

In Fröhlichkeit  
den Menschen dienen



Allgemein öffentliches Krankenhaus  
Elisabethinen Linz



# CPE & Co

## Gramnegative Resistenzen erkennen

### Rainer Hartl

Nationales Referenzzentrum für  
nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz  
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Tropenmedizin  
Krankenhauses der Elisabethinen Linz



- **CPE: Carbapenemase produzierende Enterobakterien**
- **Sind erstmals 2010 im Rahmen der Ausbreitung von NDM-1 in GB in den Mittelpunkt des Interesses gerückt**
- **Als Konsequenz auf die zunehmende Verbreitung dieser Resistenzmechanismen, insbesondere von NDM-1, rief das BM für Gesundheit 2010 alle mikrobiologischen Labors auf, verdächtige Isolate an das NRZ (Nationales Referenzzentrum für Antibiotikaresistenzen) zu senden bzw. zu asservieren**
- **Aufgrund der stark eingeschränkten therapeutischen Optionen werden CPE auch von Seiten des ECDC hohe Aufmerksamkeit geschenkt**

- **Betalaktamasen: bakterielle Enzyme, die den Betalaktamring von Betalaktamantibiotika hydrolysieren können**
- **Klassifikation aufgrund zahlreicher Enzyme notwendig:**
  - Funktionelle Einteilung: **Bush-Jacoby-Medeiros** Klassifikation
  - Einteilung nach Struktur: **Ambler** Klassifikation

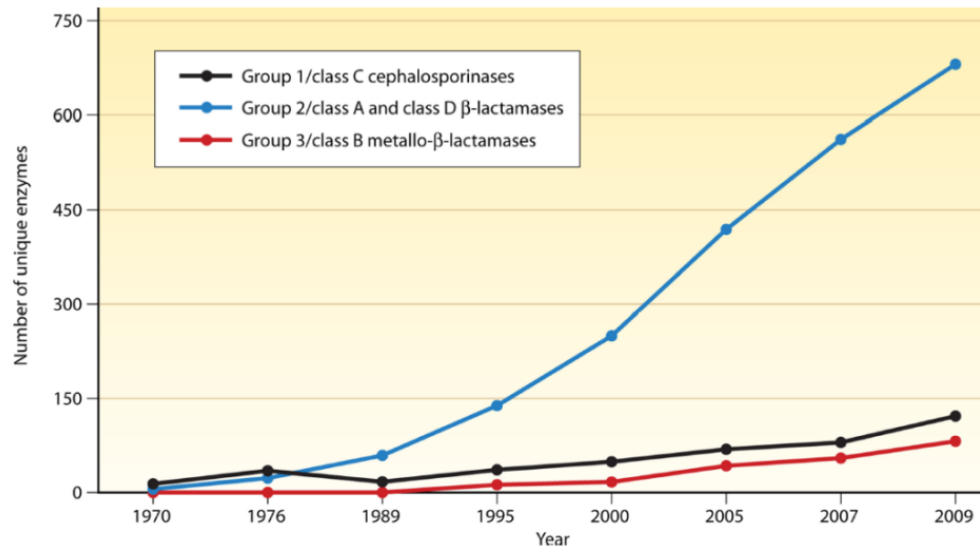


TABLE 1. Classification schemes for bacterial  $\beta$ -lactamases, expanded from Bush et al. (16)

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by		Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
				CA or TZB <sup>a</sup>	EDTA		
1	1	C	Cephalosporins	No	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI <sup>b</sup>	C	Cephalosporins	No	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxyimino- $\beta$ -lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	No	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PCI
2b	2b	A	Penicillins, early cephalosporins	Yes	No	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	Yes	No	Increased hydrolysis of oxyimino- $\beta$ -lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	No	Resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	No	No	Increased hydrolysis of oxyimino- $\beta$ -lactams combined with resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbenicillin	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbenicillin, cefepime	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin, cefepime, and cefpirome	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	No	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxyimino- $\beta$ -lactams	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapenems	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	Yes	No	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	No	Increased hydrolysis of carbapenems, oxyimino- $\beta$ -lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapenems	No	Yes	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapenems	No	Yes	Preferential hydrolysis of carbapenems	CphA, Sfh-1
NI	4	Unknown					

<sup>a</sup> CA, clavulanic acid; TZB, tazobactam.

