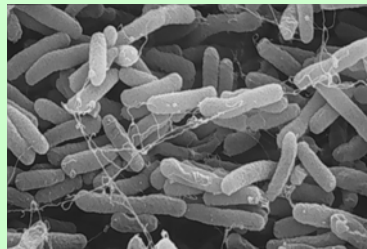


# Carbapenemresistenz bei Gram-negativen Bakterien Hype oder reale Bedrohung?



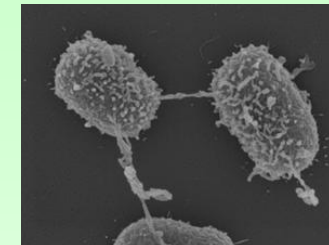
*E. coli*



*P. aeruginosa*



*K. pneumoniae*



*A. baumannii*

## Schlagzeile: NDM-1 (New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase)



**Gegen fast alle Antibiotika resistent**  
**Britische Wissenschaftler warnen vor neuem Superbakterium**  
**Es wurde durch Schönheitsoperationen aus Indien eingeschleppt**

**Deutschland: Neuer Supererreger NDM-1 breitet sich in Europa aus**



**Bakterium NDM-1 Das Ende der Antibiotika**

ZEITUNG ONLINE

WELT ONLINE

**Belgien 14.08.2010**

**Superkeim NDM-1 fordert erstes Todesopfer in Europa**

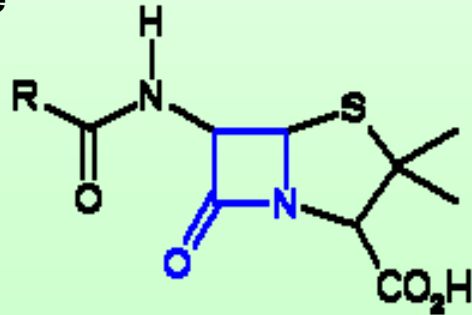
- ▶ Ende 2008: erste Identifikation von **NDM-1** in *K. pneumoniae* bei einem schwedischen Patienten indischer Abstammung (Yong D. et al. AAC. 2009)
- ▶ August 2010: vielfaches Auftreten von **NDM-1** in *K. pneumoniae*, *E. coli* u.a. *Enterobacteriaceae* in Indien/Pakistan und Großbritannien (Kumarasamy KK. et al. Lancet Infect. Dis. 2010)
- ▶ Ende 2010: vereinzelttes Auftreten von **NDM-1** in *Enterobacteriaceae* und Nonfermentern in Deutschland und weltweit (Pfeifer et al. AAC. 2010)



