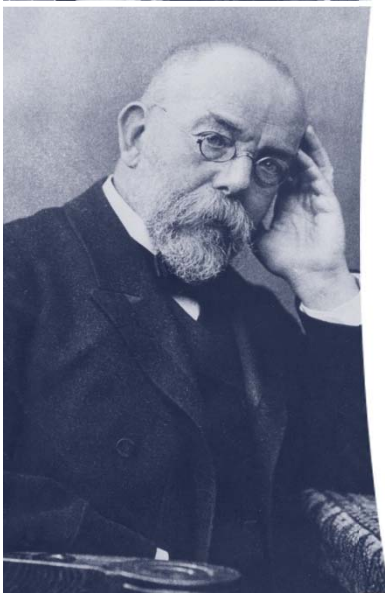




ROBERT KOCH INSTITUT



Übertragbare Linezolid-resistenz *cfr*

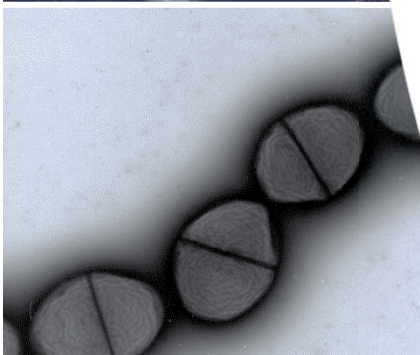
**Franziska Layer, Jennifer Bender, Birgit Strommenger,
Christiane Cuny, Ingo Klare, Guido Werner**

FG Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen

Abt. Infektionskrankheiten

Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode

30.03.15, BHS, Königswinter







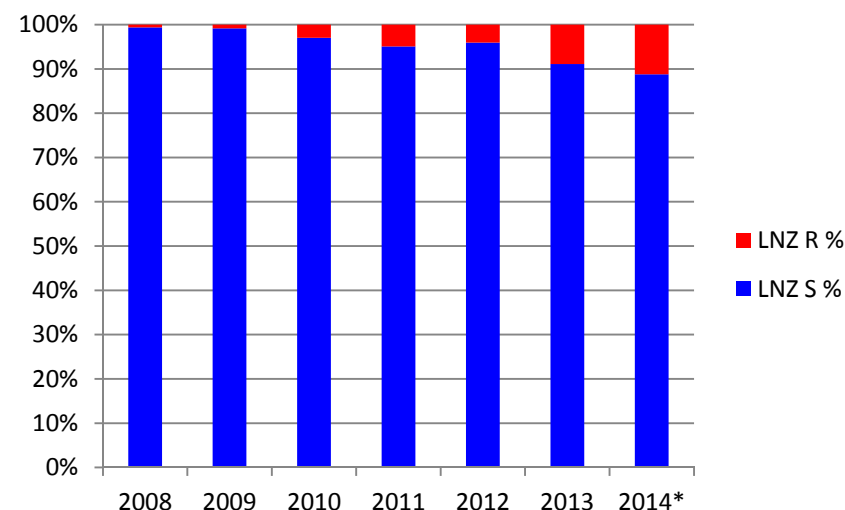
Linezolidresistenz in Einsendungen an das NRZ

MRSA

Antibiotikum	2012 (%)	2013 (%)	2014 (%)
Ciprofloxacin	86,6	81,8	80,0
Moxifloxacin	86,1	80,8	79,3
Erythromycin	65,7	58,9	58,2
Clindamycin	58,8	50,6	50,3
Gentamicin	5,7	5,0	6,6
Tetracyclin	7,4	7,2	8,6
Rifampicin	1,4	0,8	1,5
Cotrimoxazol	0,5	0,4	0,8
Fusidinsäure-Natrium	3,5	4,0	4,7
Fosfomycin	0,4	0,2	0,5
Linezolid	0	0,1	0,03
Tigecyclin	0,13	0,04	0,23
Daptomycin	1,0	2,7	2,9
Mupirocin	6,7*	6,2*	I: 5,8/ R: 1,2
Vancomycin	0,2	0,04	0,03
Teicoplanin	0,3	0,3	0,13

E. faecium

	Resistent	%	Empfindlich	%	Gesamt
2014	74	9,4	714	90,6	788
2013	78	8,7	823	91,3	901
2012	39	4,0	933	96,0	972
2011	45	5,7	740	94,3	785
2010	10	3,0	327	97,0	337
2009	3	0,8	352	99,2	355
2008	2	0,6	321	99,4	323



Mehrzahl der Linezolid-R *E. faecium* sind Vancomycin-sensibel!

