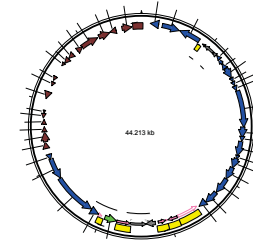
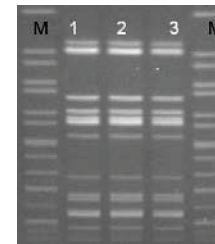


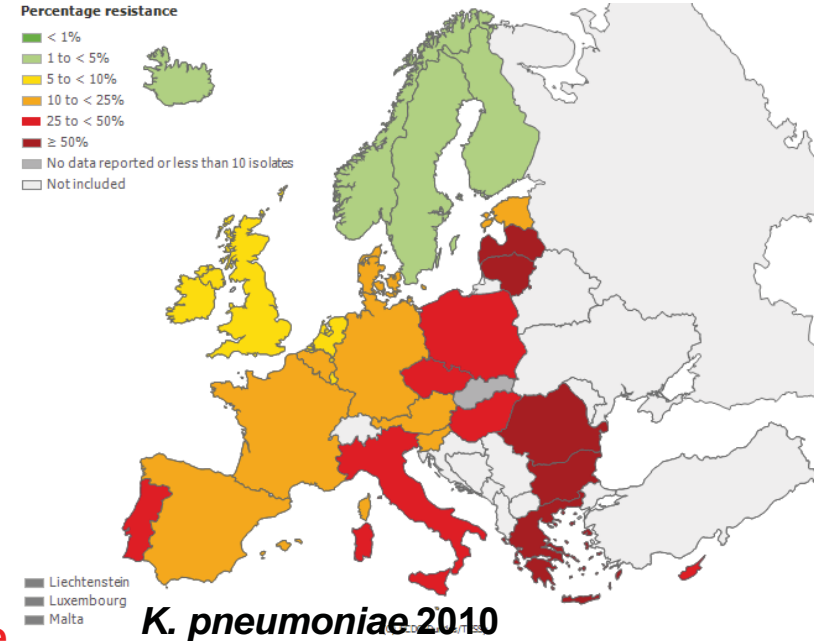
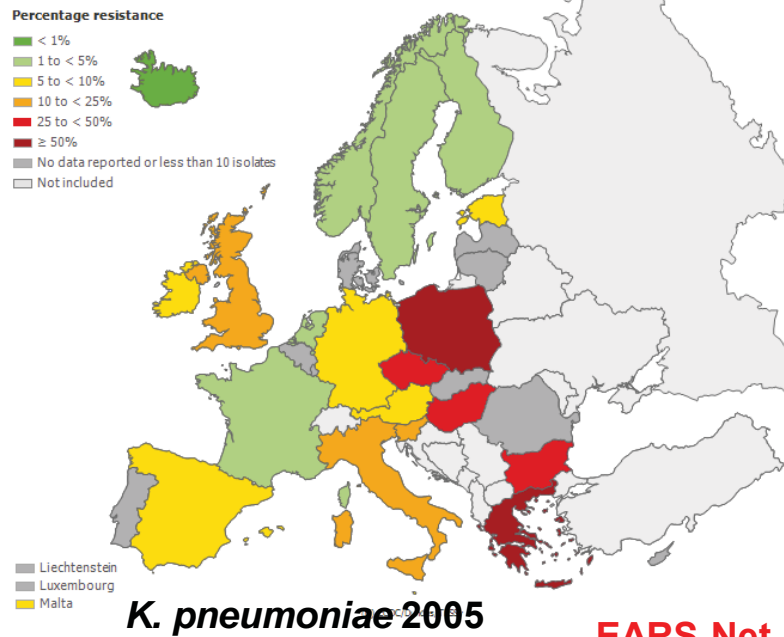
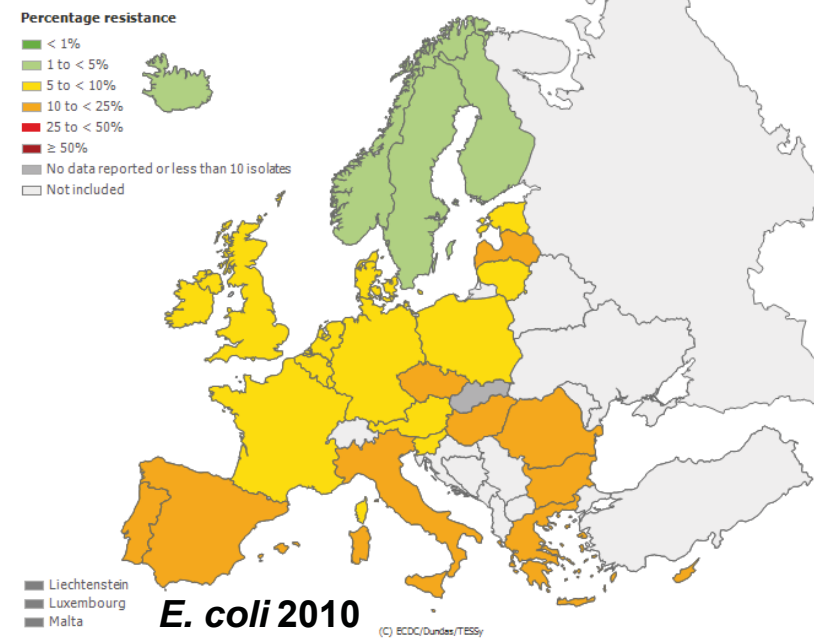
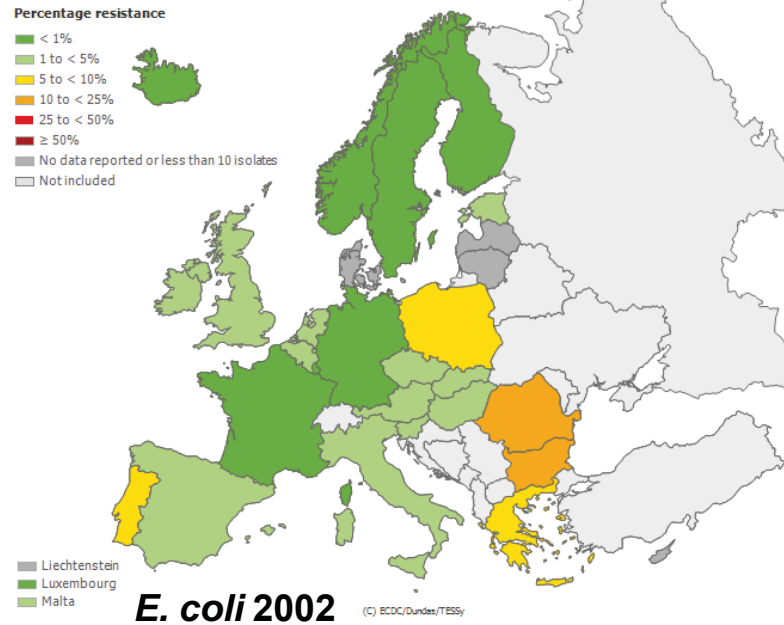
4. Symposium der Bayerischen Landesarbeitsgemeinschaft
Multiresistente Erreger (LARE); 5. Dezember 2012, München

ESBL und (flouro)quinolone resistance in *Enterobacteriaceae*

Das **RESET**  Projekt



3. Generation Cephalosporin-Resistenz in Enterobacteriaceae





Krankenhäuser (Alle Stationen)

<i>E. coli</i>	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	5691	9,9	57722
Jahr 2010	4708	9,4	50149
Jahr 2009	3313	8,1	41065
Jahr 2008	1854	6,9	26698

(<https://ars.rki.de>)