# $\beta$ -Lactam Antibiotika



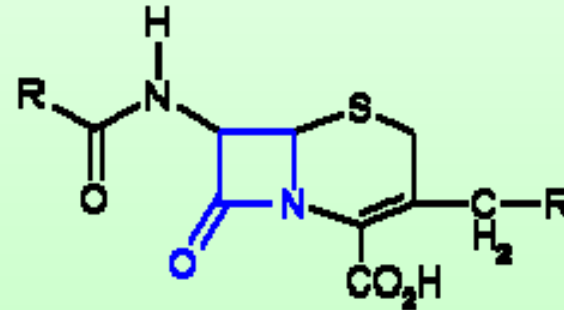
1960er Jahre



Ampicillin  
Piperacillin

Penicillin nucleus

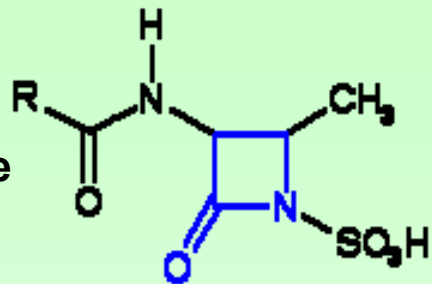
1970-90er Jahre



Cefuroxim  
Cefotaxim  
Ceftazidim  
Cefepim

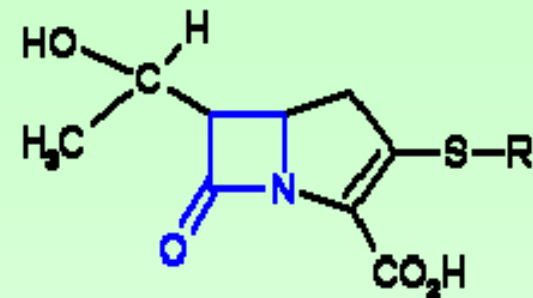
Cephalosporin nucleus

1980er Jahre



Aztreonam

Monobactam nucleus



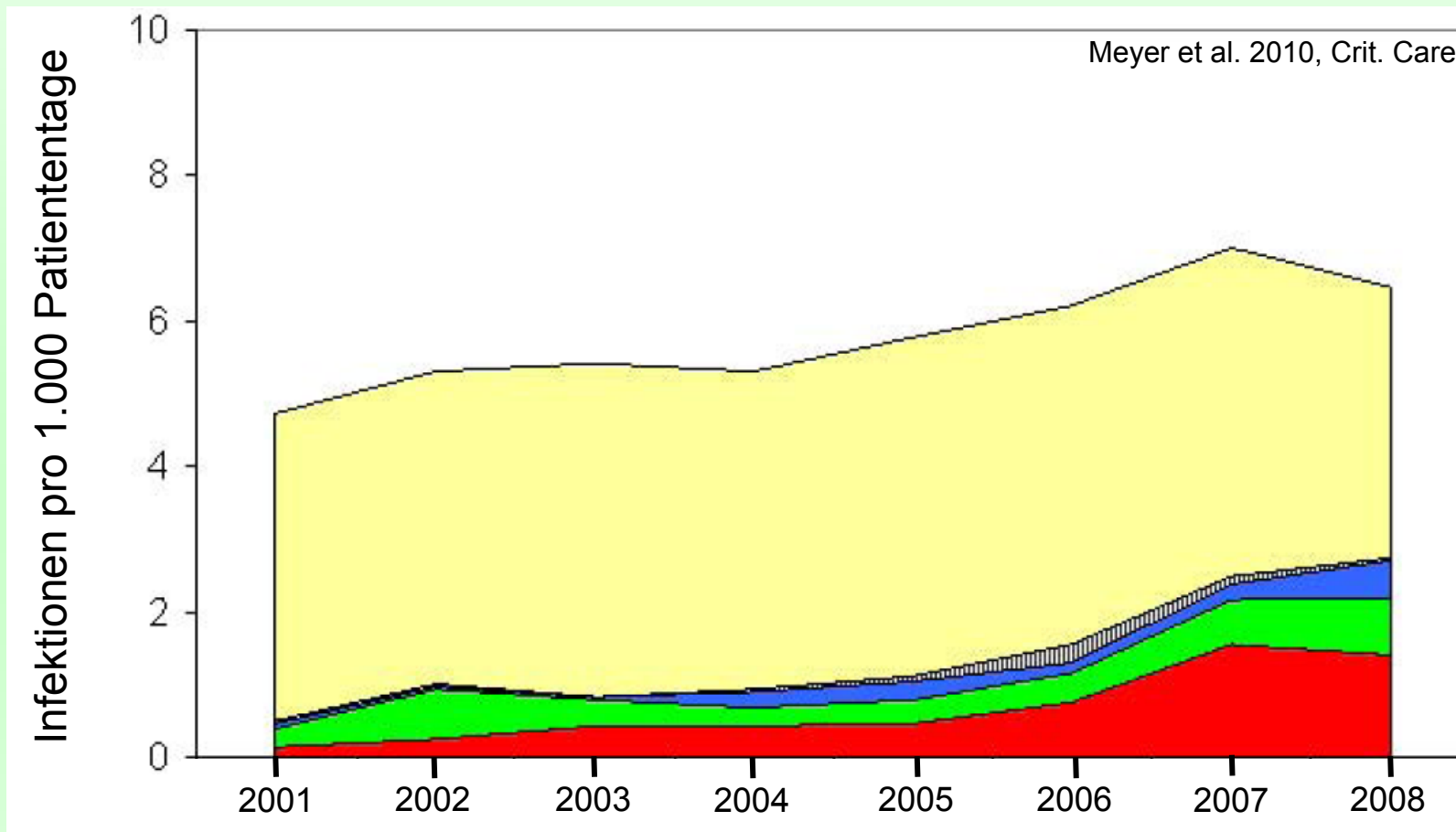
Carbapenem nucleus






1990er Jahre

Imipenem  
Meropenem  
Ertapenem  
Doripenem



## Häufigkeit multiresistenter Erreger auf deutschen Intensivstationen



-  Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)
-  3.-Gen.-Cephalosporin-resistente *Escherichia coli*
-  3.-Gen.-Cephalosporin-resistente *Klebsiella pneumoniae*
-  Vancomycin-resistente Enterokokken
-  Carbapenem- (Imipenem-) resistente *Acinetobacter baumannii*



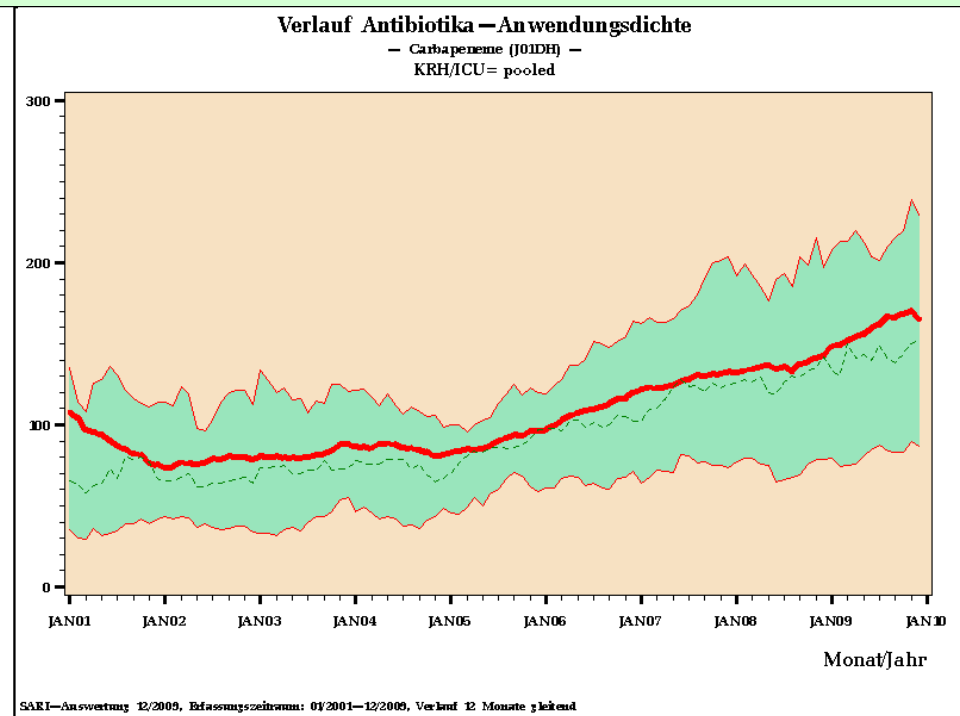
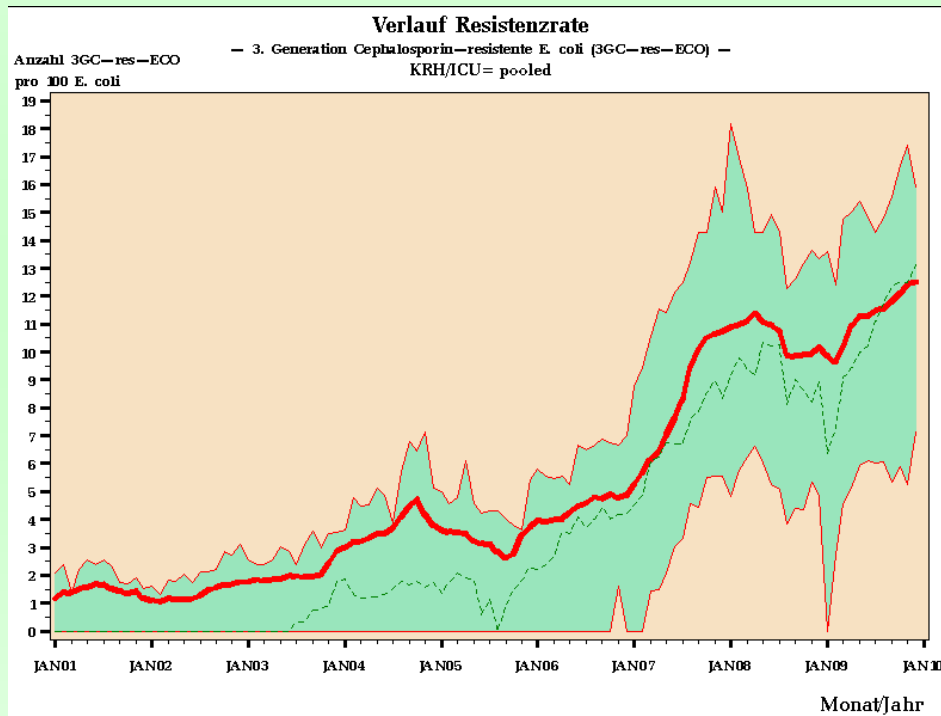
# $\beta$ -Lactamresistenz und $\beta$ -Lactamverbrauch



