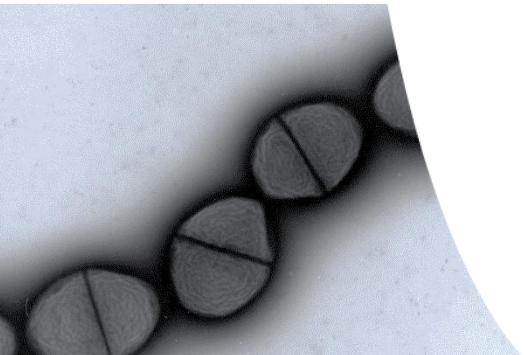


ROBERT KOCH INSTITUT

E. coli ST131 und sein Erfolg

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

Bad Honnef-Symposium 2014
Update Antibiotika-Resistenzen: Erkennen, Bewerten, Handeln
Königswinter, 14.-15. April 2014

Resistenzdichte – multiresistente Erreger (MRE)

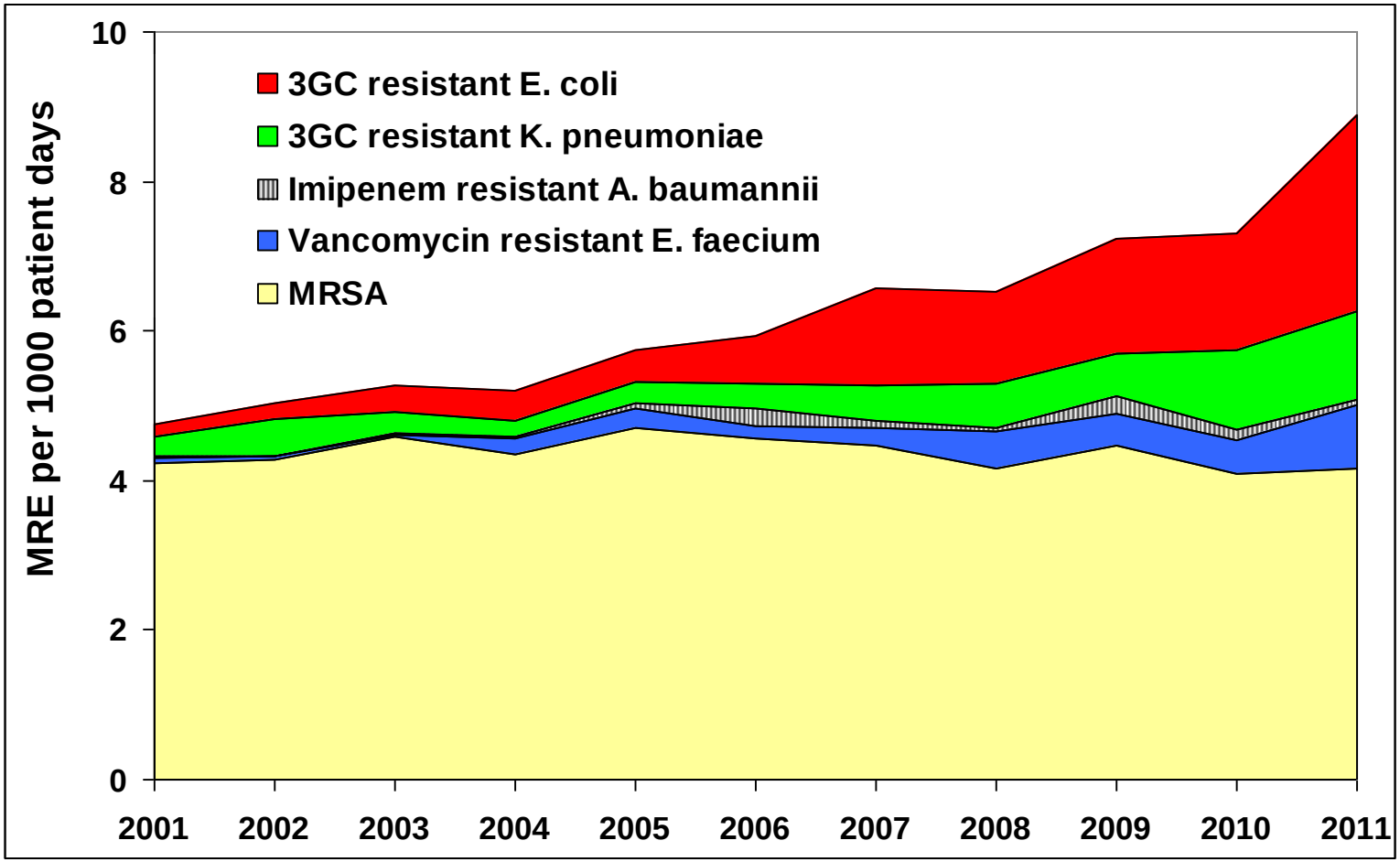


Abbildung: Charité Universitätsmedizin Berlin, Frau Dr. Meyer (SARI)

http://sari.eu-burden.info/

Antibiotika Resistenz Surveillance Germany - ARS

https://ars.rki.de

Antibiotika Resistenz Surveillance

Krankenhäuser (Alle Stationen)

E. coli	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2012	9411	**11,6**	81433
Jahr 2011	5678	**9,9**	57618
Jahr 2010	4703	**9,4**	50067
Jahr 2009	3310	**8,1**	41008
Jahr 2008	1854	**6,9**	26666

E. coli	Ceftazidim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2012	8635	**12,0**	71980
Jahr 2011	5528	**12,2**	45211
Jahr 2010	4549	**11,6**	39295
Jahr 2009	3141	**9,9**	31694
Jahr 2008	1853	**7,0**	26596