<sup>b</sup> NI, not included.

- **Betalaktamasen, die Carbapeneme hydrolysieren**

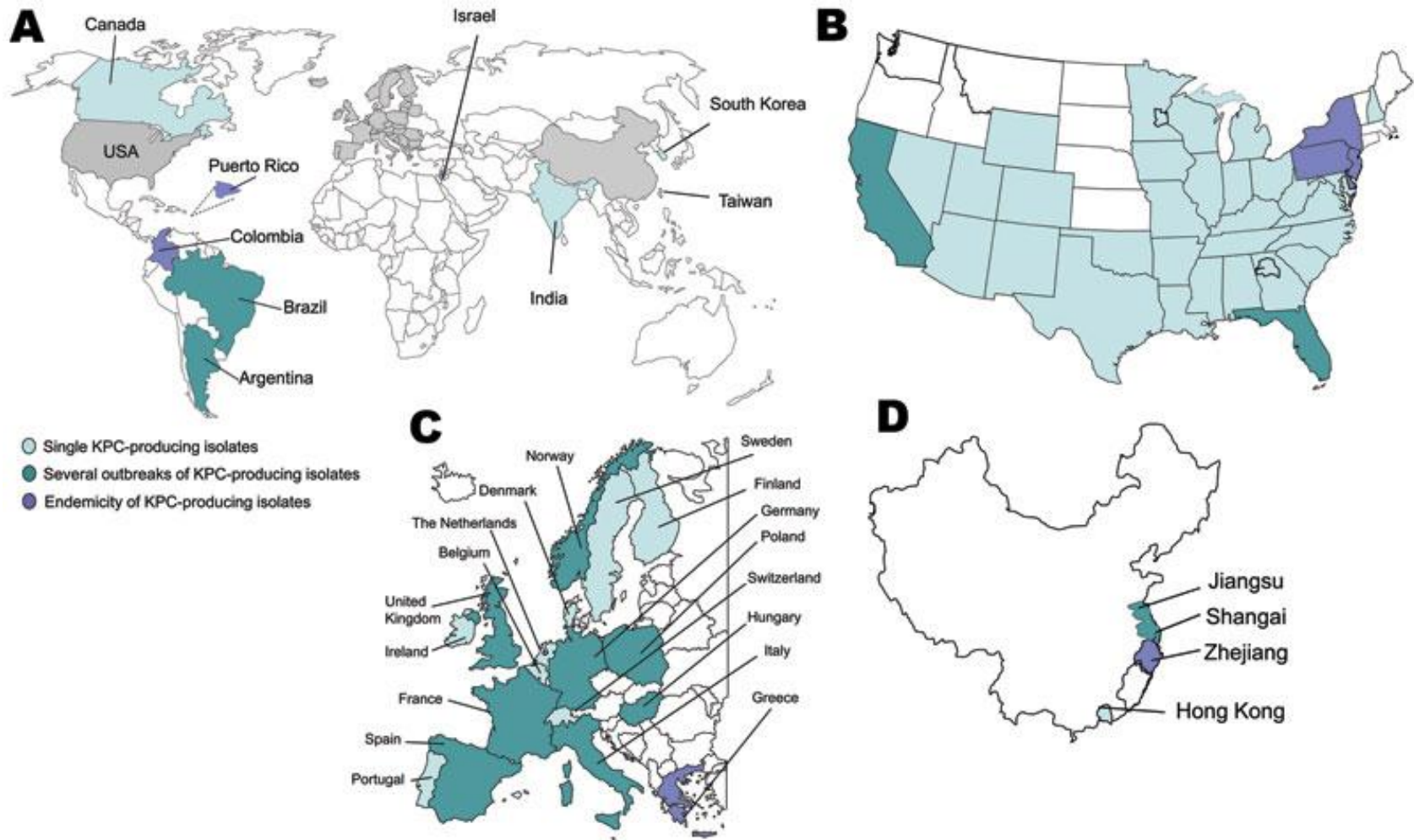
- **Sind den Ambler Klassen A, B und D zugehörig**

