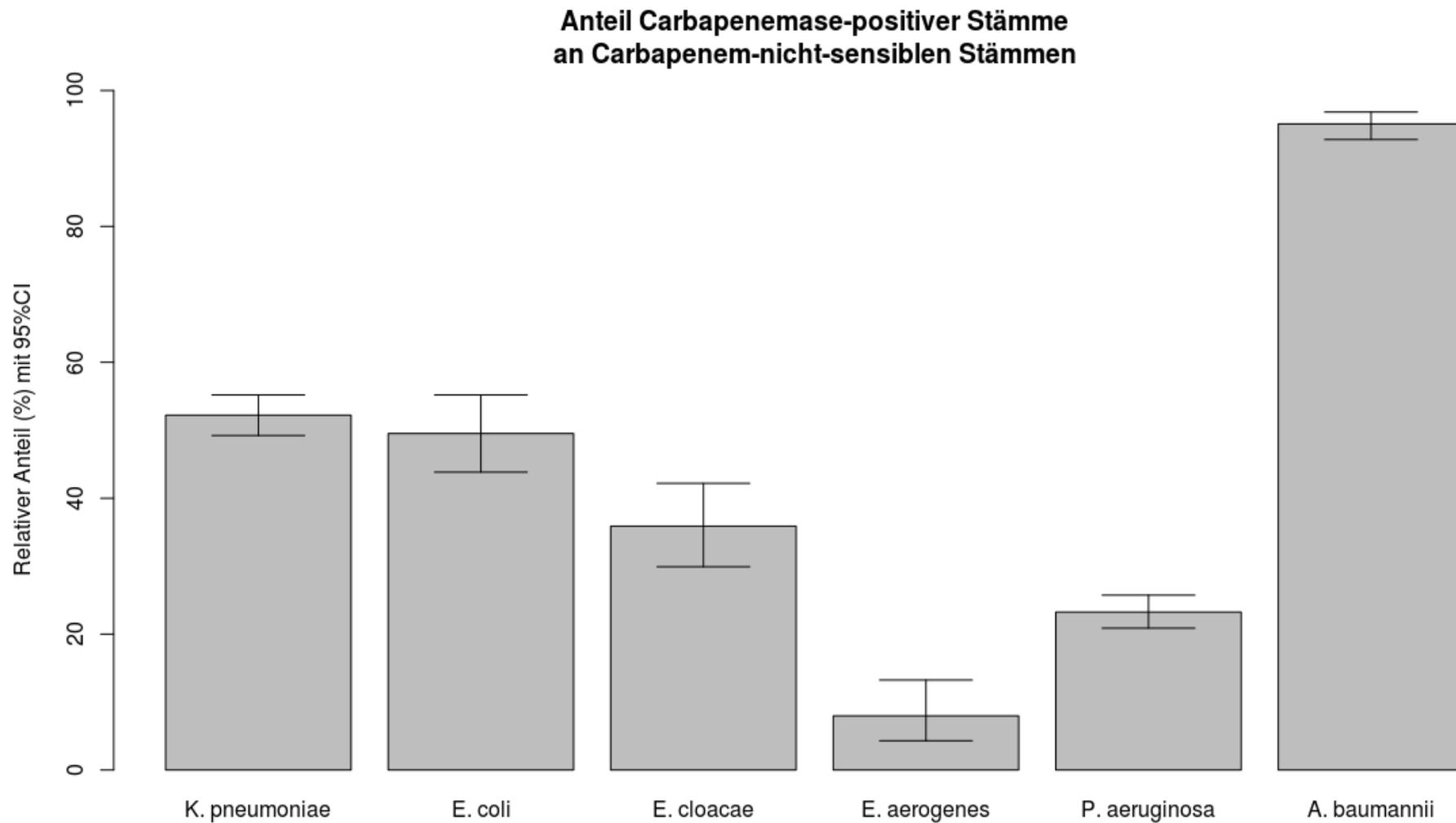
Häufig bei *Enterobacter aerogenes* (>90%), *K. pneumoniae*