Verstärkte Einsendungen von LR-KNS (MRSE)

Linezolidresistenz durch *cfr* in Staphylokokken

- Vorkommen in *S.aureus*, *S. epidermidis*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. cohnii*, *S. arlettae*, *S. rostri*, *S. haemolyticus*, *S. simulans*,[1]
- Verbreitet auch in anderen Bakterien vom Tier/Lebensmittel:
E. coli, *Streptococcus suis*, *Bacillus*, *Micrococcus caseolyticus*, *Proteus vulgaris*, etc. [2]
- Stämme tragen häufig auch andere LNZ-Mutationen (23S rDNS, rplC/D)
- Bestimmte Plasmidtypen und –subtypen, z.B.
 - pSCFS1* (Abb.) [3]
 - pSS-01 bis pSS-04 [1,4]
- z.T. konjugativ; mobiles *cfr* Element (z.B. IS256 / ISEnfa)

 Vergleich der genetischen Elemente

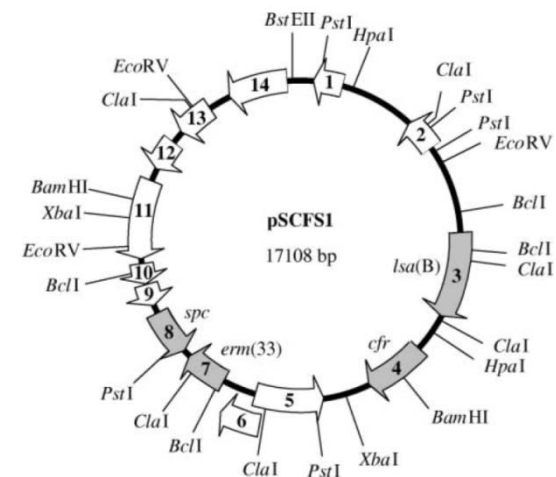


Figure 1. Circular map of plasmid pSCFS1. The reading frames are numbered with reference to Table 1; grey-shaded reading frames are involved in antimicrobial resistance.

Linezolid-resistente *S. epidermidis* in Griechenland

- Ansteigende Zahlen von LRSE zwischen 2011 – 2013 (6 Krankenhäuser)
- Einzelne LRSE zeigen „Linezolid-Abhängigkeit“
- Assoziiert mit bestimmten „Epidemieklonen“ (ST22)

Table 1. Resistance rates to linezolid among *S. epidermidis* isolates in the study hospitals

Hospital	Number of linezolid-resistant <i>S. epidermidis</i> isolates (%)					
	2011		2012		2013	
	ICU	non-ICU	ICU	non-ICU	ICU	non-ICU
1	46 (23.9)	78 (6.4)	59 (27.1)	58 (12.2)	49 (32.6)	59 (8.5)
2	121 (8.3)	430 (2.1)	128 (20.3)	437 (3.0)	155 (18.7)	535 (2.1)
3	200 (3.0)	411 (1.7)	183 (18.6)	465 (2.6)	169 (18.9)	502 (1.6)
4	51 (35.3)	571 (6.7)	33 (18.1)	501 (9.4)	38 (31.7)	312 (9.6)
5	134 (17.9)	78 (1.3)	140 (12.2)	109 (0.9)	156 (16.7)	158 (4.4)
6	182 (23.1)	302 (3)	234 (24.0)	380 (4.0)	186 (22.6)	317 (6.0)
Total	734 (15.1)	1870 (3.7)	777 (20.0)	1950 (4.9)	753 (20.9)	1883 (4.2)