[SARI – www.antibiotika-sari.de](http://www.antibiotika-sari.de)

## Resistenz 3.Gen. Cephalosporine (*E. coli*)

## Einsatz (Verbrauch) Carbapeneme



► **Risiko: Selektion Carbapenem-resistenter (multiresistenter) Erreger**



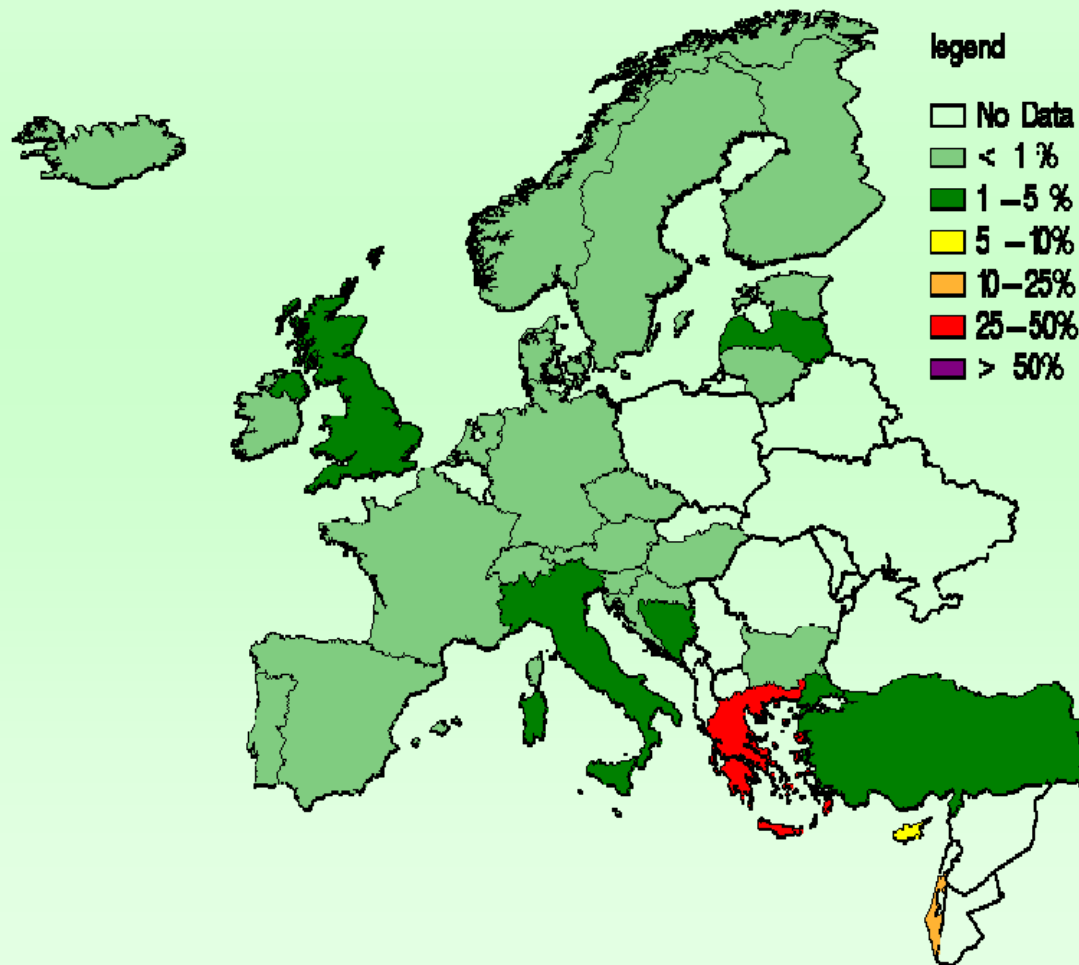
# Carbapenemresistenz bei Gram-negativen Bakterien



## Carbapeneme: Meropenem, Imipenem, Ertapenem, Doripenem

Proportion of Carbapenems resistant *K. pneumoniae* isolates in participating countries in 2008