▶ Carbapenemase-Bildung

Enzymatische Spaltung der Carbapeneme durch spezielle β -Laktamasen
= Carbapenemasen

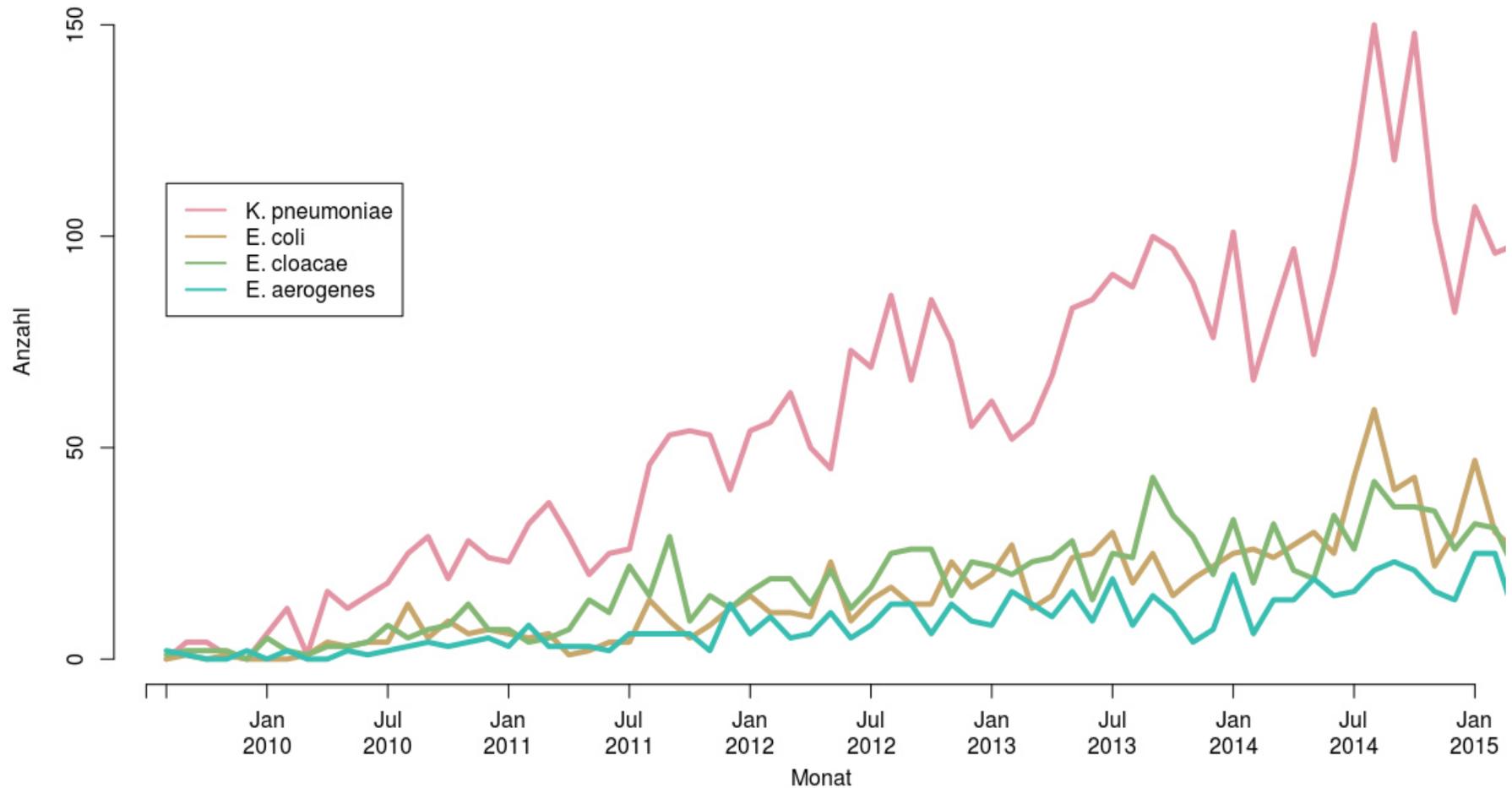




Daten aus 2014 des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger Bochum, Dr. Martin Kaase