Ambulanzen/Arztpraxen

E. coli	Cefotaxim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2012	3613	**6,5**	55378
Jahr 2011	2541	**5,1**	50141
Jahr 2010	1816	**4,4**	41392
Jahr 2009	1259	**3,8**	33325
Jahr 2008	922	**3,0**	30811

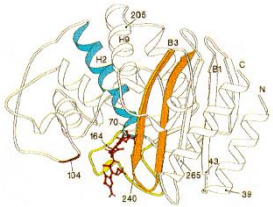
E. coli	Ceftazidim-resistent		Total
	n	%	n
Jahr 2012	4038	**6,3**	63858
Jahr 2011	2686	**5,3**	50236
Jahr 2010	1935	**4,7**	40938
Jahr 2009	1326	**4,0**	32925
Jahr 2008	909	**3,0**	30565

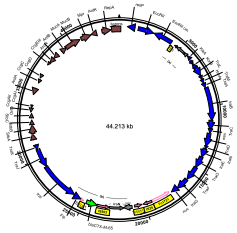
β-Laktamasen und *E. coli*

- **Definition** β-Laktam-hydrolysierende Enzyme, z.B. *E. coli* AmpC-β-Laktamase

- **Ursprung** → Ab 1965: Nachweis einfacher β-Laktamasen (Penicillinasen)

  TEM-1 , SHV-1





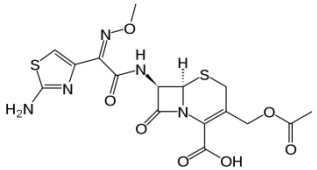
→ Ab 1983: Nachweis von Cephalosporinasen

Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL)

> 90 TEM-ESBL, > 50 SHV-ESBL

> 100 CTX-M-ESBL

Weitere ESBL: PER, GES, VEB, OXA



- **ESBL-Phänotyp**

Resistenz gegen Aminoacylpenicilline (Ampicillin)

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

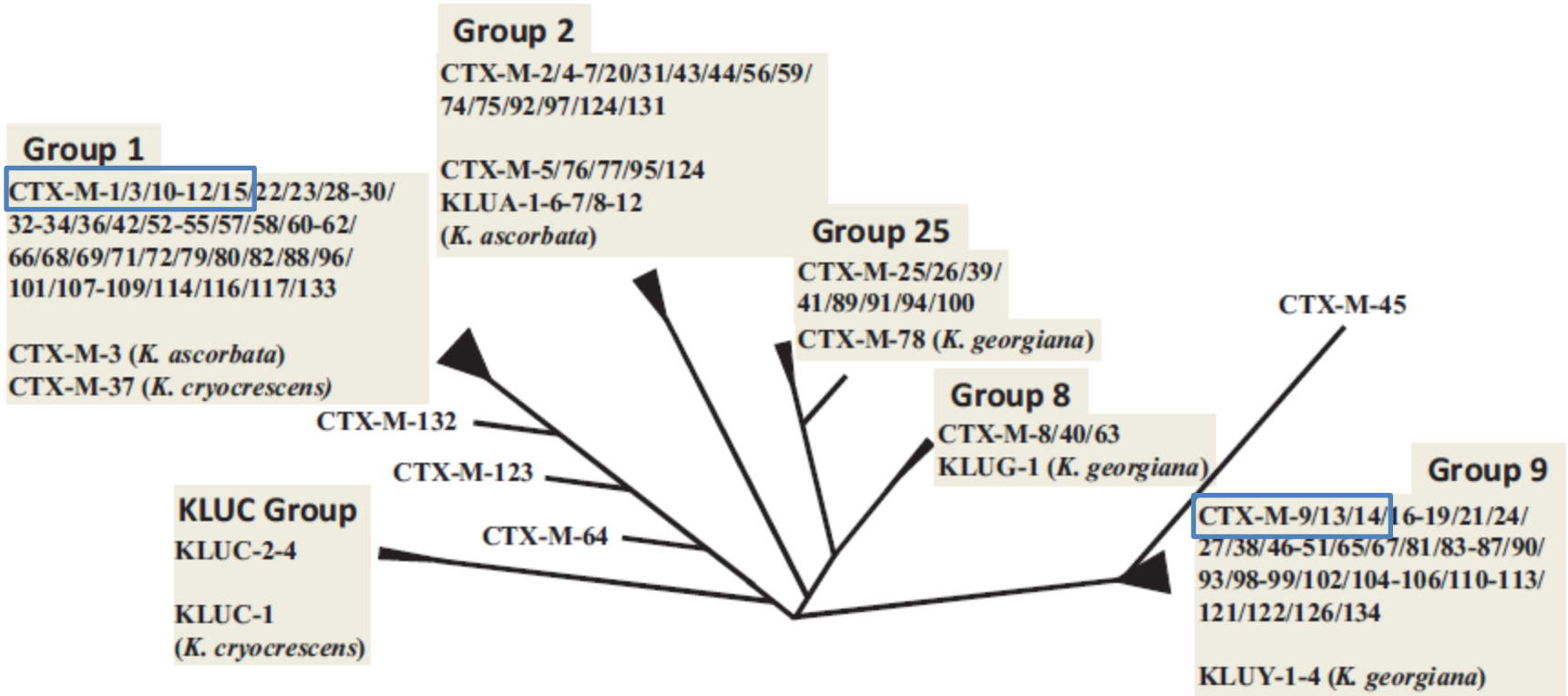
Monobactame (Aztreonam)