(c) EARSS



## GERMAP 2008



### Enterobacteriaceae

**Resistenzrate: < 1 %**

### *Pseudomonas aeruginosa*

**Resistenzrate: 7-25 %**

### *Acinetobacter baumannii*

**Resistenzrate: 7-15 %**

**Resistenztrend:  
langsam ansteigend!**

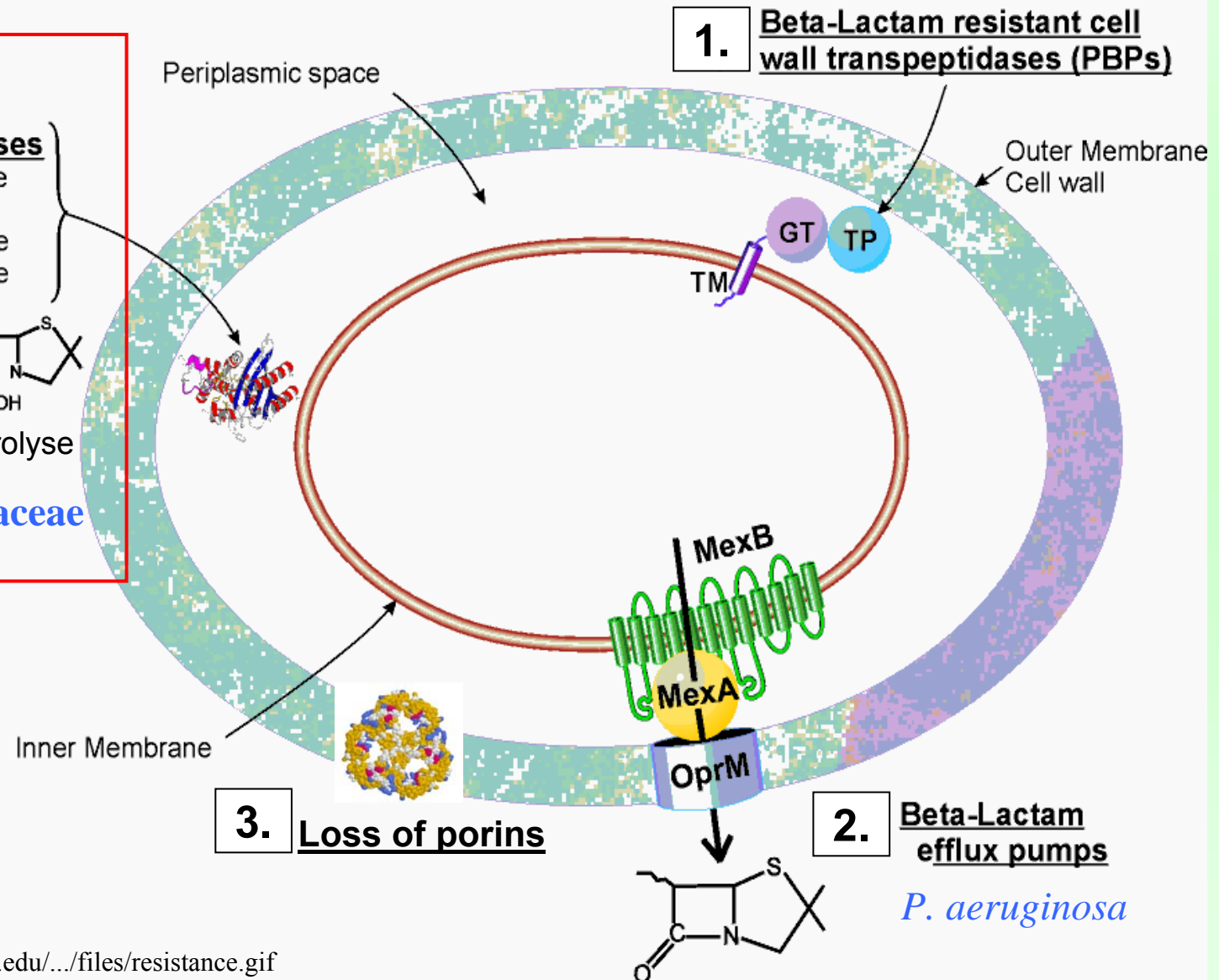


# Mechanismen der $\beta$ -Lactamresistenz



**4.**  
**Beta-Lactamases**  
Class A - Serine  
Class B - Zinc  
Class C - Serine  
Class D - Serine

Beta-Lactam Hydrolyse  
**Enterobacteriaceae**








## Spezies-spezifische $\beta$ -Lactamasen



Spezies	$\beta$ -Lactamase	
<i>Escherichia coli</i>	AmpC	} <ul style="list-style-type: none"><li>• Harnwegsinfektionen Urosepsis</li><li>• Wundinfektionen, Bakteriämie, Sepsis</li></ul>  <ul style="list-style-type: none"><li>• Atemwegsinfektionen, Nosokomiale Pneumonie</li></ul>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	K1 (OXY)	
<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AmpC	
<i>Citrobacter freundii</i>	AmpC	
<i>Proteus mirabilis</i>	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AmpC	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	AmpC, OXA	

Veränderungen in den Regulationsmechanismen (Promoter-Mutationen, SNPs, Insertionsequenzen) resultieren in der High-Level Expression der chromosomal-kodierten Beta-Lactamasen  $\rightarrow$   $\beta$ -Lactamresistenz  $\rightarrow$  erhöhte Mortalität



# Einteilung der $\beta$ -Lactamasen



	$\beta$ -Lactamase-Klasse	$\beta$ -Lactamasen	Beispiele	Relevante Spezies	Resistenzen <sup>1</sup>
Serin- $\beta$ -Lactamasen	A	Breitspektrum- $\beta$ -Lactamasen	TEM-1, TEM-2 SHV-1, SHV-11	Enterobacteriaceae und Nonfermenter <sup>2</sup>	Ampicillin, Cephalotin
		ESBL TEM	TEM-3, TEM-52		Penicilline, 3. Gen. Cephalosporine
		ESBL SHV	SHV-5, SHV-12		
		ESBL CTX-M	CTX-M-1, CTX-M-15		
		<b>Carbapenemasen</b>	KPC		
	C	Cephamicinasen Chromosomal kodiert	AmpC	<i>Enterobacter</i> spp. <i>Citrobacter</i> spp.	Cephamicine (Cefoxitin), 3. Gen. Cephalosporine
		Cephamicinasen Plasmid-kodierte AmpC	CMY, DHA, FOX, ACC		Cephamicine (Cefoxitin), 3. Gen. Cephalosporine
	D	Breitspektrum- $\beta$ -Lactamasen	OXA-1, OXA-9	Enterobacteriaceae	Oxacillin, Ampicillin, Cephalotin
		ESBL OXA	OXA-2, OXA-10		3. Gen. Cephalosporine
		<b>Carbapenemasen</b> OXA <b>Carbapenemasen</b> OXA	OXA-48 OXA-23,-24,-58	Enterobacteriaceae <i>A. baumannii</i>	Ampicillin, Imipenem alle $\beta$ -Lactame <sup>3</sup>
Metallo- $\beta$ -Lactamasen	B	Metallo- $\beta$ -Lactamasen ( <b>Carbapenemasen</b> )	VIM, NDM-1 IMP, GIM	Enterobacteriaceae und Nonfermenter	alle $\beta$ -Lactame <sup>3</sup>

**Abbildung: Vereinfachte Darstellung der Einteilung der  $\beta$ -Lactamasen.** <sup>1</sup>, angegeben sind charakteristische Resistenzen, die z.T. für die Diagnostik genutzt werden; <sup>2</sup>, die Breitspektrum- $\beta$ -Lactamase TEM-1 findet man auch bei Nonfermentern (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*) häufig; <sup>3</sup>, breites Hydrolysespektrum inklusive der Carbapeneme