Carbapenemase-Nachweise in Deutschland

Carbapenemase-Anforderung nach Spezies



Daten aus 2014 des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger Bochum, Dr. Martin Kaase



Carbapenemasen

KPC → „*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase“ überwiegend in *K. pneumoniae*
Import aus „Endemiegebieten“ (z.B. Griechenland, Israel, Italien)

OXA-48 → in Enterobacteriaceae; Import überwiegend aus Türkei, Nordafrika, Indien

VIM → „Verona Integron-borne Metallo-Beta-Laktamase“ in
Enterobacteriaceae und *P. aeruginosa*
Import aus Mittelmeerregion (Italien, Griechenland)

NDM → „Neu-Delhi Metallo-Beta-Laktamase“ in Enterobacteriaceae
und *A. baumannii* aus Indien, Nordafrika, Balkan, Arab. Raum

IMP → selten in *E. cloacae*, *K. pneumoniae*; häufiger in *P. aeruginosa*

GIM → „German Imipenemase“ vereinzelt in NRW vorkommend in
E. cloacae, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *A. pittii*

AIM → „Adelaide Imipenemase“ Einzelnachweis in *P. aeruginosa*

FIM → „Florence Imipenemase“ Einzelnachweise in *P. aeruginosa*

DIM → „Dutch Imipenemase“ Einzelnachweise in *Pseudomonas spp.*

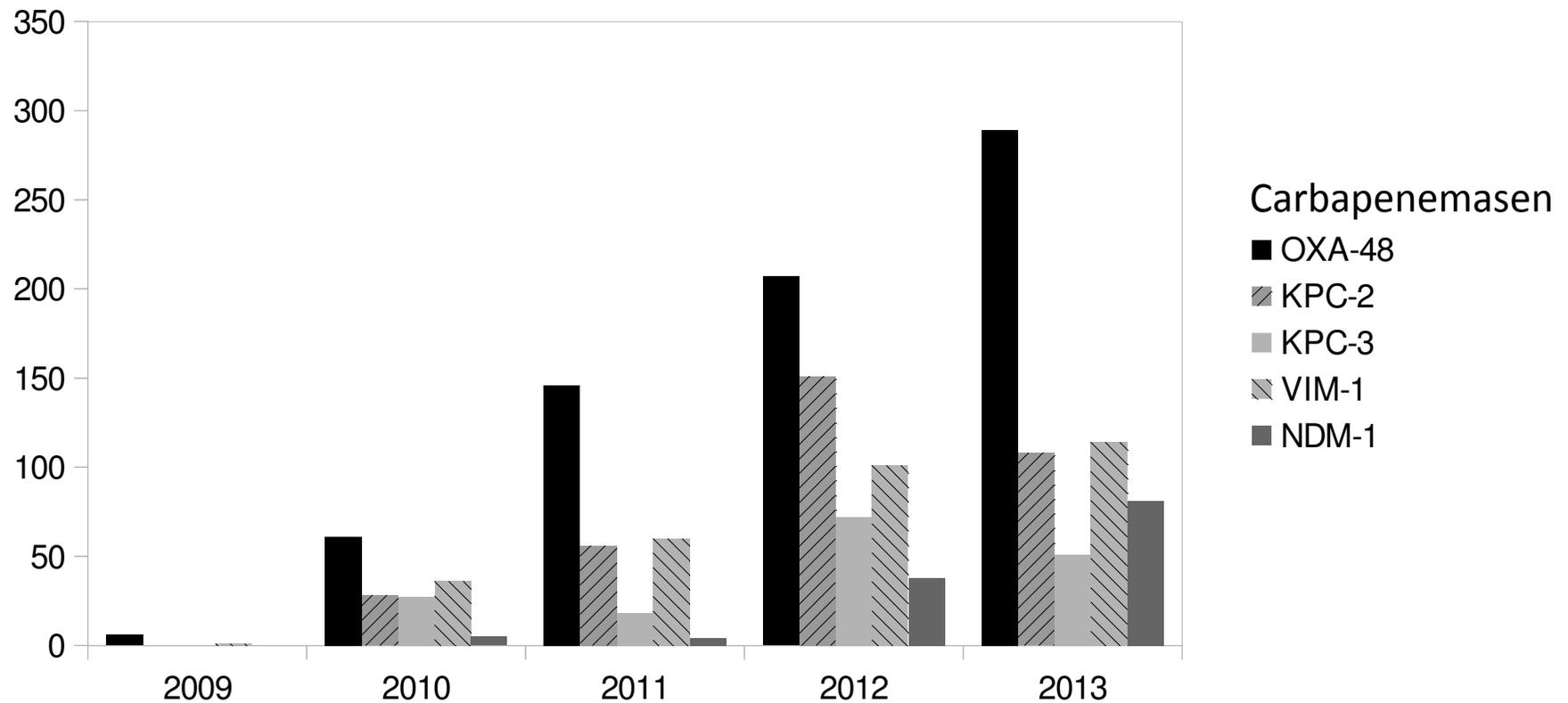
SIM → „Seoul Imipenemase“ Einzelnachweis in *A. baumannii*