Kontinuierliche Erfassung von Resistenzdaten klinisch relevanter Erreger von 250 Krankenhäusern und 3000 Arztpraxen über eine elektronische Schnittstelle in 13 deutschen Laboratorien

Intensivstationen

<i>E. coli</i>	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	612	13,8	4440
Jahr 2010	486	13,3	3662
Jahr 2009	391	12,9	3042
Jahr 2008	241	10,7	2257

Ambulatory care settings/medical practices

<i>E. coli</i>	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	2528	5,1	50033
Jahr 2010	1811	4,4	41310
Jahr 2009	1256	3,8	33266
Jahr 2008	922	3,0	30779



Krankenhäuser

Proteus mirabilis

(<https://ars.rki.de>)

Intervall	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	161	1,5	11013
Jahr 2010	154	1,6	9832
Jahr 2009	128	1,5	8299
Jahr 2008	61	1,2	5169

Kontinuierliche Erfassung von Resistenzdaten klinisch relevanter Erreger von 250 Krankenhäusern und 3000 Arztpraxen über eine elektronische Schnittstelle in 13 deutschen Laboratorien

Ambulatory care settings/medical practices

Proteus mirabilis

Intervall	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	93	1,3	7236
Jahr 2010	86	1,4	5982
Jahr 2009	49	1,0	4842
Jahr 2008	31	0,7	4711

Ambulatory care settings/medical practices

Klebsiella pneumoniae

Intervall	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2011	388	6,1	6325
Jahr 2010	282	5,4	5196
Jahr 2009	214	5,4	3983
Jahr 2008	120	3,1	3826

Resistenzdichte – multiresistente Erreger (MRE)

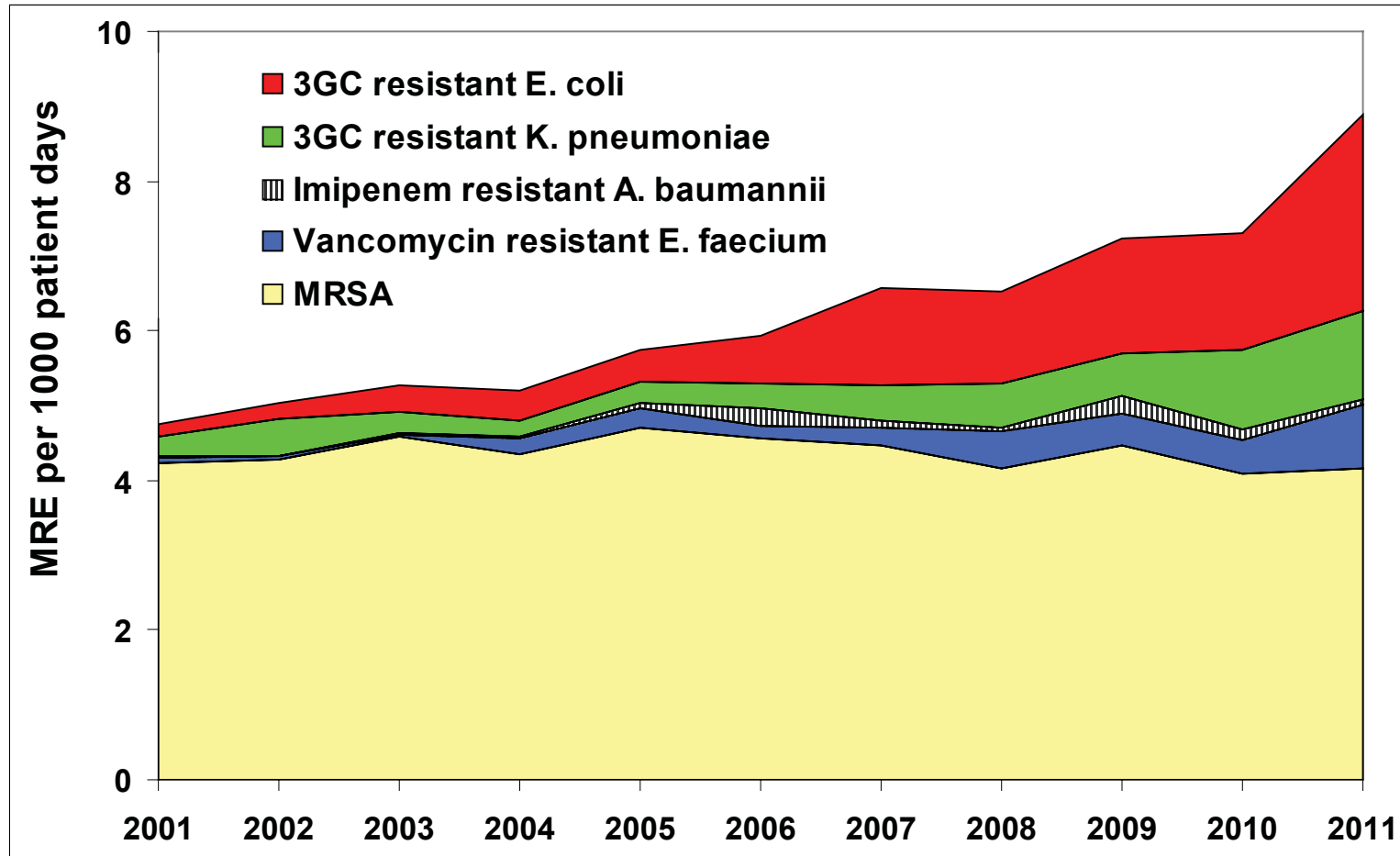


Abbildung: Charité Universitätsmedizin Berlin, Frau Dr. Meyer (SARI)