Linezolid-resistente *Staphylococcus epidermidis*



NRZ 2012

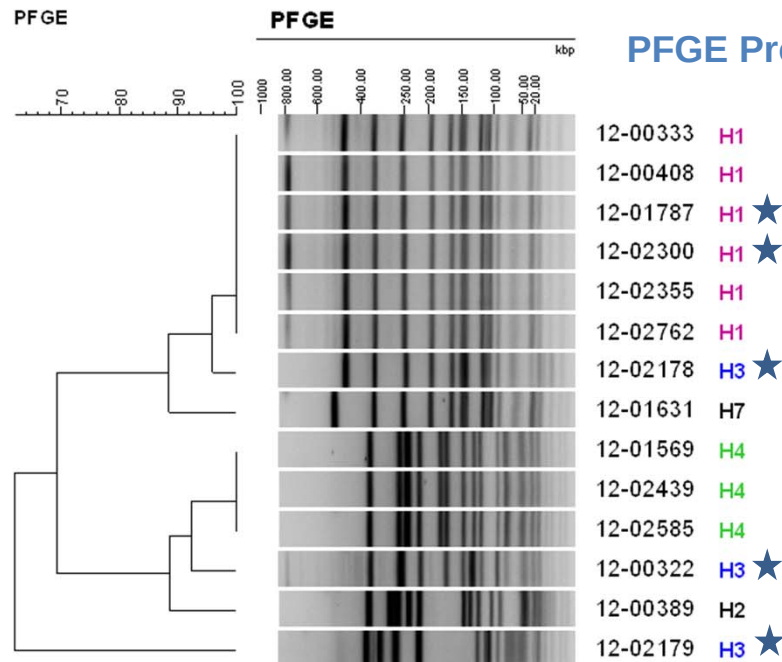
24 multiresistente *S. epidermidis* aus 6 KH (Ausbrüche in 3 KH vermutet)

PEN, OXA, GEN, ERY, CLI, TET, CIP, SXT, RAM, FUS, MUP, LNZ, MFL, OxaSu

6 Isolate **cfr-positiv**

Linezolid-resistente *Staphylococcus epidermidis*

No.	Mutations in			
	23SrRNA V region	<i>rplC</i> (L3)	<i>rplD</i> (L4)	<i>rplV</i> (L22)
12-00333	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	wildtype	wildtype
12-00408	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	wildtype	wildtype
12-01787	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	Pos 138 His Insertion (ACC)	wildtype
12-02300	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	Pos 138 His Insertion (ACC)	wildtype
12-02355	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	Pos 138 His Insertion (ACC)	wildtype
12-02762	C2161T; G2576T	C301G / Leu101Val	wildtype	wildtype
12-00389	C2161T	C301G / Leu101Val; T438G / His146Gln; C456T / -; G460T / Val154Leu; G469A, C470G / Ala157Arg	wildtype	A138G / -; C141T / -; G166A / -
12-00322	C2161T	C301G / Leu101Val; C456T / -; G469A, C470G / Ala157Arg	wildtype	A138G / -; C141T / -; G166A / -
12-02178	C2161T	C301G / Leu101Val	wildtype	wildtype
12-02179	C2161T	C301G / Leu101Val; C456T / -	T150C / -; A383 / Glu128Ala; A521G / Gln174Arg; G545A / Arg182Gln	A138G / -; C141T / -; G166A / -
12-01569	C2161T; T2502A; C2532T	C301G / Leu101Val; G455A, C456T / Gly152Asp; A474T / -; G475T / Asp159Tyr	T150C / -; A383 / Glu128Ala; A521G / Gln174Arg; G545A / Arg182Gln	A138G / -; C141T / -; G166A / -
12-02585	C2161T; T2502A; C2532T	C301G / Leu101Val; G455A, C456T / Gly152Asp; A474T / -; G475T / Asp159Tyr	T150C / -; A383 / Glu128Ala; A521G / Gln174Arg; G545A / Arg182Gln	A138G / -; C141T / -; G166A / -



PFGE Profile (*Sma*-Restriktion)