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

ESBL-Inhibitoren: Clavulansäure, Sulbactam, Tazobactam

CTX-M-Typ ESBL

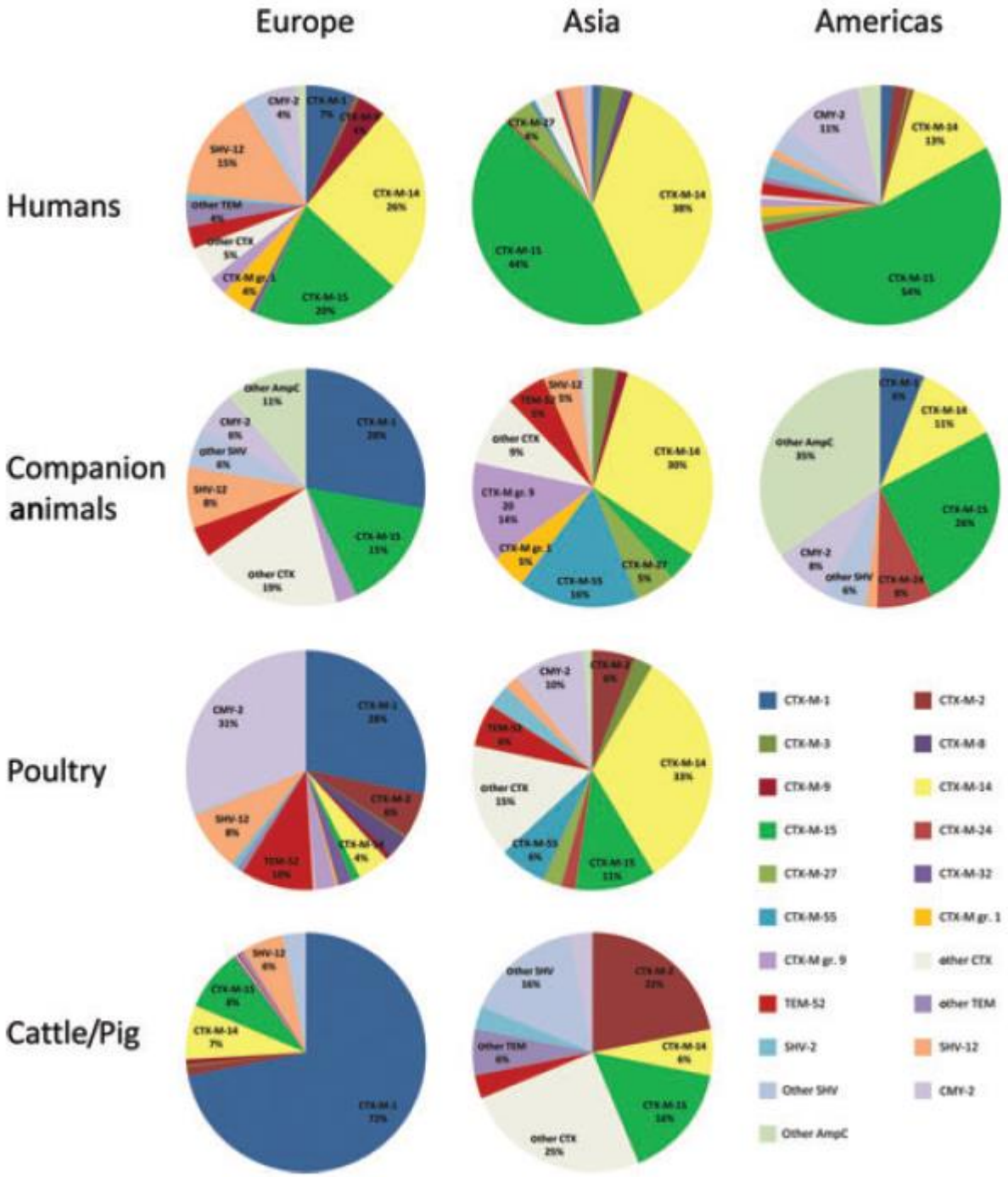
M.M. D'Andrea et al. / International Journal of Medical Microbiology 303 (2013) 305–317



- **Vorkommen Deutschland** > 90% der 3. Gen Cephalosporin-resistenten *E. coli* bilden CTX-M-Typ ESBL:

  Anteil CTX-M-15 → 30-50 %
  Anteil CTX-M-1 → 20-40 %
  Anteil CTX-M-14 → 5-15 %

  } Unterschiede bedingt durch Studiendesign, weltweit regionale Unterschiede



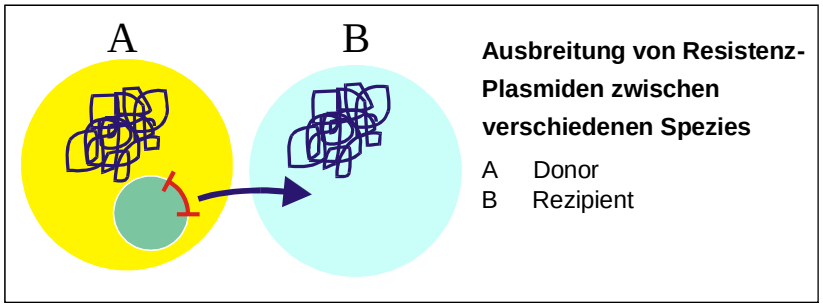
Extended-spectrum b-lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective