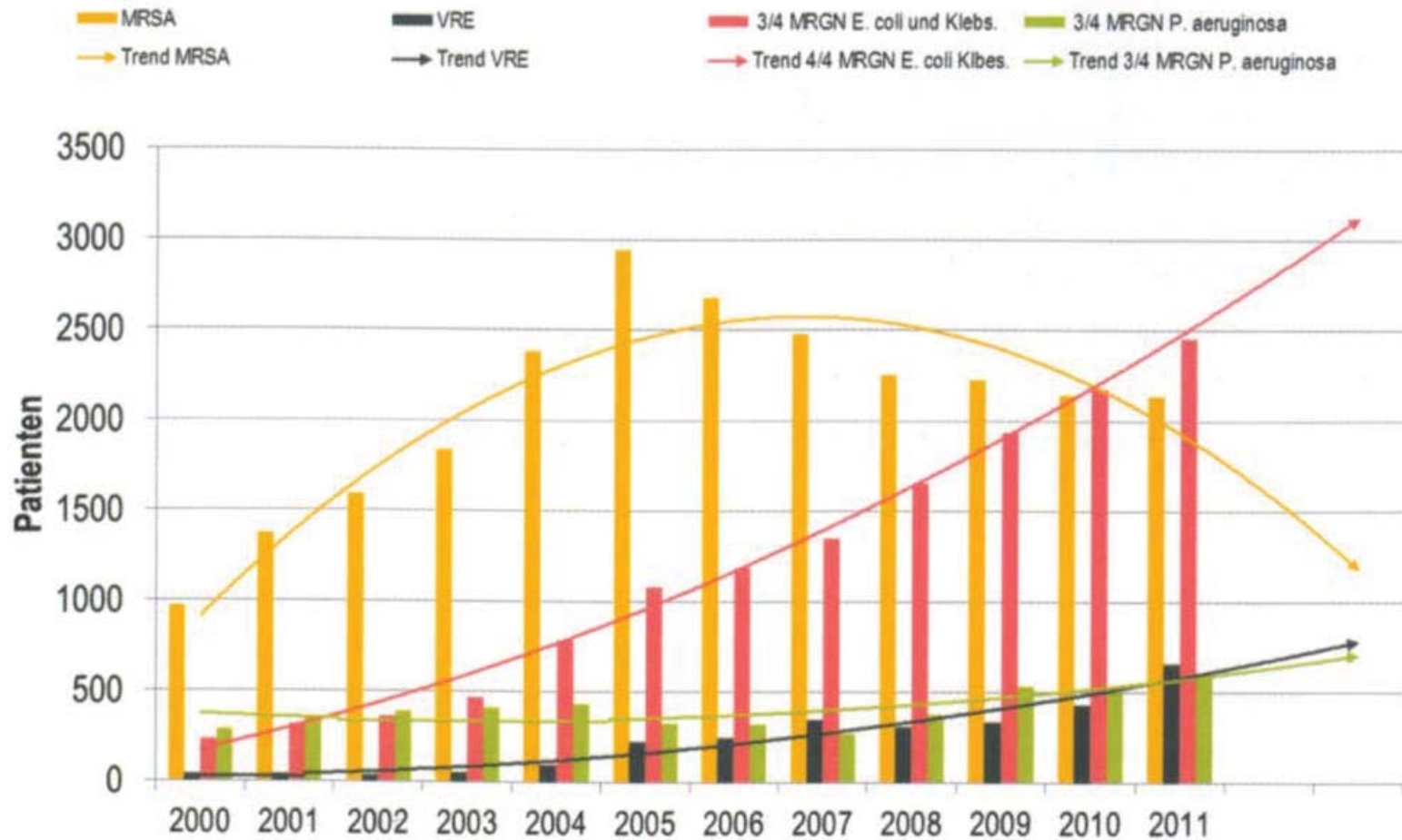


Abbildung 1: Jährliche Nachweishäufigkeit von multiresistenten Erregern bei Patienten aus den Einsendungen des MVZ Labor Limbach.

ESBL → Extended-Spectrum β -Lactamases



- ▶ β -Lactam hydrolysierende Enzyme, gebildet von Enterobacteriaceae



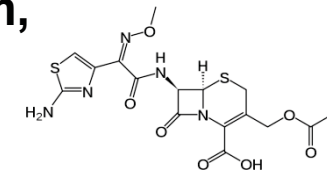
Aminoacylpenicilline (Ampicillin)

1., 3., 4. Gen. Cephalosporine (Cefotaxim, Cefpodoxim, Ceftazidim, Cefepim)

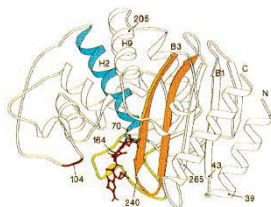
monobactams (aztreonam)

Empfindlich gegenüber Cephamycinen (z.B. Cefoxitin) und Carbapenemen (Imipenem, Meropenem)

ESBL-Inhibitoren: Clavulansäure, Sulbactam, Tazobactam



- ▶ **Ursprung**



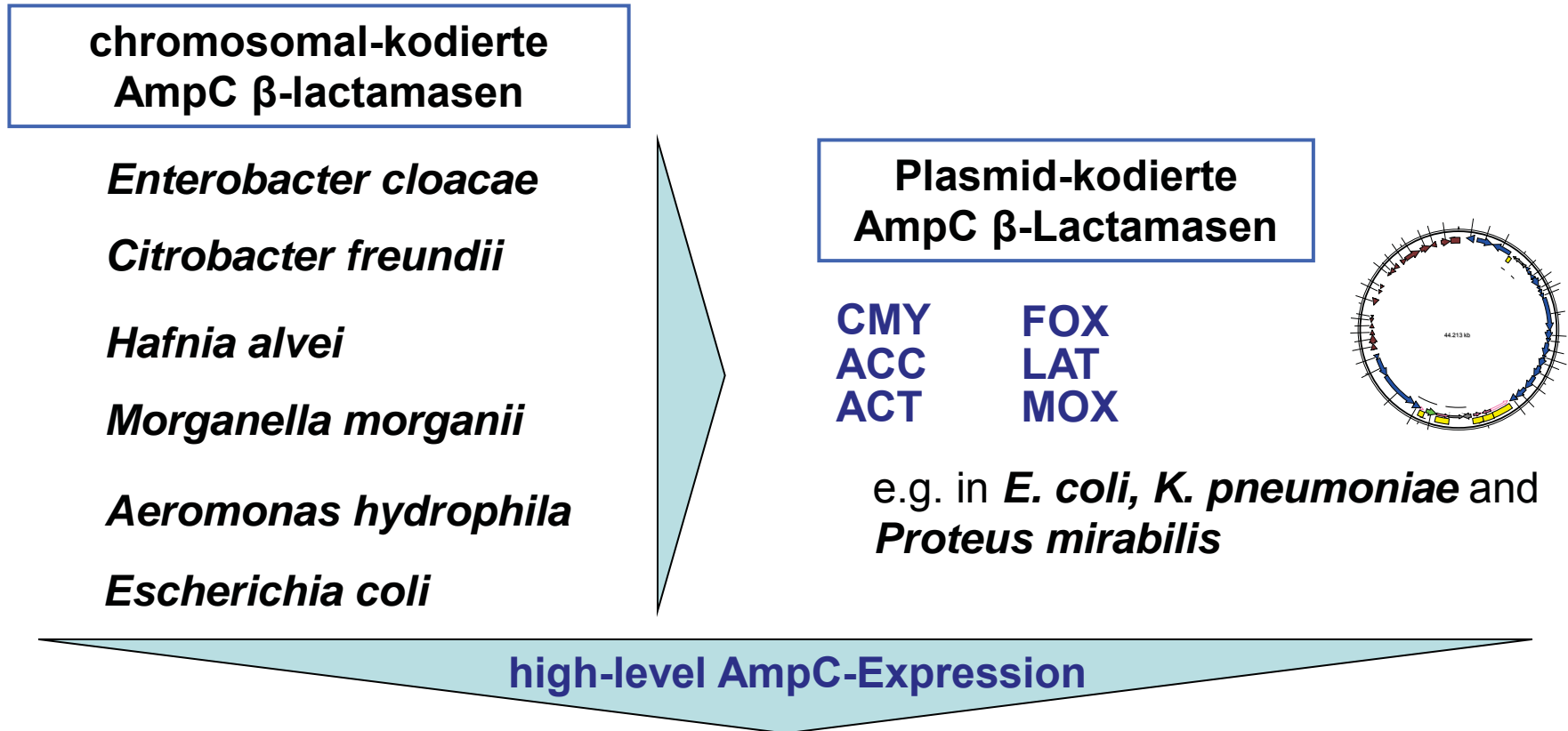
TEM-1 → > 190 enzyme variants → > 90 TEM-ESBL

SHV-1 → > 140 enzyme variants → > 50 SHV-ESBL

CTX-M > 100 enzyme variants → alles CTX-M-ESBL

CTX-M Enzyme sind die häufigsten ESBL und alle CTX-M hydrolysieren Cefotaxim → Marker-Substanz für ESBL-Surveillance

AmpC β -Lactamasen



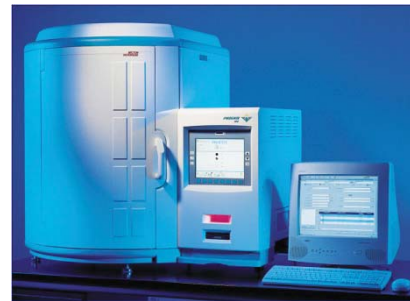
- ▶ Phänotyp: **resistent gegen Aminoacylpenicilline, 1./3. Gen. Cephalosporine and Cephamycine (z.B. Cefoxitin)**
Empfindlich gegenüber Carbapenemen
not hemmbar durch ESBL-Inhibitoren (Clavulansäure)
AmpC-Inhibitor: Cloxacillin