■ in Krankenhäusern H1, H3 und H4 wurden Ausbrüche vermutet

■ H1: *cfr*-positive/-negative Isolate

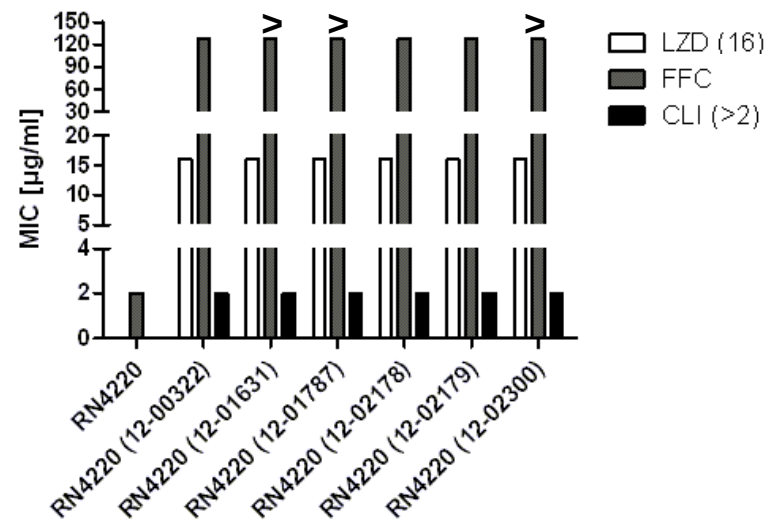
■ H3: versch. LRSE mit *cfr* Plasmid

★ *cfr*-positive

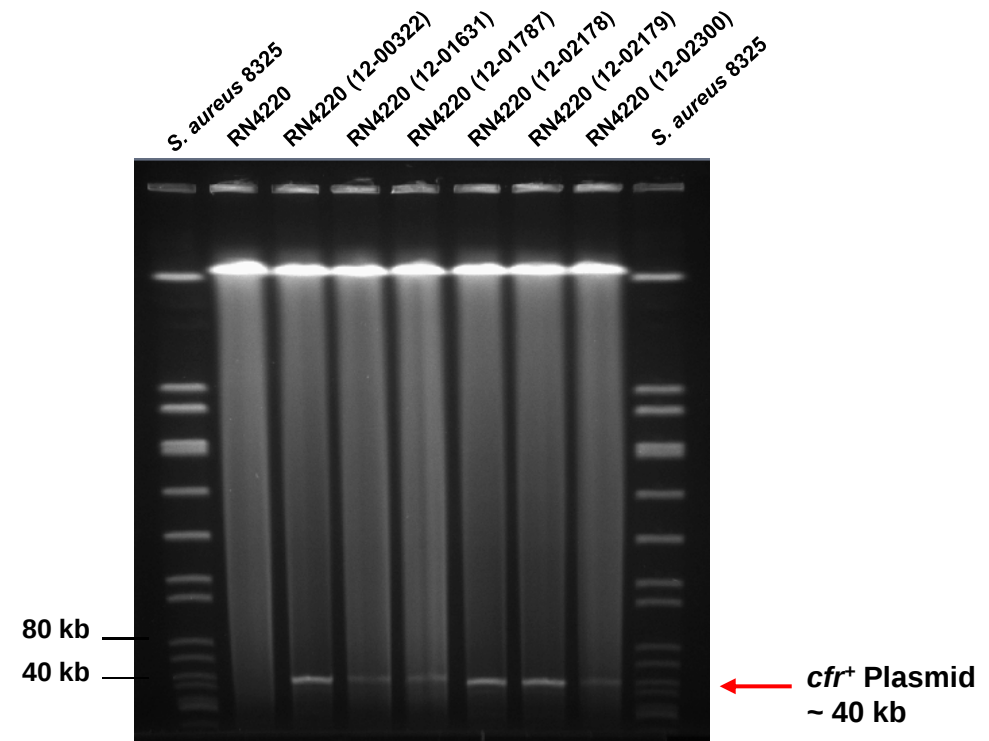


Analyse der *cfr* Plasmide

- Transfer der Plasmide in *S. aureus* RN4220

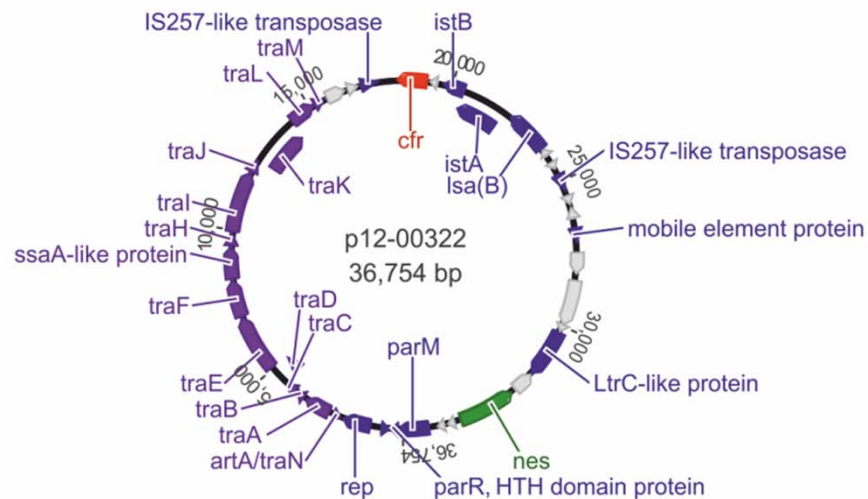


- S1 Nuclease-PFGE (+ Southern blot hybridisiert mit einer *cfr*-Sonde)



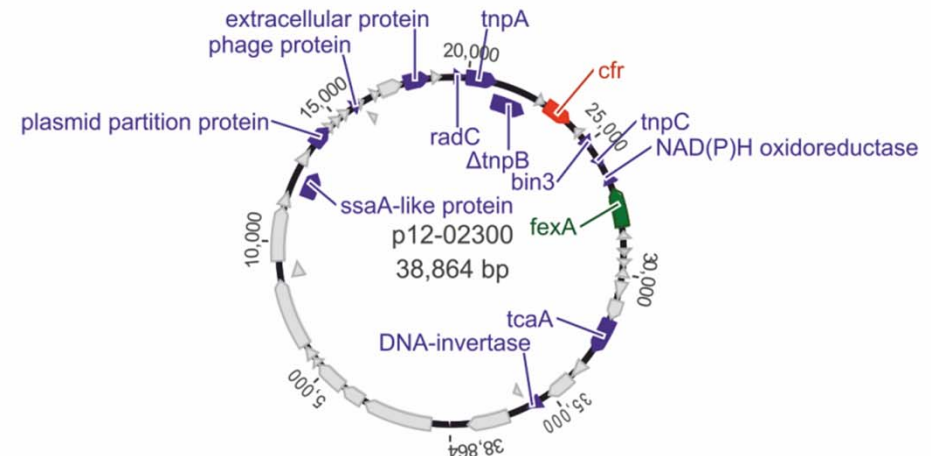
Bekannte und neue *cfr* Plasmide

pGO1-Typ (MUP, tra)



C1: p12-00322 of C1 shows *cfr* (red) framed by IS257-like transposases and a putative conjugation machinery (purple) and nickase gene *nes* (green) of vector pGO1.

Bekannte Struktur: *fexA-tnpC-cfr-tnpA*



C2: p12-02300 and homologs of C2 display *cfr* (red) and the additional phenicol exporter *fexA* (green) amongst mainly unknown open reading frames as defined by RAST (gray).