## Verbreitung von $\beta$ -Lactamasen

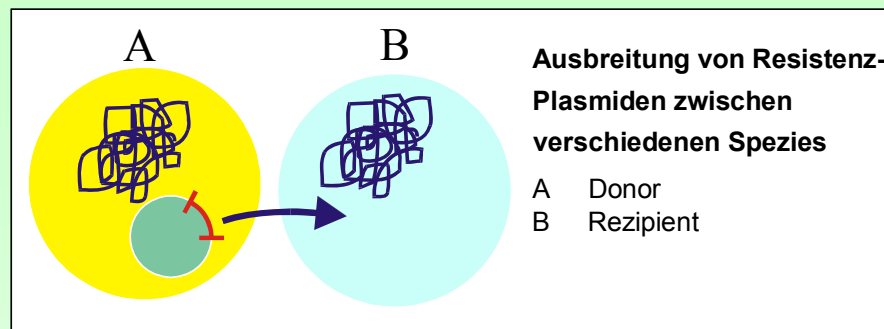


### ▶ Klonale Verbreitung:

Verbreitung bestimmter resistenter Stämme in der Klinik (Ausbruch)  
Verbreitung bestimmter europäischer klonaler Linien

### ▶ Verbreitung des Resistenzgens – Horizontaler Gentransfer HGT

Lage der Resistenzgene (Carbapenemase-Gene) auf Plasmiden, die leicht übertragbar sind innerhalb der Spezies/in andere Spezies



**! Oft liegen verschiedene Resistenzgene auf einem Plasmid; dessen Weitergabe führt zur Entstehung multiresistenter Erreger (MRE) !**



## Definition: $\beta$ -Lactamasen, die Cephalosporine und Carbapeneme hydrolysieren

### ▶ Klasse A Carbapenemasen

**KPC** → erstmals 2008 in Deutschland nachgewiesen (C. Wendt, EpiBull, 22/2008)  
Import aus „Endemiegebieten“ (z.B. Griechenland, Israel)  
einzelne Ausbruchsgeschehen in deutschen Kliniken

### ▶ Klasse B Carbapenemasen (Metallo-Beta-Lactamasen = MBL)

**VIM** → Import aus Mittelmeerregion (Italien, Spanien)  
in Deutschland z.T. regionale Verbreitung

**NDM-1** → Import aus Indien/Pakistan (bisher 12 Fälle in Deutschland bekannt)

### ▶ Klasse D Carbapenemasen

**OXA-48** → in Enterobacteriaceae (Import überwiegend aus Türkei)

**OXA-58/23/24** → in *Acinetobacter baumannii* aus Mittelmeerregion  
in Deutschland jährlich Ausbruchsgeschehen

<b>Antibiotika [mg/mL]</b>	<b>NDM-1 <i>E. coli</i></b>	<b>VIM-1 <i>K. oxytoca</i></b>	<b>KPC-2 <i>K. pneumoniae</i></b>	<b>OXA-23 <i>A. baumannii</i></b>	<b>OXA-48 + ESBL <i>K. pneumoniae</i></b>	<b>OXA-48 <i>E. coli</i></b>
Ampicillin	R	R	R	R	R	R
Cefotiam	R	R	R	R	R	R
Cefotaxim	R	R	R	R	R	S
Ceftazidim	R	R	R	R	R	S
Cefoxitin	R	R	R	R	R	R
Gentamicin	R	R	S/I	R	R	R
Kanamycin	R	R	R	R	R	R
Amikacin	R	S	R	R	R	R
Oxytetracyclin	R	R	R	R	R	R
Chloramphenicol	R	R	R	R	R	R
Nalidixinsäure	R	R	R	R	R	R
Ciprofloxacin	R	R	R	R	R	R
SXT	R	R	R	R	R	R
Meropenem	R	R	R	R	R	I/R
Imipenem	R	R	R	R	R	I/R
Ertapenem	R	R	R	R	R	R
MBL-Etest (IP/IPI)	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
Tigecyclin	S/I	S/I	S/I	-	S	S
Colistin	S	S	S	S	S	S



## Phänotypischer Carbapenemase-Nachweis



- ▶ Phänotyp: Resistenz gegen Penicilline und 3./4. Gen. Cephalosporine  
Resistent/ intermediär gegenüber Carbapenemen  
Hemmbar durch verschiedene Carbapenemase Inhibitoren