Diagnostik: ESBL-Phänotyp



- ▶ Resistent gegenüber 3./4. Gen. Cephalosporinen
- ▶ Hemmbar durch ESBL-Inhibitoren, z.B. Clavulansäure (CLV)

Automatensysteme



➔ **ESBL- Bestätigungstest**

Ceftazidim
 Cefotaxim
 Cefpodoxim
 Cefepim

} + Sulbactam
 } + Clavulansäure

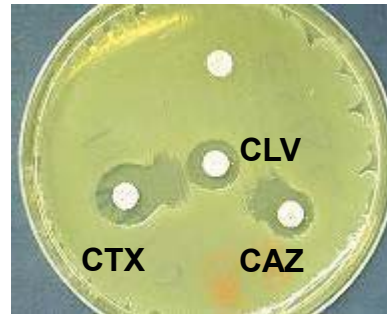
	Antibiotika						Hemmung durch
β-lactamase	AMP	CPD	CTX	CAZ	FOX	ETP	SUL, CLV, EDTA
TEM ESBL	R	R	V	R	S	S	SUL, CLV
SHV ESBL	R	R	V	R	S	S	SUL, CLV
CTX-M-ESBL	R	R	R	V	S	S	SUL, CLV
K1 (<i>K. oxytoca</i>)	R	R	V	S	S	S	-
AmpC	R	R	R	R	R	S	-
MBL	R	R	R	R	R	R	EDTA

AMP, ampicillin; CPD, cefpodoxime; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; FOX, cefoxitin; SUL, sulbactam; CLV, clavulanic acid; ETP, ertapenem; R, resistant; V, variable; S, sensitive; MBL, metallo-β-lactamase

ESBL – Phänotyp Bestätigungstests



Disk-Tests



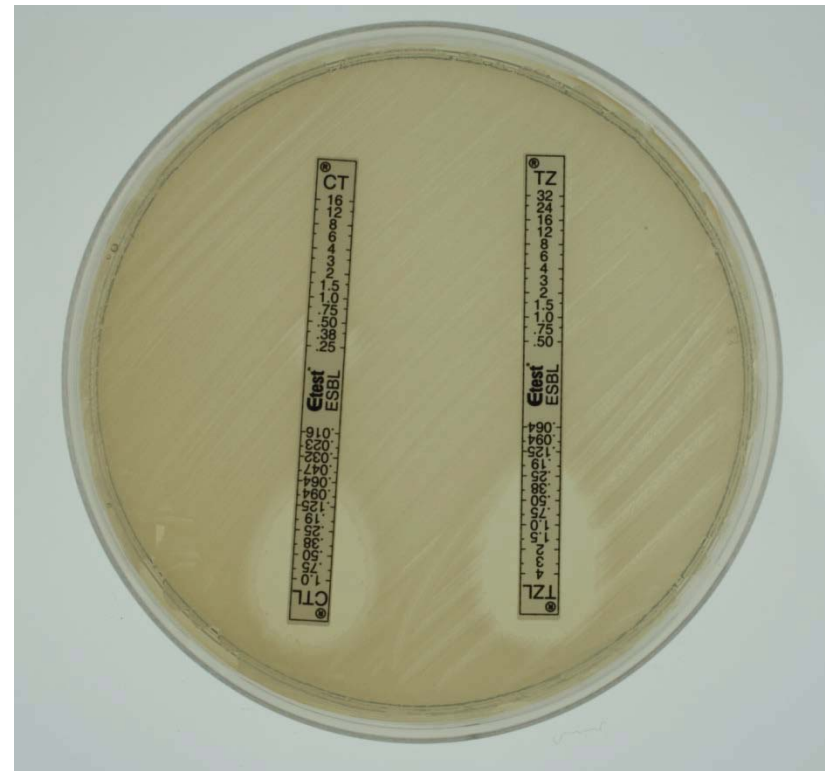
TZ = CAZ = Ceftazidim
CT = CTX = Cefotaxim
CLV = Clavulansäure

CTL = Cefotaxim + Clavulansäure
TZL = Ceftazidim + Clavulansäure

Etest



E. coli mit ESBL-Typ CTX-M-1



K. pneumoniae mit ESBL-Typ CTX-M-15

Beispiel: Bestätigung ESBL- & AmpC-Phänotyp



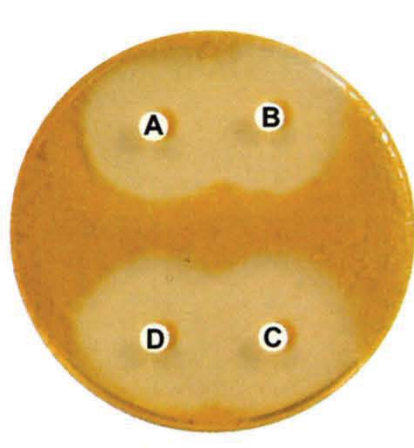
D68C ESBL/AmpC ID (Mast)

A Cefpodoxim

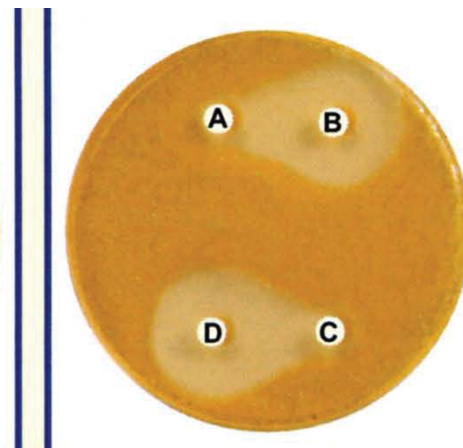
B Cefpodoxim + ESBL-Inhibitor

C Cefpodoxim + AmpC-Inhibitor (Cloxacillin)

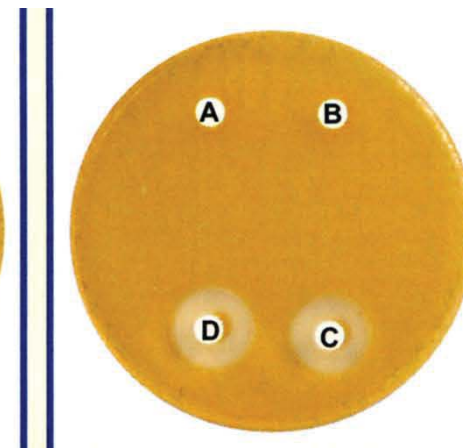
D Cefpodoxim + ESBL- and AmpC-Inhibitor



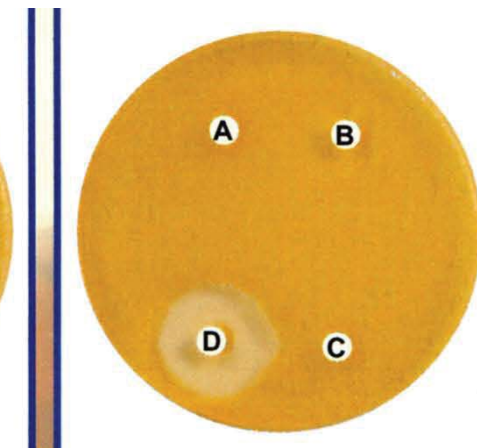
ESBL-negativ
AmpC-negativ



ESBL-positiv



AmpC-positiv



ESBL-positiv
AmpC-positiv

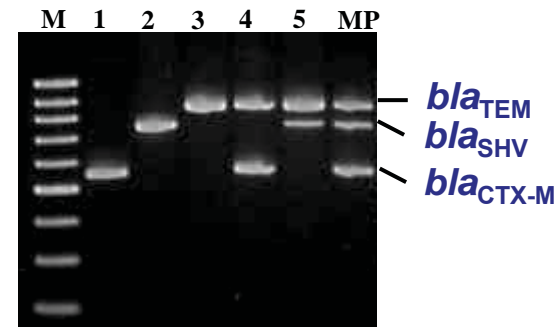
! Geeignet insbesondere für *E. coli* und *K. pneumoniae*
! Falsch positive/negative Ergebnisse möglich, z.B. für *K. oxytoca*