SPM → „São Paulo metallo-β-lactamase“ Einzelnachweis in *P. aeruginosa*

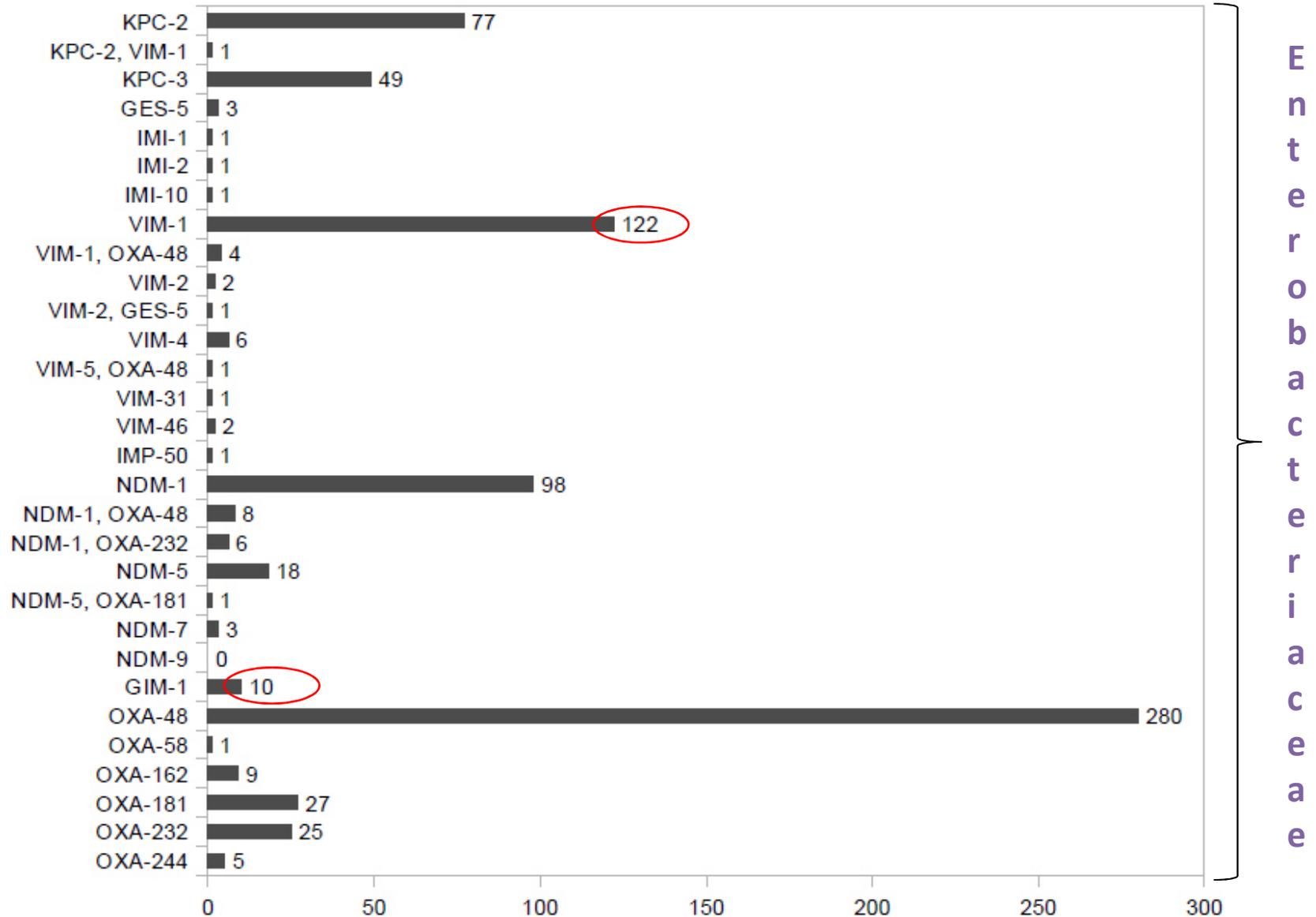
OXA-23/72/58 → ausschließlich und weit verbreitet in *Acinetobacter spp.*