Ewers C., *et al.* 2012

- CTX-M-15
- CTX-M-1
- CTX-M-14

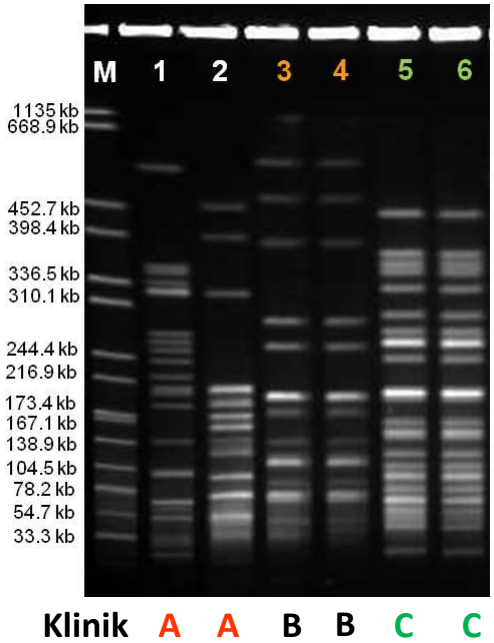
E. coli Verbreitungstrategien

Verbreitung des Resistenzgens – Horizontaler Gentransfer (HGT)



Lage der CTX-M-Gene innerhalb von Transposons (Tn*3*) mit vorgeschalteten Insertionssequenzen (IS*Ecp1*) auf konjugativen Plasmiden (IncFII, IncI1, IncN)

Klonale Verbreitung



DNA-Makrorestriktion+Pulsfeld-Gelektrophorese (PFGE)

Unterscheidung Ausbruchsisolat/Nicht-Ausbruchsisolat

Sehr gute Auflösung durch Verbreitung vieler verschiedener - hier z.B. CTX-M-15 bildender - *E. coli* Stämme (Polyklonalität)

E. coli Verwandtschaftsanalyse

- **MLST: Multi-Locus-Sequence-Typing** – Sequenzvergleich von 7 „Haushalts“Genen

adk (adenylate kinase)
fumC (fumarate hydratase)
gyrB (DNA gyrase)
icd (isocitrate/isopropylmalate dehydrogenase)
mdh (malate dehydrogenase)
purA (adenylosuccinate dehydrogenase)
recA (ATP/GTP binding motif)

http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli

MLST Databases at the ERI, University College Cork

dinB (DNA polymerase)
icdA (isocitrate dehydrogenase)
pabB(p-aminobenzoate synthase)
polB (polymerase PolII)
putP (proline permease)
trpA (tryptophan synthase subunit A)
trpB (tryptophan synthase subunit B)
uidA (beta-glucuronidase)

http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/primers_Ecoli.htm

Strain	adk	fumC	gyrB	icd	mdh	purA	recA	ST	Host Type	Host Species	Country	Source Lab
055/89	4	2	2	4	4	4	4	1	Human	Human	Germany	H. Karch
2162	4	2	2	4	4	4	4	1	Animal	Pig	Hungary	B. Nagy
107-11	5	3	2	6	5	5	4	2	Human	Human	Germany	H. Karch

Identifikation von Klonen (Sequenztyp=ST) sowie klonalen Linien/Komplexen

Vergleich von *E. coli* Isolaten weltweit möglich

Tartof SY *et al.*, 2005
Wirth, T *et al.* 2006

E. coli ST131

- **2008: „Intercontinental Emergence of *E. coli* clone ST131“**

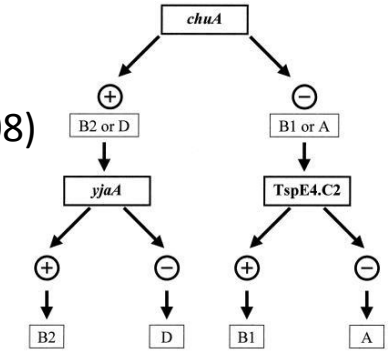
Strain	adk	fumC	gyrB	icd	mdh	purA	recA	**ST**
E. coli	53	40	47	13	36	28	29	**131**

Nicolas-Chanoine MH *et al.*, 2008
Coque TM *et al.*, 2008

- ***E. coli* ST131 Eigenschaften:**

ESBL(CTX-M-15)-Bildung
Serotyp: **O25b:H4**
Phylogenetische Gruppe **B2** → Clermont O. *et al.*, 2000

Virulenzfaktoren: Virotypes A-D (Blanco J *et al.*, 2013)
AmpC-Typ Laktamase (EC6) (Nicolas-Chanoine MH *et al.*, 2008)
Co-Resistenz Ciprofloxacin > 80% (Petty NK *et al.*, 2014)
„Community-associated“ (Rogers BA et al. 2011)