▶ PCR and Sequenzierung der ESBL- und AmpC-Gene



ESBL-Multiplex-PCR



Klinische Diagnostik:

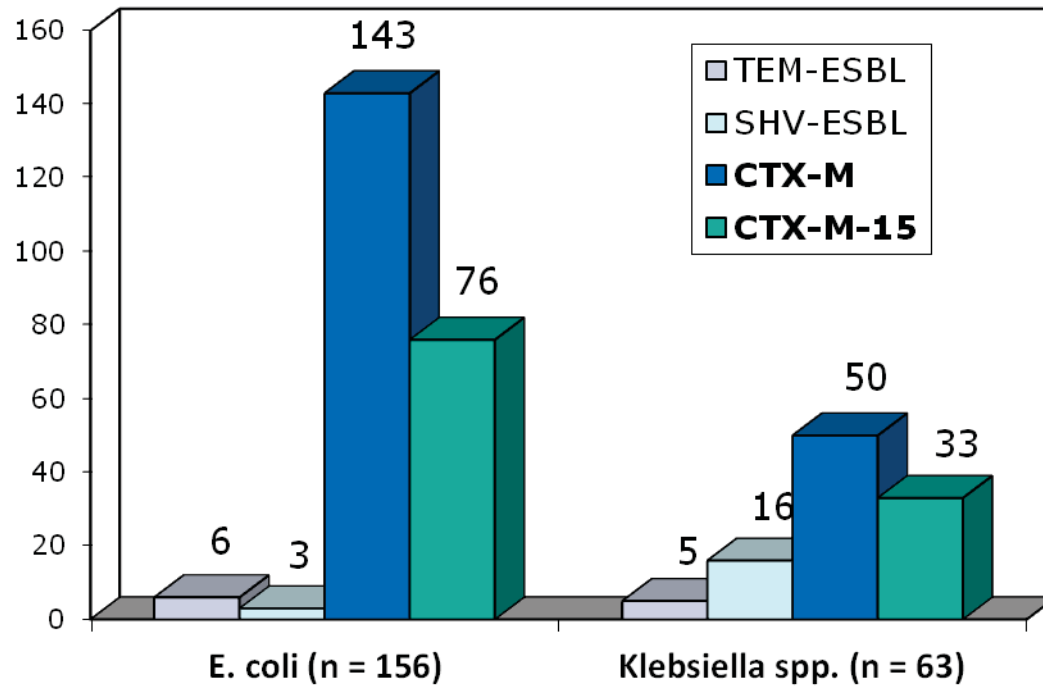
- ▶ **PCR and Hybridisierung** mit spezifischen Oligonucleotid-Sonden und ELISA Detection → Identifizierung von TEM-ESBL/non-ESBL, SHV-ESBL/non-ESBL und CTX-M

hyplex® ESBL ID

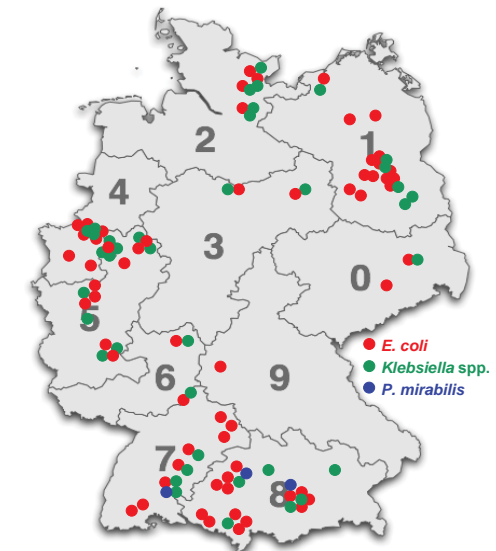
- ▶ **PCR and Hybridisierung** mit spezifischen Oligonucleotid-Sonden und Microarray Detection → identification of TEM-ESBL/non-ESBL, SHV-ESBL/non-ESBL, CTX-M-Gruppen und AmpC β -Lactamasen



ARS Studie 2008: ESBL in Deutschland – nosokomiale Isolate



Anzahl Krankenhäuser (n=150)



- > **90%** der resistenten, humanen *E. coli* bilden **CTX-M-ESBL**
- > **50%** der CTX-M-*E. coli* sind Variante **CTX-M-15**

Pfeifer Y, J. Lab. Med. 2010

Pfeifer & Eller. Bundesgesundheitsblatt 11/2012

Klonale Linie *E. coli* ST131 (O25:H4) B2 mit CTX-M-ESBL

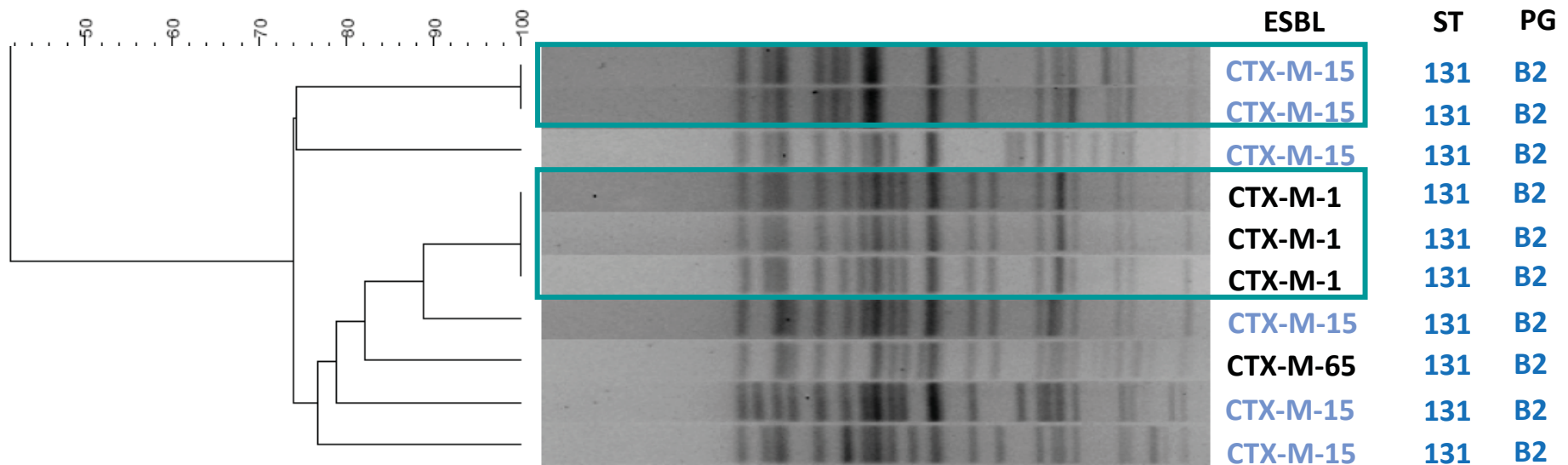


Typisierung von ESBL-*E. coli* Isolaten aus einer deutschen Klinik 2008:

Makrorestriktionsanalyse (PFGE)

Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST)