1 Krankenhaus

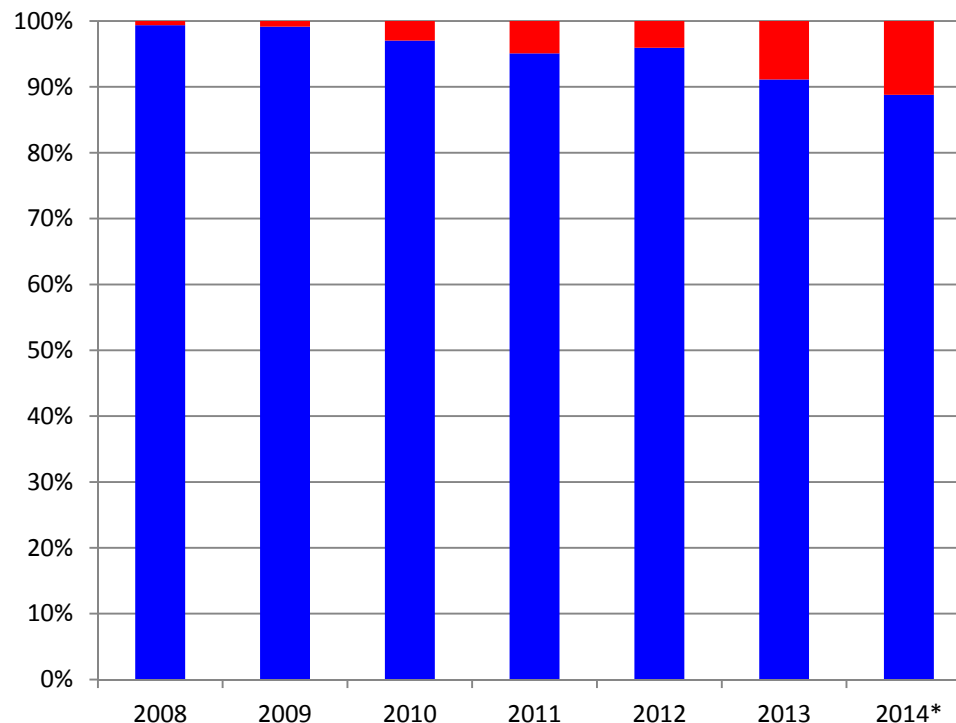
Mehrere Krankenhäuser



Linezolidresistenz in *E. faecium* (NRZ)

	Resistent	%	Empfindlich	%	Gesamt
2014	74	9,4	714	90,6	788
2013	78	8,7	823	91,3	901
2012	39	4,0	933	96,0	972
2011	45	5,7	740	94,3	785
2010	10	3,0	327	97,0	337
2009	3	0,8	352	99,2	355
2008	2	0,6	321	99,4	323

EUCAST breakpoints



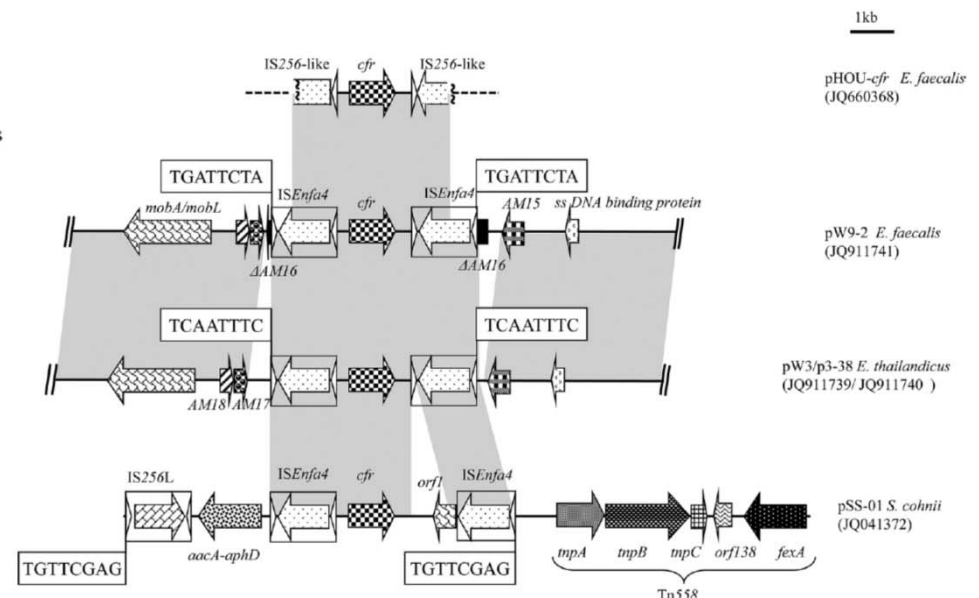
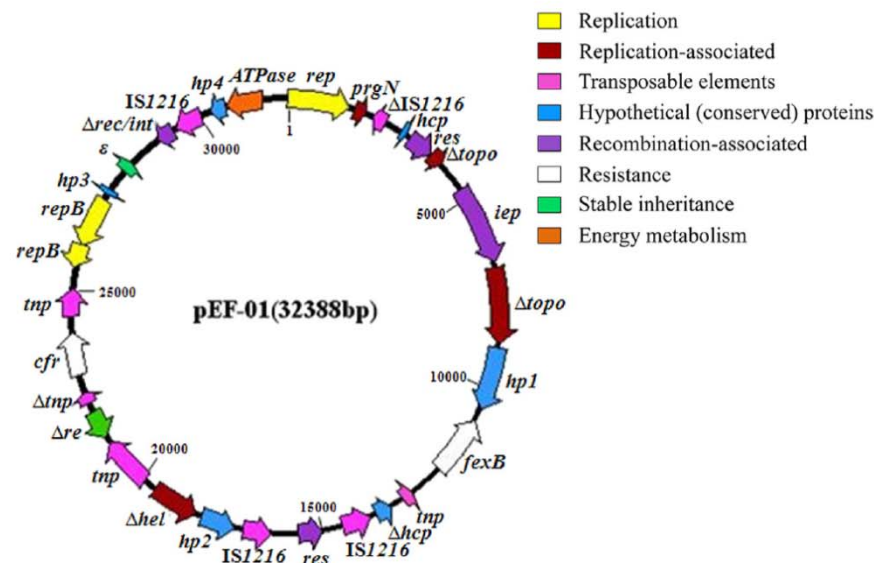
**Selektion stammspezifisch –
ribosomale Mutationen**