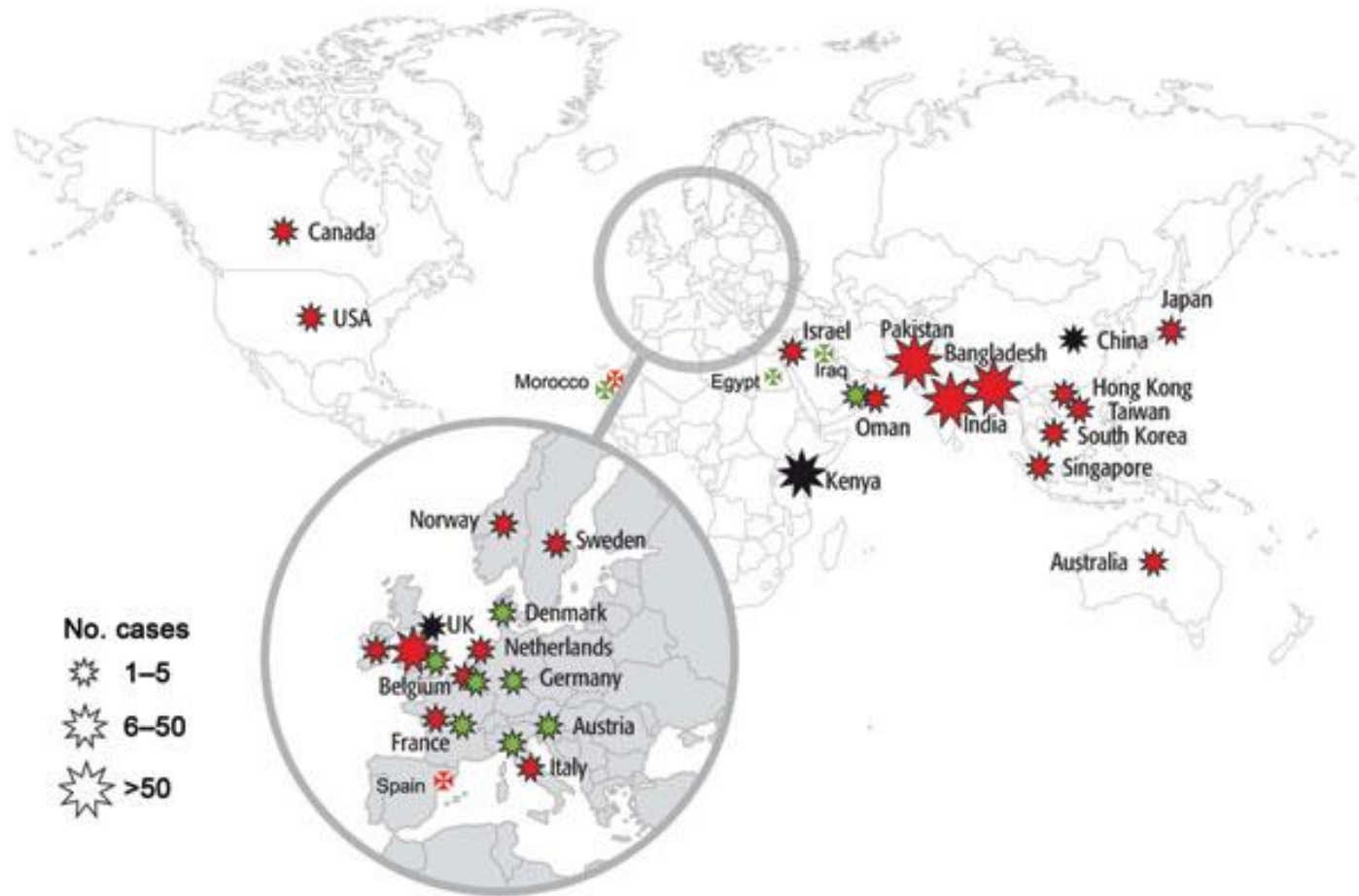
- **Ambler Klasse A (Serin Carbapenemasen): KPC, GESlike etc.**
  - V.a. Enterobakterien aber auch *Pseudomonas aeruginosa*
  - Hydrolysieren so gut wie alle Betalaktame
- **Ambler Klasse B (Metallobetalaktamasen): VIM, IMP, NDM**
  - Enterobakterien, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter*
  - Hydrolysieren Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme
  - Keine Aktivität gegenüber Monobactamen
- **Ambler Klasse D (Oxacarbapenemasen):**
  - OXA-23, OXA-24/40, OXA-51, OXA-58: *Acinetobacter*
  - OXA-48, OXA-181, OXA-162: Enterobakterien
  - Hydrolysieren Penicilline, Schmalspektrumcephalosporine und Carbapeneme (OXA-48 ist die effizienteste Klasse D Carbapenemase)
  - Oxyiminobetalaktame und Aztreonam werden nur schlecht hydrolysiert