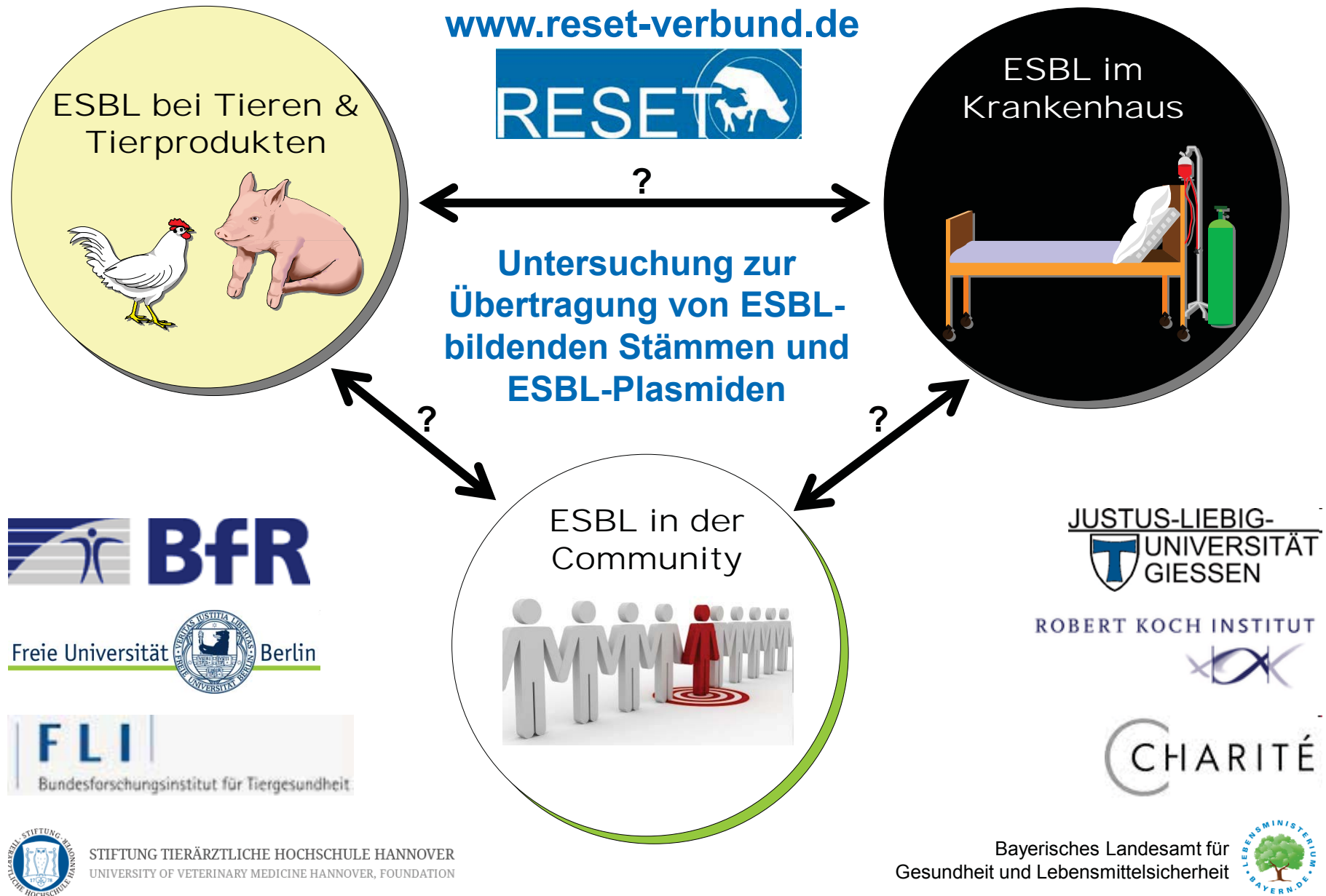
Phylogenetische Gruppe (PG)



Dice (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]
 PG, phylogenetic group; ST, sequence type

Weltweite Verbreitung verschiedener Stämme der klonalen Linie *E. coli* ST131 (O25:H4) B2 mit CTX-M-ESBL beim Mensch

ESBL und (flouro)quinolone resistance in *Enterobacteriaceae*





A) Limbach Laborstudie 2011 (202 *E. coli* mit ESBL-Phänotyp aus 24 Laboren)

***E. coli* nosokomial n=104**

CTX-M-ESBL (97,1%)

Variante CTX-M-15 51,5% (n=52)

Variante CTX-M-1 31,7% (n=32)



***E. coli* ambulant n=98**

CTX-M-ESBL (96,9%)

Variante CTX-M-15 52,1% (n=51)

Variante CTX-M-1 25,3% (n=24)

B) Charité Hospital Case Control Studie 2011

***E. coli* ambulant n=85**

CTX-M-ESBL (96,5%)

Variante CTX-M-1 (42 %)

Variante CTX-M-15 (29 %)

>50% der ESBL- *E. coli* sind resistent gegenüber Ciprofloxacin (3MRGN)

>60% der CTX-M-15- *E. coli* gehören zur phylogenetischen Gruppe B2

(→ *E. coli* ST131)



RESET Studien 2011: ESBL-*E. coli* Mensch



C) ESBL-Screening-Studie LGL Bayern 2009-2011 (Dr. G. Valenza)



ESBL-Screening von 3000 Personen der Normalbevölkerung
(Gesunde Angehörige/Kontaktpersonen von Personen mit Gastroenteritis)

→ Anteil Besiedlung: *E. coli* mit ESBL-Phänotyp 6,7% (n= 201)

Anteil CTX-M-ESBL > 90 %

Variante CTX-M-15 und CTX-M-1 als häufigste Varianten

Besiedlung mit ESBL-*E. coli* ist nicht altersabhängig

Wenige Isolate mit AmpC- β -Lactamase (CMY-2)



Salmonellen mit 3. Gen. Cephalosporinresistenz (Mensch)



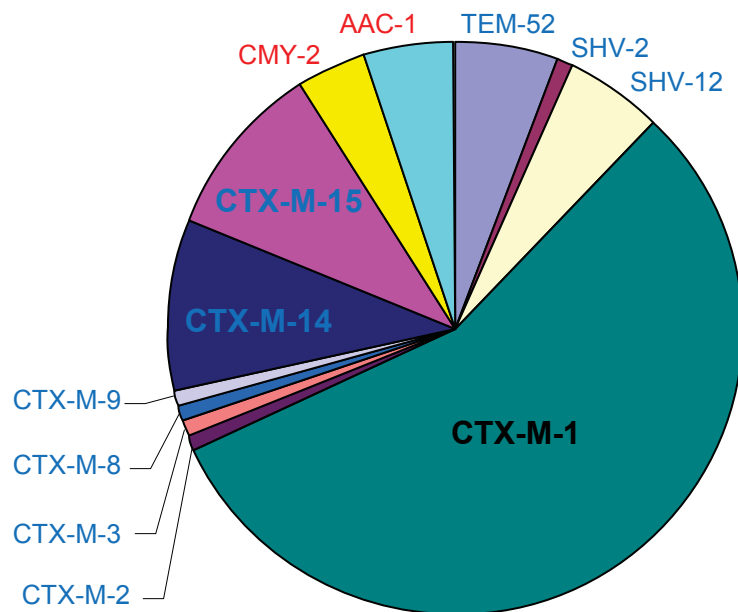
Molekulare Analyse von *Salmonella* Isolaten (NRZ in Wernigerode) 2005-2011:

Anteil der Isolate mit ESBL/AmpC niedrig (< 1%)

Häufigste ESBL-Varianten: **CTX-M-1**, CTX-M-14, CTX-M-15

Transfer von ESBL-Genen in *E. coli* möglich über konjugative Plasmide

ESBL und AmpC in 150 *S. enterica*



ESBL in *Salmonella* Isolaten 30 verschiedener Serovare nachweisbar

Nachweis identischer *Salmonella* Stämme in Isolaten aus Mensch und Tier, bzw. gleicher ESBL-Plasmide in Isolaten aus Mensch und Tier

Proteus mirabilis mit 3. Gen. Cephalosporinresistenz



79 P. mirabilis Isolate mit Resistenz gegenüber Cefotaxim und/oder Ceftazidim aus 27 deutschen Krankenhäusern in 8 Bundesländern (2009-2012)