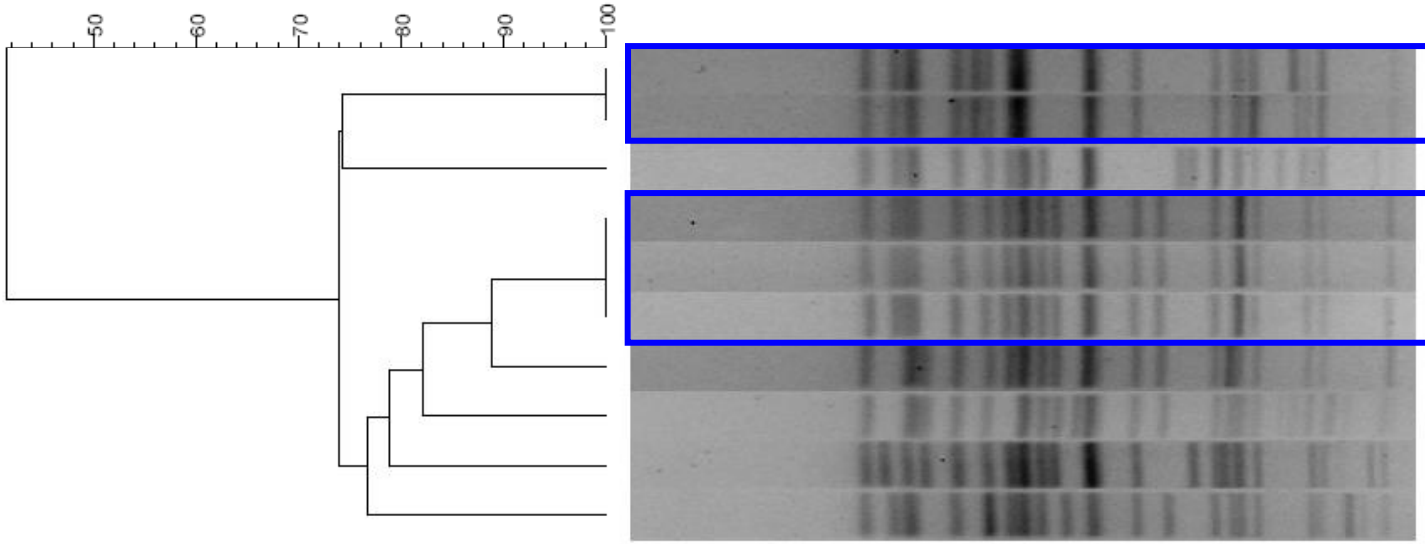


- Bis heute ca. 300 Publikationen zu *E. coli* ST131 (PubMed)

Beispiel: *E. coli* ST131 (Deutschland)

- **2006: 22 ESBL-*E. coli* (59% aus Urin) aus einem Krankenhaus**

Makrorestriktionsanalyse (PFGE)
Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST)
Phylogenetische Gruppe (PG)



ESBL	ST	PG
CTX-M-15	131	B2
CTX-M-15	131	B2
CTX-M-15	131	B2
CTX-M-1	131	B2
CTX-M-1	131	B2
CTX-M-1	131	B2
CTX-M-15	131	B2
CTX-M-65	131	B2
CTX-M-15	131	B2
CTX-M-15	131	B2

Dice (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

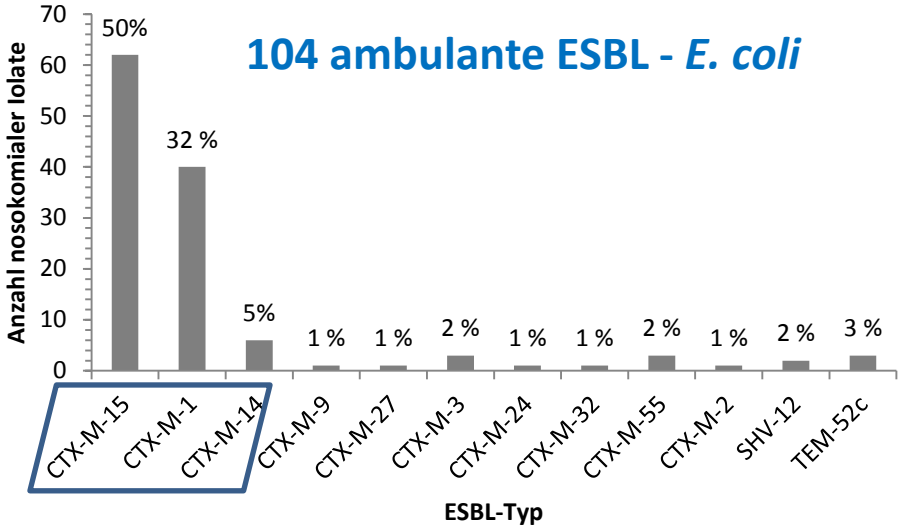
- **Studien Deutschland:** ***E. coli* mit CTX-M-15: 50-60%**

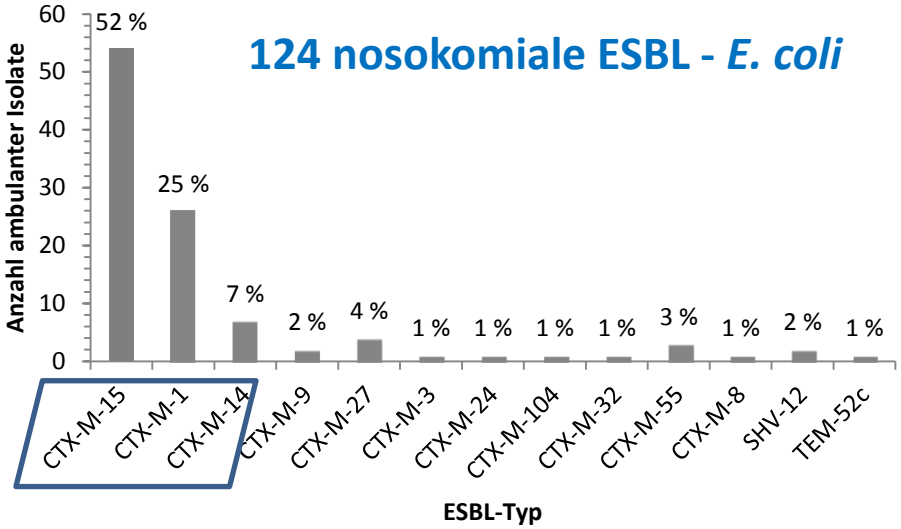
  ***E. coli* ST131 mit CTX-M-(15): 25-45%**