■ LNZ R %
 ■ LNZ S %

**Mehrzahl der LNZ-R *E. faecium*
sind Vanco-sensibel!**

cfr in Enterokokken

- in *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. thailandicus* (z.T. vom Tier) [1,2]
- Stämme tragen andere Linezolid-R Mutationen
- Ähnlichkeiten mit *cfr* Plasmiden von Staphylokokken (pSS-01) oder Plasmiden von *E. faecalis* (pAM β 1-Typ, pEF-01) [3,4]
- Molekulare Analysen belegen keinen Resistenzphänotyp von Cfr in *E. faecalis* [5]





cfr-positive Enterokokken – NRZ

Untersuchung Linezolid-resistenter *E. faecium* (n= 251)

- Hauptsächlich 23S rDNA Mutationen
- Wenige Mutationen/Insertionen in *rplC/rplD*
- **5 *cfr*-positive *E. faecium***



- *cfr* nur zu 70% identisch zu *cfr* aus KNS, aber zu 100% identisch zu *cfr* aus *C. difficile*
- *cfr* Tn6218, in bestimmte *C. difficile* chromosomal kodiert
- *cfr*-positive *C. difficile* zeigen erhöhte LNZ MHK
- Klonierung der *cfr*-Gene aus *C. difficile* und *E. faecium*
- Expression in Efm/Efs: Expression, aber KEINE Resistenzvermittlung

Fazit

Linezolidresistenz

- Surveillance Systeme zeigen keinen Trend bei Linezolidresistenz in Gram-positiven Erregern
- NRZ erkennt einen Anstieg an Einsendungen mit LNZ-resistenten KNS und *E.faecium*
- Isolate aus Häufungen in mehreren Kliniken (Ausbrüche)
- Häufungen von LNZ-resistenten Bakterien korrelieren mit verstärktem Einsatz von LNZ

cfr

- Übertragbare LNZ Resistenz *cfr* hat ihr Reservoir in KNS vom Tier/Nutztier
- weit verbreitet in verschiedenen Bakterien im Tier
- Transfer über verwandte Plasmide und mobile genetische Elemente
- NRZ: *cfr*-positive KNS aus Infektionen und Besiedlungen beim Menschen
 - Gefahr der Übertragung auf klinische *S. aureus*/MRSA, Enterokokken u.a.
- NRZ: *cfr*-positive *E. faecium* zeigen *cfr* aus *C. difficile* – vermittelt keine Resistenz in Enterok.

Dank

Stämme:

- Institute of Medical Microbiology, University Medical Centre Göttingen
- MVZ Labor Fenner und Kollegen, Hamburg
- MVZ Leverkusen, Köln
- Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Münster
- Kate Dingle, Department of Clinical Medicine, Oxford University, John Radcliffe Hospital, United Kingdom
- Alexander Mischnik, Nico T. Mutters, Universitätsklinikum Heidelberg
- u.v.a.m.

Labor NRZ:

- U. Geringer, C. Fleige, E. Baier, M. Henkel, F. Erdmann, B. Pasemann, P. Vilbrandt, C. Cuny