Material: Urin n=47 (Harnwegsinfekte); Wundabstrich, BAL, TS, BK

P. mirabilis mit ESBL

CTX-M-1	n = 6
CTX-M-2	n = 4
CTX-M-3	n = 1
CTX-M-14	n = 2
CTX-M-15	n = 6
CTX-M-55	n = 3
CTX-M-65	n = 1
TEM-52	n = 3
TEM-92	n = 2
VEB-5	n = 2
Total	n = 30

P. mirabilis mit AmpC

CMY-2	n = 25
CMY-15	n = 6
CMY-16	n = 19
DHA-1	n = 1
Total	n = 51

Große Vielfalt von ESBL und AmpC-Beta-Lactamasen nachweisbar

Nachweis bestimmter Stämme (z.B. CMY-16-*P.mirabilis*) über Jahre hinweg in Deutschland

Typisierung ESBL/AmpC-bildender *P. mirabilis*



► Auftreten klonal identischer Isolate innerhalb eines Krankenhauses:

Jahr 2010: *P. mirabilis* with CTX-M-55 in einer Klinik in Hessen

→ 3 Isolate (positiv für 35 kb Plasmid)

Jahr 2012: *P. mirabilis* with CTX-M-15 in einer Klinik in Baden Wuerttemberg

→ 2 Isolate (Positiv für > 90 kb Plasmid)

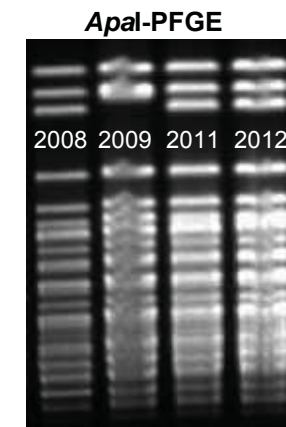
Jahr 2012: *P. mirabilis* with TEM-52 in einer Klinik in Baden Wuerttemberg

→ 2 Isolate (positiv für > 90 kb Plasmid)

Auftreten eines *P. mirabilis* Stammes in verschiedenen Krankenhäusern/Jahren:

P. mirabilis mit CMY-16 (AmpC) + TEM-1

Jahr	<i>P. mirabilis</i> CMY-16+TEM-1	Klinik	Bundesland
2008	n = 1	A	Bayern
2009	n = 2	B, C	Bayern
2011	n = 4	D	Niedersachsen
2012	n = 2	B, D	Bayern, Niedersachsen
Total	n = 9	n = 4	n = 2



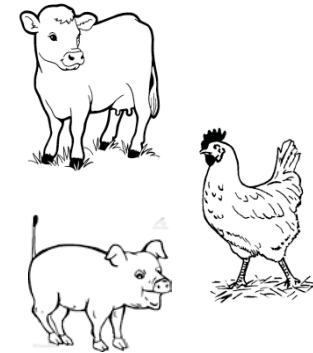
RESET: **IP3** (longterm) FU Berlin (Prof. Dr. Uwe Rösler)

ESBL-Screening

7 Geflügelbetriebe

7 Schweinebetriebe

Je drei Besuche: nach Einstallung, Mitte Mastperiode, kurz vor Ausstallung



RESET: **IP6** (cross-sectional) TIHO Hannover (L. Kreienbrock)

ESBL-Screening

200 Betriebe

Je zwei Altersstufen

Enterobacteriaceae mit ESBL-Phänotyp

RESET: **IP1** BfR (Beatriz Guerra, Jennie Fischer)

Resistenztestung und molekulare Analyse der Studienisolate

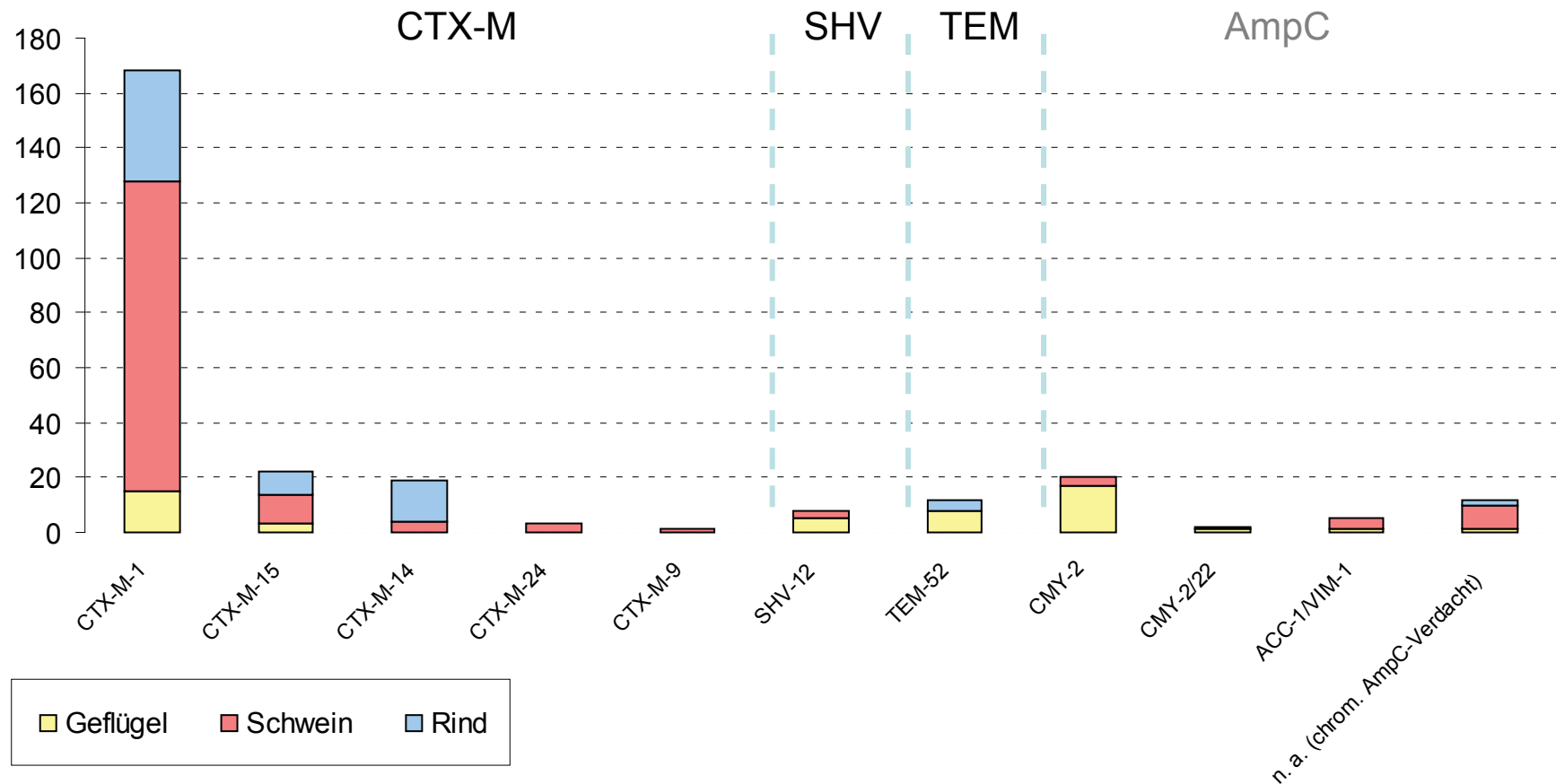
Ergebnisse RESET



ESBL- und AmpC-Enzyme in deutschen Tierbeständen (264 *E. coli*, 3 *Salmonella*)
 Longitudinal- und Querschnittsstudien