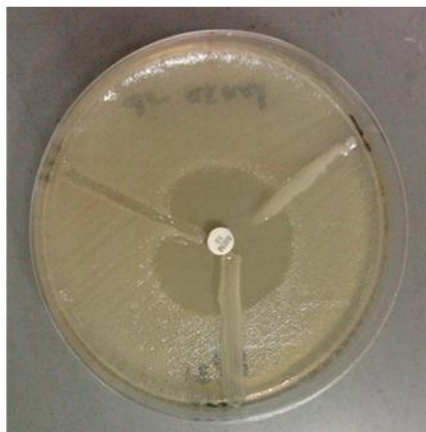
### Automaten-Tests



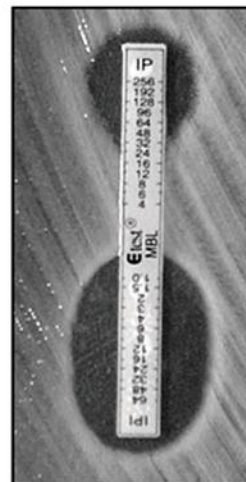
### AES: MHK-Interpretation

**Carbapenemase-Verdacht  
bei Resistenz gegenüber  
3.Gen. Cephalosporinen+  
Imipenem und/oder  
Meropenem**

### Carbapenemase-Bestätigungstest



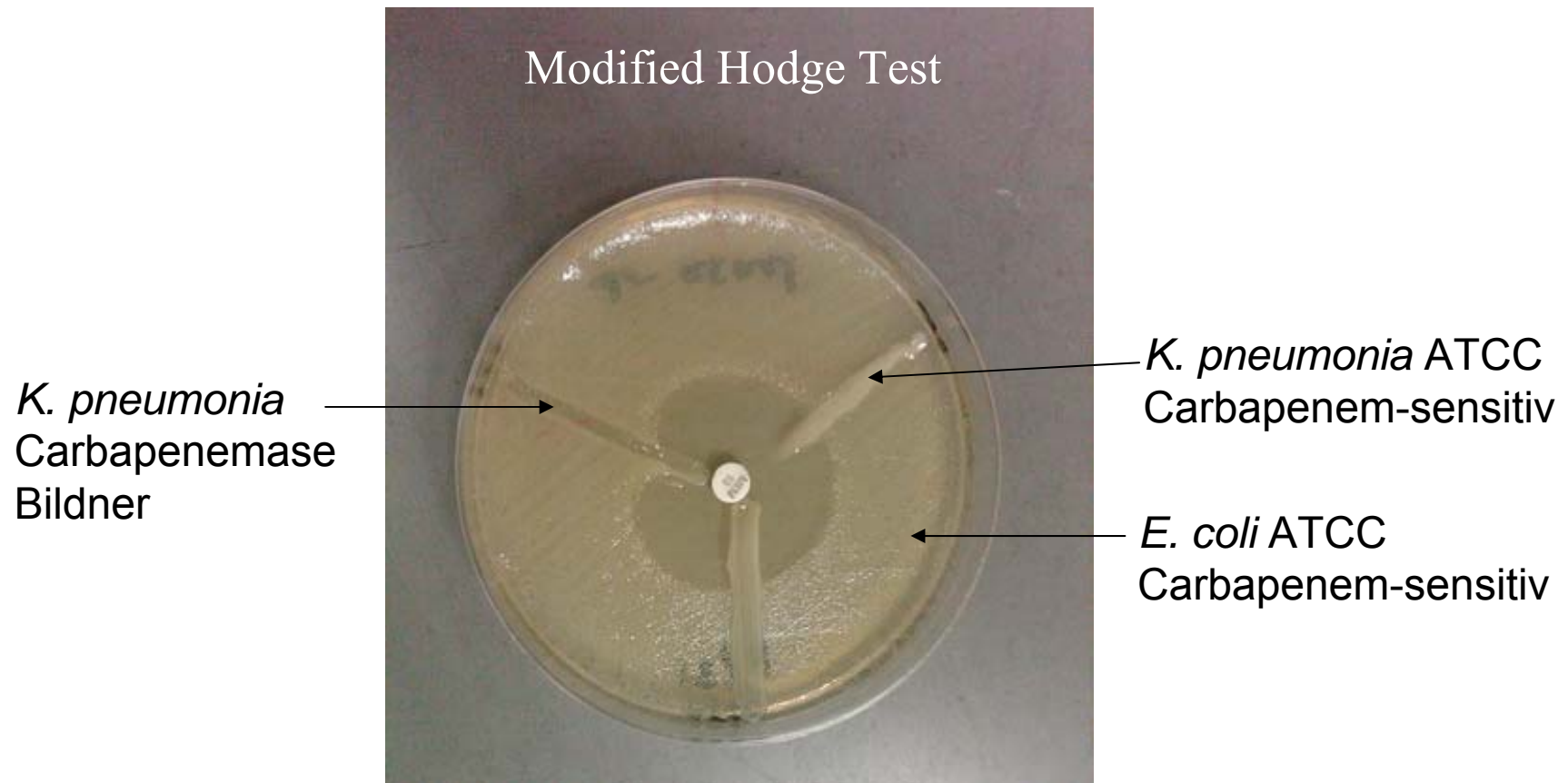
**Hodge-Tests**



**Etest**



**Disc-Tests**



## Anwendung:

- allg. Nachweis von Carbapenemase-Bildung (KPC, MBL, OXA)
- für epidemiologische Zwecke und Infektionskontrolle
- falsch positive Ergebnisse (z.B. bei AmpC-Bildung) möglich





## Beispiel: Phänotypischer Carbapenemase-Nachweis



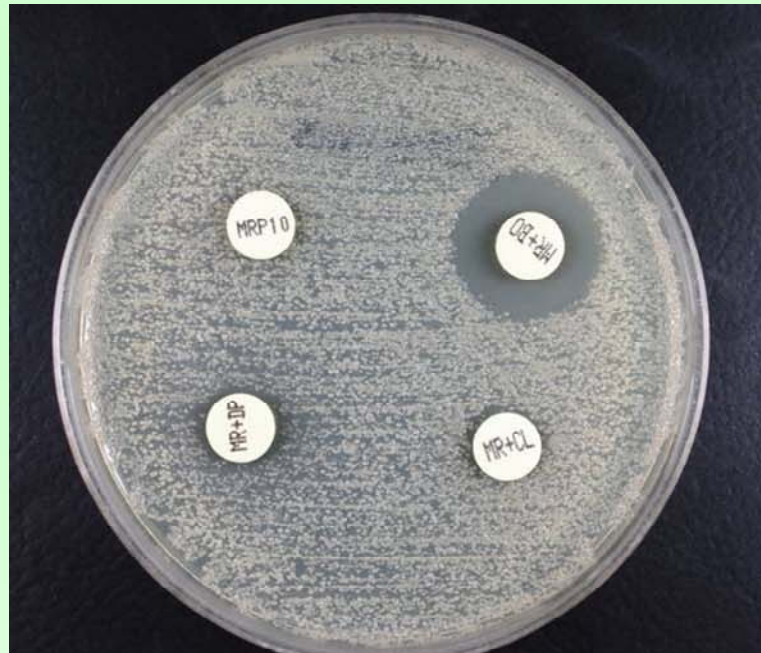
### KPC/MBL/AmpC ID-Test (Alere Diagn.)