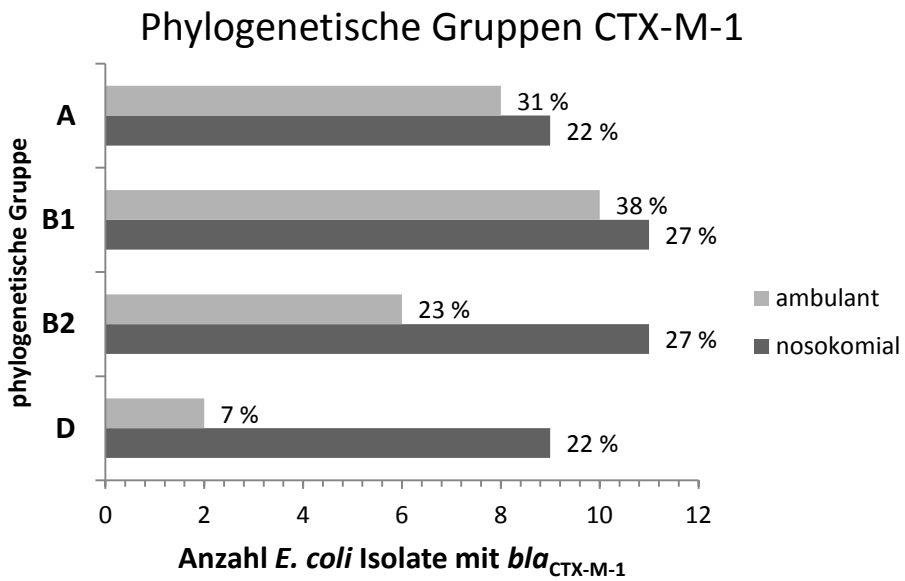
Cullik A. *et al*. 2010

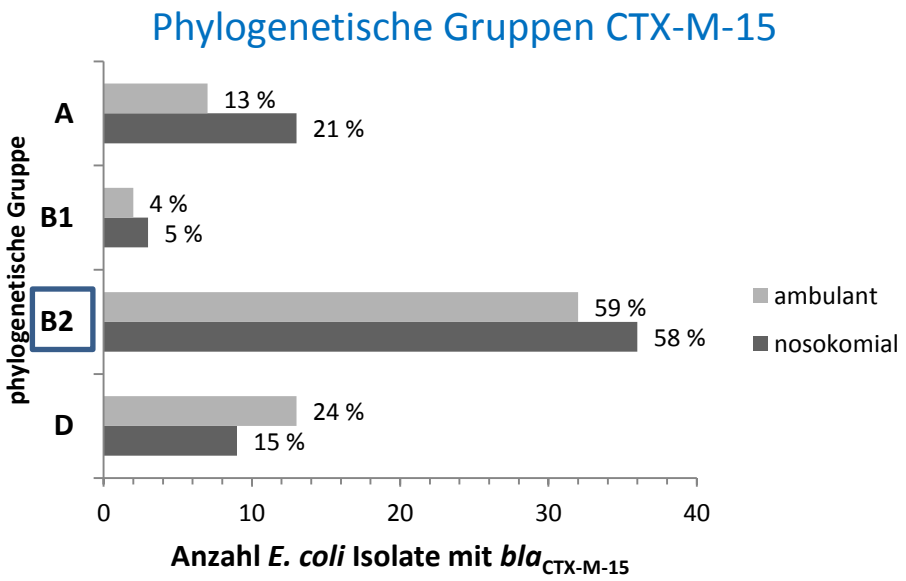
Arvand M. A. *et al*. 2013

ESBL-*E. coli* der Limbach Laborstudie





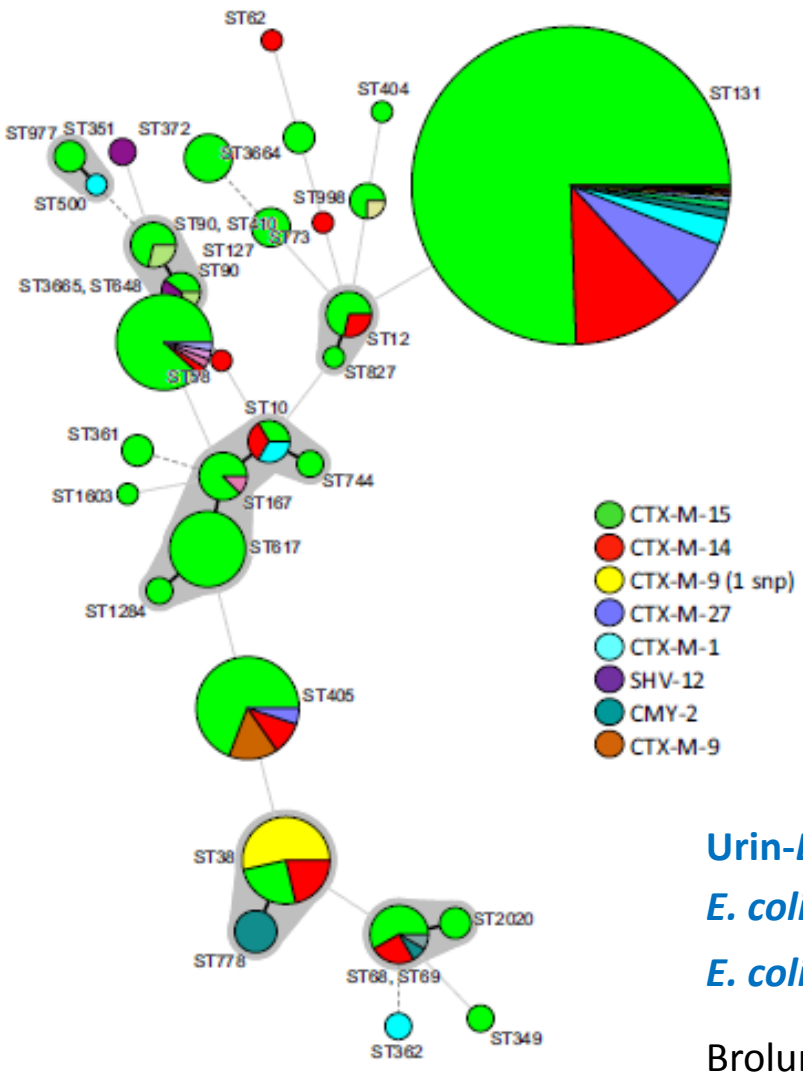




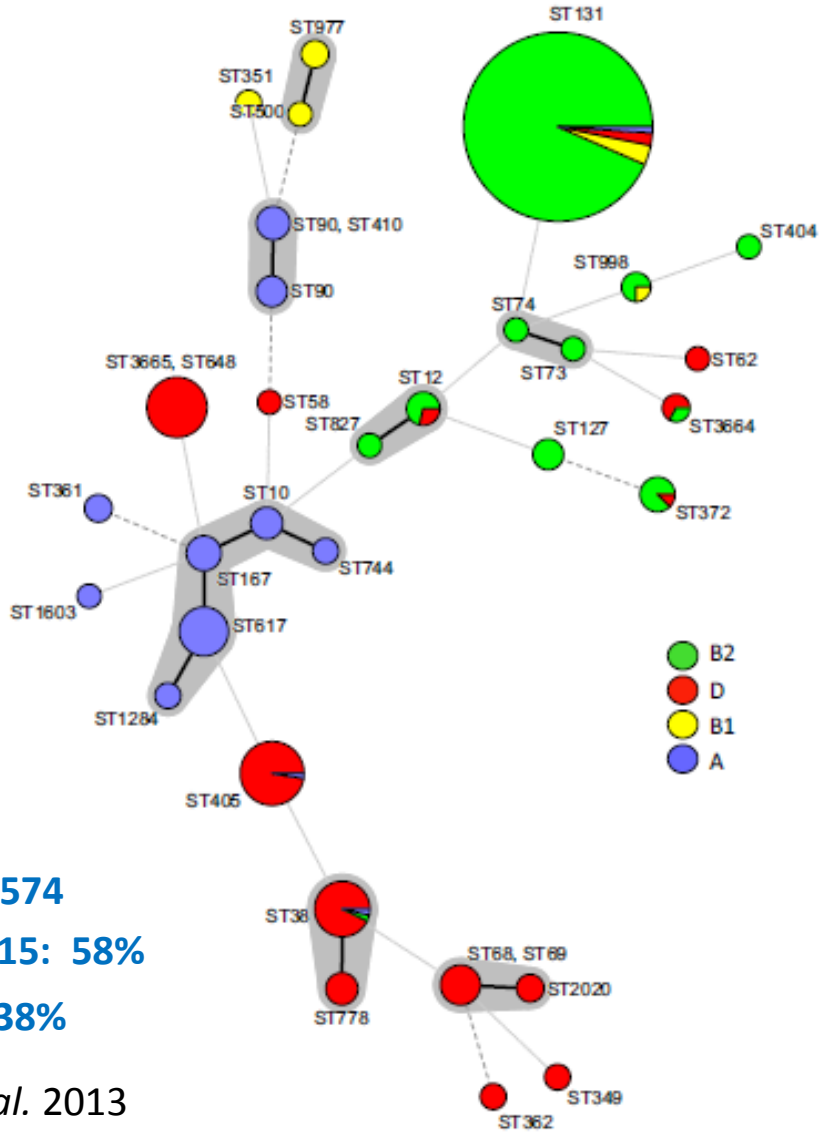
Pfeifer, Eller *et al.* BGBL 55/2012; HygMed 38/2013

Beispiel: *E. coli* ST131 (Schweden)

(a) Minimal-spanning tree (MST) describing ESBL-genotypes in association to ST-type.



(c) MST illustrating phylogenetic groups amongst STs.



Urin-*E. coli* n=574

***E. coli* CTX-M-15: 58%**

***E. coli* ST131: 38%**

Brolund A. *et al.* 2013

Molekulare Diagnostik/Epidemiologie: *E. coli* ST131

ST131 *E. coli*

- **CTX-M-15-**Bildung → **> 75 %**
- Serotyp: **O25b:H4** → **> 95 %**
- Phylogenetische Gruppe **B2** → **> 95 %**

presence $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$ → Pfeifer Y. *et al.* 2009 (PCR/Sequenzierung)

presence B2 group → Clermont O. *et al.* 2000 (PCR)

presence of the *rfbO25b* gene → Clermont O. *et al.* 2008; Blanco M., *et al.* 2009 (PCR)

Novais A. *et al.* 2014:
MALDI-TOF mass spectrometry as a tool for the discrimination of high-risk Escherichia coli clones from phylogenetic groups B2 (ST131) and D (ST69, ST405, ST393)

- **ST131 *E. coli* Ganzgenom-Sequenzierung:**

„highly pathogenic subclone *H30*-RX22“ mit CTX-M-15 (plasmidal/chromosomal)
Price LB *et al.*, 2013

„three ST131 sublineages with different profiles of fluoroquinolone resistance, virulence factors and MGEs“ and independent CTX-M-15 acquisition
Petty NK *et al.*, 2014

E. coli ST131 Reservoir

Rogers BA *et al.*, 2011

- **Mensch:**

  Weltweit nachgewiesen als Erreger von Harnwegs- und Blutstrominfektionen sowie Infektionen verschiedener Organe bei Menschen aller Altersgruppen

  Nachweis als Infektionserreger und Besiedlungskeim in Krankenhaus, Ambulanz, Pflegeheimen, Allgemeinbevölkerung

  Risiko des Erwerbs von *E. coli* ST131 nach Reisen in Länder mit hoher ESBL-*E. coli* Prävalenz noch weitgehend unbekannt