**TABLE I.** Species distribution of clinically relevant acquired carbapenemasen

Organism	MBLs (class B)	Class A KPC (GES)	OXA (class D)
<b>Pseudomonads</b>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	+	+
<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<sup>a</sup> +		++
<i>Acinetobacter</i> spp.	+		+
<b>Enterobacteria</b>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<sup>a</sup> +	++	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+		+
<i>Providencia</i> spp.	+		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	
<i>Serratia marcescens</i>	<sup>a</sup> +	+	
<i>Enterobacter</i> spp.	<sup>a</sup> +	+	
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	
<i>Morganella morganii</i>	+		
<i>Salmonella enterica</i>		+	
<i>Raoultella</i> spp.		+	

MBL, metallo- $\beta$ -lactamase.  
 ++, prevalent species–enzyme type combinations; +, occasionally reported species–enzyme type combinations.  
<sup>a</sup>Endemic in certain regions.  
 Crosses in bold denote higher prevalence in the respective species.





Emerging Infectious Diseases Vol. 17, No. 10, October 2011



## RAPID COMMUNICATIONS

### First isolation and outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in an Irish hospital, March to June 2011

D J O'Brien (de.obrien@svuh.ie)<sup>1</sup>, C Wrenn<sup>1</sup>, C Roche<sup>2</sup>, L Rose<sup>2</sup>, C Fenelon<sup>1</sup>, A Flynn<sup>1</sup>, V Murphy<sup>1</sup>, S F FitzGerald<sup>1</sup>, LE Fenelon<sup>1</sup>, B Crowley<sup>1</sup>, K Schaffer<sup>1</sup>  
1. Department of Microbiology, St. Vincent's University Hospital, Dublin, Ireland  
2. St. James's Hospital, Dublin, Ireland

Citation style for this article:  
O'Brien DJ, Wrenn C, Roche C, Rose L, Fenelon C, Flynn A, Murphy V, FitzGerald SF, Fenelon LE, Crowley B, Schaffer K. First isolation and outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in an Irish hospital, March to June 2011. Euro Surveill. 2011;16(29):pii=19921. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19921>

Article published on 21 July 2011

Antimicrob Agents Chemother. 2011 Sep;55(9):4398-401. Epub 2011 Jul 11.