MRP Meropenem

MR+DP Meropenem + MBL-Inhibitor

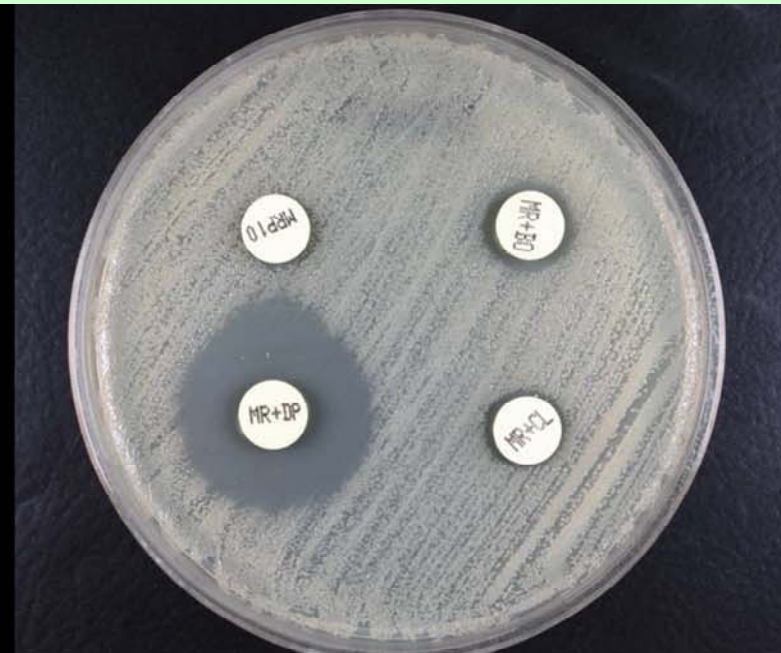
MR+BO Meropenem + KPC-Inhibitor

MR+CL Meropenem + AmpC-Inhibitor



**KPC-positiv**

**Borsäure = KPC-Inhibitor**



**MBL-positiv (VIM, NDM-1)**

**EDTA = MBL-Inhibitor**





# Beispiel: MBL oder Nicht-MBL ?



*P. aeruginosa*      *P. aeruginosa*      *P. aeruginosa*

Wachstum im Hemmhof

Imipenem

Ellipsen-deformation

Imipenem + EDTA (MBL-Inhibitor)

**Metallo- $\beta$ -Lactamase-Verdacht**      **MBL-positiv**

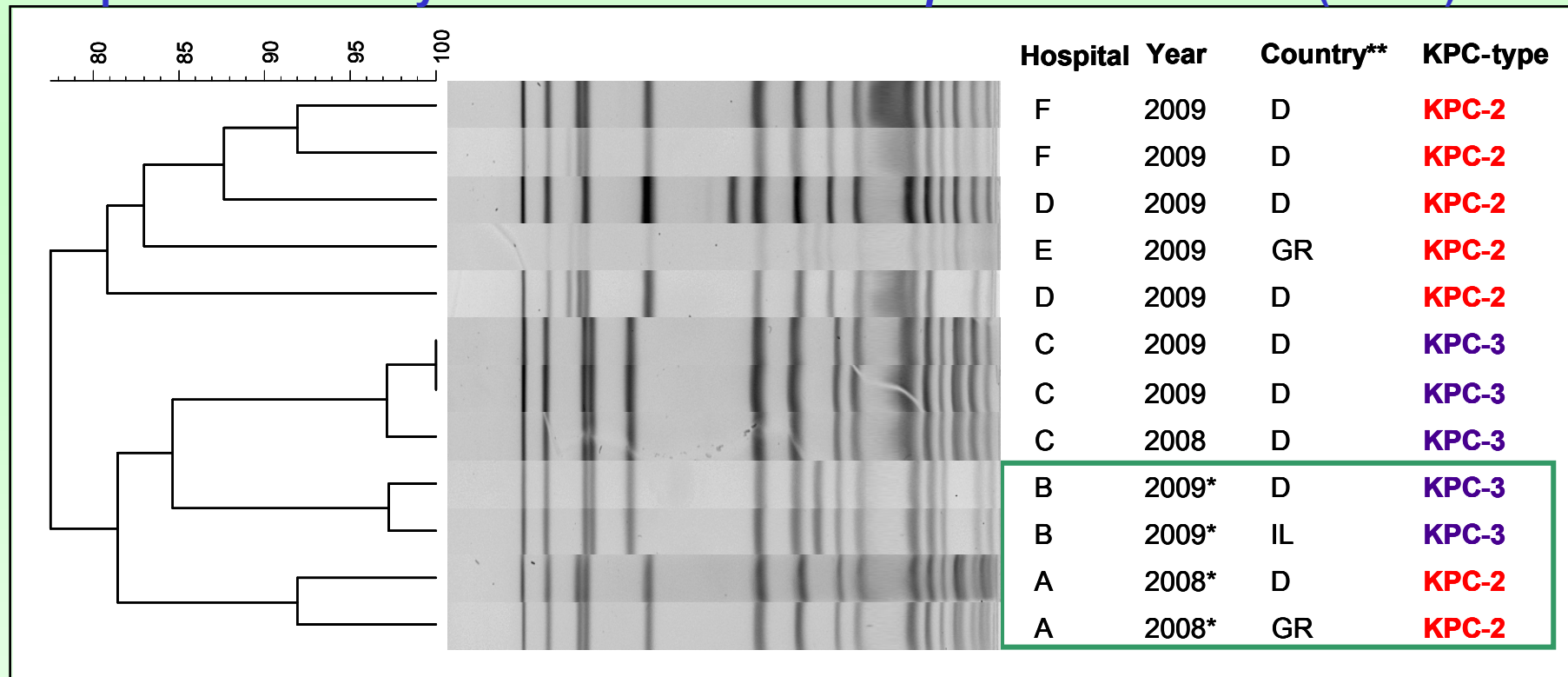


## Molekulare Diagnostik Carbapenemasen



- ▶ PCR und Sequenzierung der Resistenzgene
- ▶ Übertragbarkeit der Resistenzgene (Konjugation, Plasmidanalyse)
- ▶ Erregertypisierung (klonale Verbreitung – ja oder nein?) → PFGE, MLST