} Metallo-Beta-
Laktamasen
(MBL)

- ▶ **Nachweise Carbapenemase-bildender Gram-negativer Bakterien 2009-2013**
Daten des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger Bochum (Dr. Martin Kaase); Epidemiol. Bulletin 43/2014



Carbapenemase-Nachweise im NRZ: Januar bis August 2015





Carbapenemase-Bildner auf Reisen

- ▶ **4MRGN als „Mitbringsel“ (meist rektale Kolonisation) von Patienten, die zuvor (im Ausland) stationär behandelt wurden:**

Wendt C. et al. [First outbreak of Klebsiella pneumoniae carbapenemase \(KPC\)-producing K. pneumoniae in Germany](#). Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 May;29(5):563-70

Ehrhard I. et al. [Prävalenzerhebung zum Vorkommen von Carbapenemase-Bildnern in sächsischen Kliniken](#). Bundesgesundheitsblatt 2014,57:406-413

Leistner R. et al. [Prevalence of MRSA and Gram-negative bacteria with ESBLs and carbapenemases in patients from Northern Africa at a German hospital](#). J Antimicrob Chemother. 2015, 70:3161-4

Eingangsscreening 213 Patienten: 5 Patienten (2,3%) mit *OXA-48-E.c./K.p.*, *OXA-23-A.b.*

- ▶ **Beim Screening zu beachten: Oft sind Patienten mit vorheriger Hospitalisierung im Ausland mit mehreren 4MRGN-Spezies (u.a. *A. baumannii*) besiedelt**
- ▶ **4MRGN-Kolonisation durch Aufenthalt in Hochprävalenz-Regionen (Asien insbes. Indien) ohne Kontakt zum Gesundheitssystem ist denkbar, da 4MRGN dort in der Umwelt gefunden wurden**



Beispiel: 4MRGN in Bulgarien



Krankenhaus: Military Medical Academy Sofia, Bulgaria

Molekulare Diagnostik Carbapenem-resistenter gram-negativer Isolate:

A. baumannii n=50 (Zeitraum 3 Monate, respirator. Materialien)

Enterobacteriaceae n=30 (Zeitraum 1 Jahr, überwiegend Harnwegsinfektionen)

▶ ***A. baumannii*:**

- Neun verschiedene Klone mit **OXA-23 oder OXA-72 Carbapenemase**;
- Isolate der internationalen klonalen Line IC 2 dominant
- Antimikrobielle Empfindlichkeit: Colistin

▶ ***Proteus mirabilis*:**

- Multiresistenter Stamm mit **VIM-1 Carbapenemase**, CMY-99 (AmpC) und SHV-12 (ESBL) über ein Jahr in der Klinik nachweisbar (13 Patienten)
- Antimikrobielle Empfindlichkeit: PIP/TAZ; Fosfomycin

▶ ***E. coli*:**

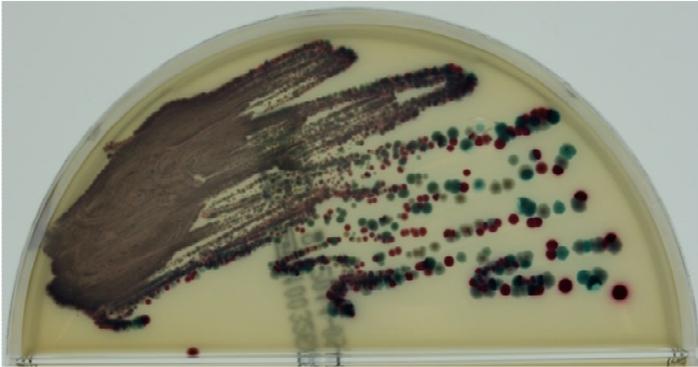
- Multiresistenter Stamm mit **NDM-1 Carbapenemase**, CMY-4 (AmpC) und CTX-M-15 (ESBL) über ein Jahr in der Klinik nachweisbar (5 Patienten)
- Antimikrobielle Empfindlichkeit: Colistin



Beispiel: „4MRGN-Multispezies-Ausbruch“ in Hessen

Epidemiol. Bulletin 24/2014

- ▶ Von Oktober 2013 bis Sept 2014 Nachweis **Carbapenem-resistenter Enterobacteriaceae** in einer Klinik bei 132 Patienten (überwiegend rektale Kolonisation)
- ▶ Analyse NRZ Bochum/Uni Gießen: **KPC-2 Carbapenemase-Bildung** in verschiedenen Spezies (*C. freundii*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) Yao Y. et al. 2014
- ▶ Folgescreening von 13 Patienten mit nachgewiesener Besiedlung durch KPC-2-Bildner (Carba-Smart Agar Biomerieux)



KPC-2 *E. coli*

KPC-2 *K. pneumoniae*

KPC-2 *Citrobacter* spp. u.a.
- ▶ Nachweis der rektalen Kolonisation mit mind. 2 verschiedenen **KPC-2**-bildenden Spezies bei 8 von 13 Patienten (*E. coli*, *C. freundii*) Plasmidtransfer zwischen den verschiedenen Spezies nachweisbar (Konjugationsversuch)

FAZIT: Ein epidemiologischer Zusammenhang kann auch bei Nachweis verschiedener 4MRGN Spezies nicht ausgeschlossen werden



Vielen Dank

RKI Wernigerode

Guido Werner

Michael Pietsch

Sibylle Müller-Bertling

Kirstin Ganske

RKI Berlin

Martin Mielke

Muna Abu Sin

Anika Schielke

Hans-Peter Blank

NRZ Bochum

Martin Kaase

Labor Limbach

Constanze Wendt

Sofia, Bulgaria

Encho Savov



pfeifery@rki.de



Bundesministerium
für Gesundheit