- **Tier:**

  ST131- *E. coli* Einzelnachweise bei Haustieren (Hund, Katze, Pferd) und Wildtieren (Möwe, Ratte)

  In Nutztieren (Schwein, Geflügel) und tier. Lebensmitteln niedrige ST131-*E. coli* Prävalenz (1-5%)

E. coli ST131 Virulenz

Property/gene	Number (%) of ST131 isolates			
	O25b:H4 CTX-M-15 (*n*=8)	O25b:H4 CTX-M-27 (*n*=3)	O16:H5 CTX-M-1 (*n*=1)	Total (*n*=12)
Adhesins				
fimH	8	3	1	12 (100)
allele 30	8	3	0	
allele 41	0	0	1	
$fimAv_{MT78}$	0	0	0	0
F10 *papA*	8	3	1	12 (100)
papEF	0	0	0	0
sfa/focDE	0	0	0	0
afa/draBC	8	0	1	9 (75)
afaFM955459[a]	8	0	0	8 (67)
bmaE	0	0	0	0
gafD	0	0	0	0
Toxins				
cnf1	0	0	0	0
cdtB	0	0	0	0
sat[a]	8	3	1	12 (100)
hlyA	0	0	0	0
Siderophores				
iucD	8	3	1	12 (100)
iroN[a]	0	0	0	0
chuA	8	3	1	12 (100)
Capsules				
kpsM II	8	3	1	12 (100)
kpsM II-K2	7	0	1	8 (67)
kpsM II-K5	1	3	0	4 (33)
neuC-K1	0	0	0	0
kpsM III	0	0	0	0

Property/gene	Number (%) of ST131 isolates			
	O25b:H4 CTX-M-15 (*n*=8)	O25b:H4 CTX-M-27 (*n*=3)	O16:H5 CTX-M-1 (*n*=1)	Total (*n*=12)
Miscellaneous				
cvaC	0	0	0	0
iss	0	0	0	0
traT	8	3	1	12 (100)
ibeA[a]	0	0	0	0
malX (PAI)	8	3	1	12 (100)
usp	8	3	1	12 (100)
tsh	0	0	0	0
Virotypes				
A	8	0	0	8 (67)
C	0	3	1	4 (33)

[a]Genes allowing for virotype differentiation. PAI, pathogenicity island.

Blanc V *et al.*, 2014

E. coli ST131 Virulenz

- **Definition von „Virotypes“:**

Virotype	*afa*FM955459	*iro*N	*ibe*A	*sat*
A	+	-	-	+/-
B	-	+	-	+/-
C	-	-	-	+
D	-	+/-	+	+/-

ST131- *E. coli* weisen verschiedene Kombinationen von Virulenzfaktoren auf, die zu Virotypen zusammengefasst werden

Epidemiologische Gruppierung und Abgrenzung zu non-ST131-*E. coli* möglich

Blanco J *et al.*, 2013
Mora A. *et al*. 2014

- **Wie virulent ist *E. coli* ST131 ?**

Beispiel Maus-Sepsis-Modell: Mora A. *et al*. 2014
höhere Lethalität bei ST131- *E. coli* im Vergleich zu non-ST131-*E. coli*
(Menge an Virulenzgenen nicht relevant; bisher unklar welche wichtig sind)

Beispiel Modell Zebrafisch/C.elegans: Lavigne JP *et al.* 2012
keine Korrelation von erhöhter Virulenz von ST131-*E. coli* im Vergleich zu non-ST131-*E. coli* B2 (mit/ohne CTX-M) aber gleiche Fähigkeit zur Persistenz wie non-non-ST131-*E. coli* B2

Zusammenfassung

- **Alle *E. coli* ST131** gehen auf einen gemeinsamen Vorläufer zurück:

Derzeit unterscheidet man **3 geografisch weit verbreitete ST131-Linien** mit Unterschieden im Virulenzfaktor- und MGE-Profil sowie Fluorchinolonresistenz, alle Linien haben ESBL (CTX-M-15)-Gene zu verschiedenen Zeitpunkten erworben

- Allgemein übereinstimmende Eigenschaften von ***E. coli* ST131** sind CTX-M-15-ESBL, Phylogenetische Gruppe B2, Serotyp O25b:H4, Ciprofloxacin-Resistenz und bestimmte Kombinationen von verschiedensten Virulenzfaktoren (Virotypes)
- **ESBL-bildende *E. coli* ST131** sind weltweit weitverbreitet beim Menschen (20-50% aller ESBL-*E. coli*).
- **ESBL-bildende *E. coli* ST131** finden sich dagegen selten (1-5%) beim Tier (Nutztier /Haustier) und Lebensmittel; dort sind dagegen sind CTX-M-1-*E. coli* anderer STs sehr häufig.
- Eine erhöhte **Virulenz von *E. coli* ST131** gegenüber non-ST131-*E. coli* ist wahrscheinlich; bisher ist aber unklar welche Faktoren hierbei genau eine Rolle spielen
- Das Zusammenspiel von Virulenz, Persistenz und Selektion durch Resistenz in ***E. coli* ST131** bedarf intensiver Forschung

Vielen Dank

RKI FG13: Arbeitsgruppe Enterobacteriaceae and Nonfermenter

Christoph Eller, Sibylle Müller-Bertling, Christine Günther

RKI FG13: Nationales Referenzzentrum Staphylokokken (MRSA) / Enterokokken

Guido Werner, Ullrich Nübel, Franziska Layer, Birgit Strommenger

Robert Koch Institut Berlin

Prof. Dr. Martin Mielke

Dr. Tim Eckmanns

RESET

Bundesministerium für Gesundheit

pfeifery@rki.de