### Beispiel: PFGE-Analyse KPC-bildender *K. pneumoniae* ST258 (MLST)



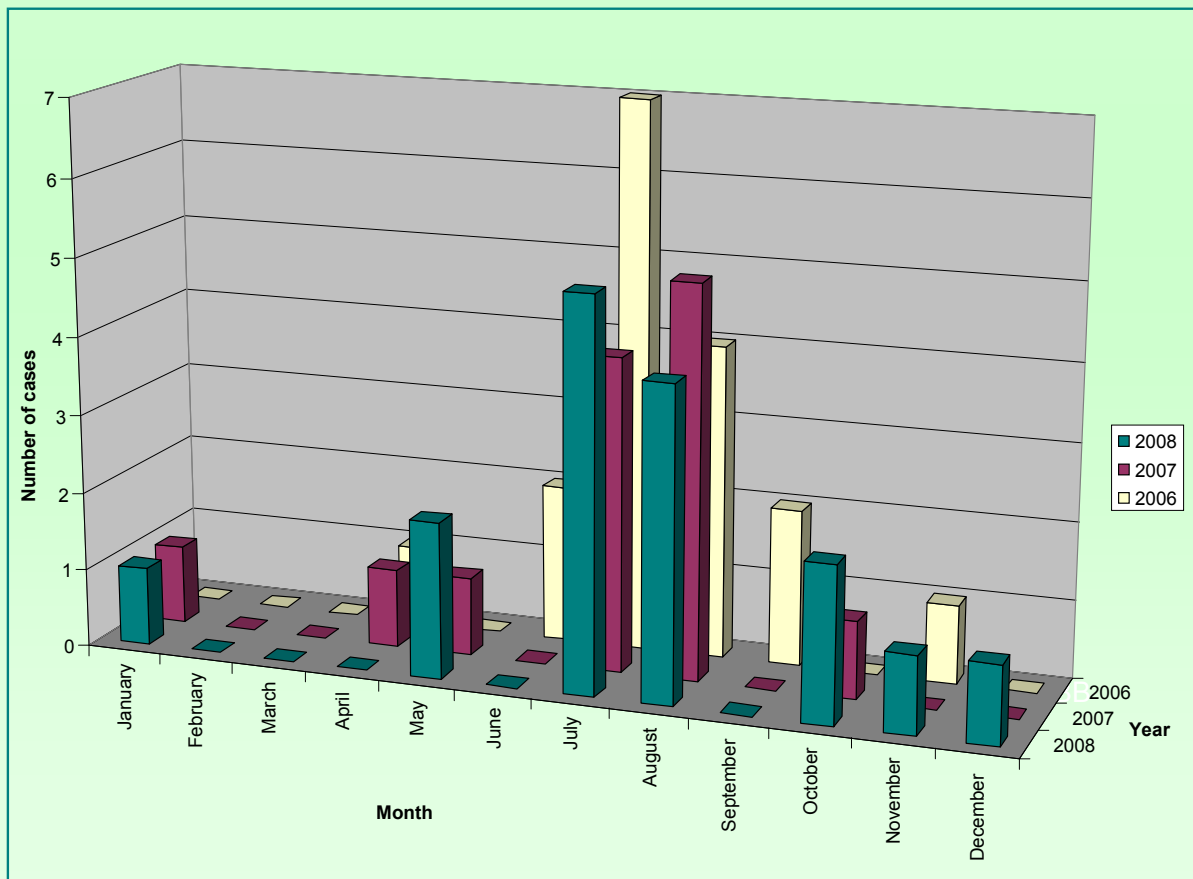
\*, outbreak isolates; \*\*, nationality of the patient or previous visit abroad; IL, Israel; GR, Greece; D, Germany;  
Dice (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]



## Bsp. OXA-Carbapenemase bildende *A. baumannii*



- ▶ jährlich mehrere Ausbrüche mit **OXA-23 und OXA-58** bildenden *A. baumannii* (Untersuchungen von Isolaten 2006-2010) in Deutschland
- ▶ Häufung der *A. baumannii* Nachweise in den Sommermonaten



Viele Patienten sind nur besiedelt aber auch schwere Infektionen, (Todesfälle) treten auf

Patienten kommen aus Südeuropa, Ägypten oder dem arabischen Raum („Iraqibacter“)

Behandlung nur noch mit Colistin erfolgreich



## NDM-1 bildender *Acinetobacter baumannii* in Deutschland



Antimicrobial substance Broth microdilution [MIC in mg/L]	No. 161/07 <i>A. baumannii</i>	
Ampicillin	> 16	R
Cefotiam	> 8	R
Cefotaxime	> 16	R
Ceftazidime	> 32	R
Cefoxitin	> 32	R
Gentamicin	> 8	R
Amikacin	> 32	R
Streptomycin	> 64	R
Nalidixic acid	> 32	R
Chloramphenicol	> 32	R
Ciprofloxacin	> 64	R
SXT	64	R
Antimicrobial substance Etest [ MIC in mg/L]		
Colistin	0,38	S
Tigecycline	1	S
Meropenem	> 32	R
Imipenem	> 32	R
Ertapenem	> 32	R
Metallo- $\beta$ -Lactamase Etest	<b>positiv</b>	

Identifikation eines NDM-1-bildenden Stammes durch retrospektive Analyse multiresistenter *A. baumannii* Isolate aus einer deutschen Klinik in 2007 (Ausbruchsgeschehen vermutet)

Patient zuvor in Serbien hospitalisiert  
Wundinfektion und Sepsis  
10 Tage nach Aufnahme verstorben

RKI EpiBull 33/2010;  
Göttig et al. THE LANCET Inf. Dis. 2010  
Higgins et al. ECCMID 2011 (Poster)



### Molekulare Diagnostik:

**NDM-1 Gen liegt im Chromosom aber innerhalb einer Transposon-Struktur und ist daher wieder mobilisierbar**



## Fazit



- ▶ Carbapenem-Resistenzraten bei Enterobacteriaceae noch unter 1 %
- ▶ **Langsamer Anstieg der Nachweiszahlen von multiresistenten Erregern (MRE), z.B. Ausbrüche mit Carbapenemase-bildenden *A. baumannii***
- ▶ **MRE sind oft Einzelfälle, viele Patienten besiedelt, wenige Infektionen**
  - KPC-Bildner > 50 Nachweise/Jahr
  - OXA-48-Bildner > 50 Nachweise/Jahr
  - VIM-MBL-Bildner > 40 Nachweise/Jahr
  - NDM-1-Bildner ca. 20 Nachweise/Jahr

} NRZ, Bochum  
2-Monatsberichte im  
Epidemiolog. Bulletin
- ▶ **MRE-Infektionen sind oft schwerwiegend und kaum therapierbar (hohe Mortalität)**

**Das Einschleppen multiresistenter Erreger ins Krankenhaus kann man nicht verhindern aber eine schnelle Diagnostik und strenge Hygienemaßnahmen verhindern die Weiterverbreitung von MRE**

**Bsp. Konsensusempfehlung Baden-Württemberg: Umgang mit Patienten mit hochresistenten Enterobakterien inklusive ESBL-Bildnern**



**Vielen Dank für die Aufmerksamkeit!**



**RKI Wernigerode**

**Prof. Dr. Wolfgang Witte**

Sibylle M.-Bertling

Christine Günther

Dr. habil. Guido Werner

Dr. B. Strommenger

Dr. F. Layer

Dr. habil. G. Wilharm

Dr. L. Poirel (Paris)

Dr. P. Higgins (Köln)



ROBERT KOCH INSTITUT



Bundesministerium  
für Gesundheit

**Herzlichen Dank an alle Einsender!**

[pfeifery@rki.de](mailto:pfeifery@rki.de)