Stand Oktober 2012: 14 Rinderbestände (IP6), 37 Schweinebestände (IP3: 6, IP6: 34), 11 Geflügelbestände (IP3: 3, IP6: 8)

RESET Isolate gesamt (n= 267)



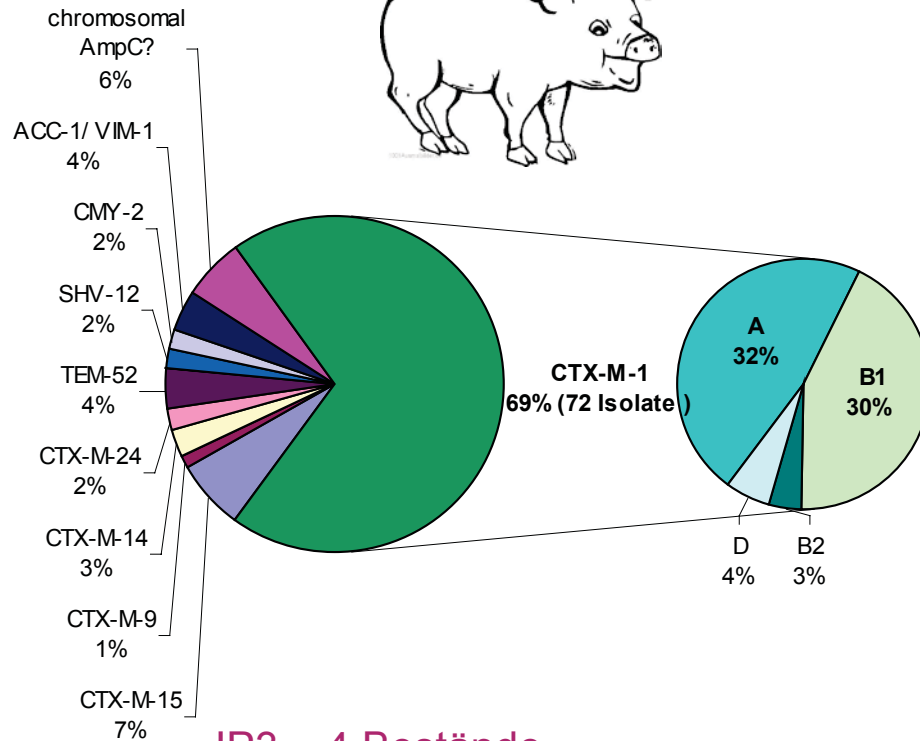
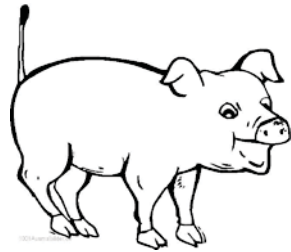
Anlysierte Isolate – Schwein (n = 103)

Anlysierte Isolate – Geflügel (n = 50)

101 *E. coli*, 2 *Salmonella* (*S. Infantis*)

54 *E. coli*, 1 *Salmonella* (*S. Infantis*)

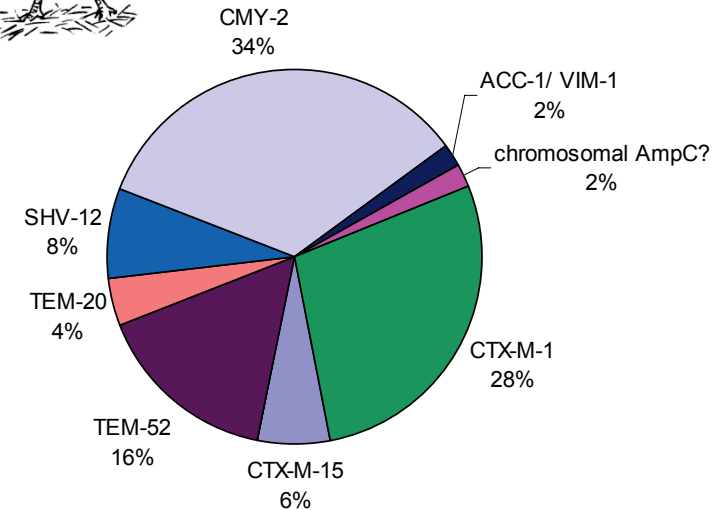
Stand Mai 2012



IP3 – 4 Bestände

IP6 – 29 Bestände

Jeweils mehrere Isolate pro Bestand



IP3 – 3 Bestände

IP6 – 8 Bestände

Jeweils mehrere Isolate pro Bestand

RESET: **IP4** Friedrich-Löffler-Institut (FLI)

(Stefan Schwarz; Geovana Brenner Michael, Kristina Kadlec)

Isolates from **diseased** poultry, swine or cattle by the
German national resistance monitoring program (GERM-Vet)

- **134 Isolate Rind** (GERM-Vet, 2008-2011)
- **42 Isolate Schwein** (GERM-Vet, 2008-2010)
- **12 Isolate Geflügel** (GERM-Vet, 2008-2010)

Resistenztestung und molekulare Analyse der Studienisolate

Ergebnisse RESET

- 134 Isolate Rind (GERM-Vet, 2008-2011)



spiegel.de

ESBL-Gen	Total
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	101
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	1
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	18
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	1
<i>bla</i> _{CTX-M-14}	13
Anzahl Isolate	134

- 42 Isolate Schwein (GERM-Vet, 2008-2010)
- 12 Isolate Geflügel (GERM-Vet, 2008-2010)

Herkunft	Anzahl Isolate	ESBL
Schwein	39	CTX-M-1 Gruppe
	1	SHV
	2	TEM
Geflügel	8	CTX-M-1 Gruppe
	3	SHV
	1	TEM

Zusammenfassung & Ausblick



- ESBL-bildende *E. coli* findet man nicht nur im Krankenhaus:
Es ist von einer Besiedlungsrate von 4-8% in der Bevölkerung auszugehen.
- Die häufigsten ESBL-Varianten beim Menschen sind **CTX-M-15** und **CTX-M-1** (Anteil jeweils 30-40%).
- In *E. coli* Isolaten vom Nutztier/Lebensmittel sind **CTX-M-1** ESBL sehr häufig; **CTX-M-15** ESBL dagegen deutlich seltener.
- In *E. coli* Isolaten vom Haustier ist der **CTX-M-15** Anteil deutlich höher.
- AmpC β -Lactamasen (**CMY-Typ**) sind seltener in humanen *E. coli* aber häufig die Ursache der Cephalosporinresistenz in *P. mirabilis*.
- In *E. coli* Isolaten vom Nutztier insbesondere vom Geflügel sind AmpC β -Lactamasen (**CMY-Typ**) häufig nachweisbar.
- Erste Nachweise von Carbapenemasen in Haus-und Nutztierisolaten!

Detaillierte vergleichende Analysen von ESBL/AmpC-bildenden Isolaten (Typisierung) aus Mensch, Tier, Lebensmittel
Vergleich von ESBL/AmpC-Plasmiden (Plasmid-Sequenzierung)

Dankeschön

Beatriz Guerra, Jennie Fischer (BfR)
Geovana Brenner Michael, Stefan Schwarz (FLI)
Giuseppe Valenza, Silke Nickel (LGL Bayern)

Arbeitsgruppe Enterobacteriaceae and Nonfermenter

Christoph Eller, Sibylle Müller-Bertling, Christine Günther

Nationales Referenzzentrum Staphylokokken (MRSA) / Enterokokken

Guido Werner, Ullrich Nübel, Franziska Layer, Birgit Strommenger

NRZ Salmonellen

W. Rabsch, R. Prager, S. Simon

Robert Koch Institute Berlin

Prof Dr. Martin Mielke

Dr. Tim Eckmanns

Dr. Ines Noll



Bundesministerium
für Gesundheit

pfeifery@rki.de