### First outbreak of a plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing OXA-48 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Spain.

Pitart C, Solé M, Roca J, Fàbrega A, Vila J, Marco F.

Department of Clinical Microbiology, Hospital Clinic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. cristinapitart@gmail.com

Antimicrob Agents Chemother. 2012 Jan 30. [Epub ahead of print]

### Emergence of OXA-48-type carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in German hospitals.

Pfeifer Y, Schlatterer K, Engelmann E, Schiller RA, Frangenberg HR, Stewe D, Hofelder M, Witte W, Nordmann P, Poirel L. Robert Koch Institute, Nosocomial Infections, Wernigerode, Germany.

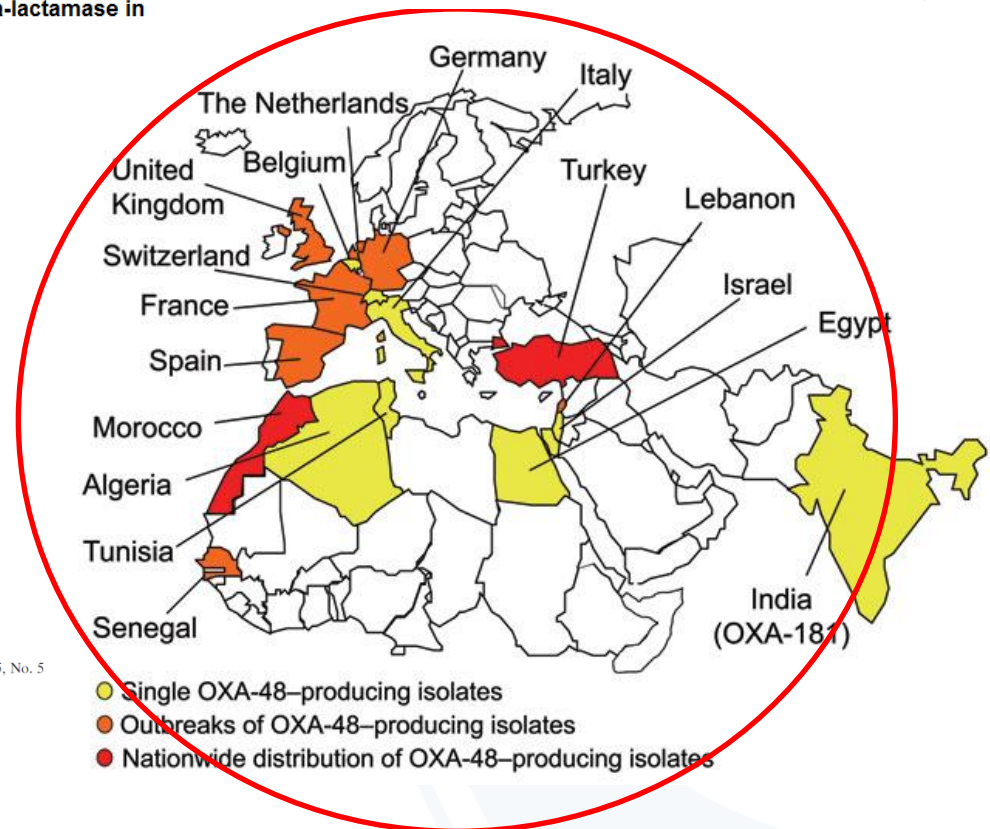
#### Abstract

Nine carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates collected from eight patients in five German hospitals were investigated. Six isolates produced the OXA-48 carbapenemase, and three isolates produced OXA-162 that is a point mutant of OXA-48. Both carbapenemase genes were located on IncLJM-type conjugative plasmids. Insertion sequence IS1999 (truncated or not by IS1R) was located upstream of the bla(OXA-48/-162) genes in all isolates. PFGE typing indicated a clonal transmission of an OXA-48 producing *Klebsiella pneumoniae* strain in two hospitals.

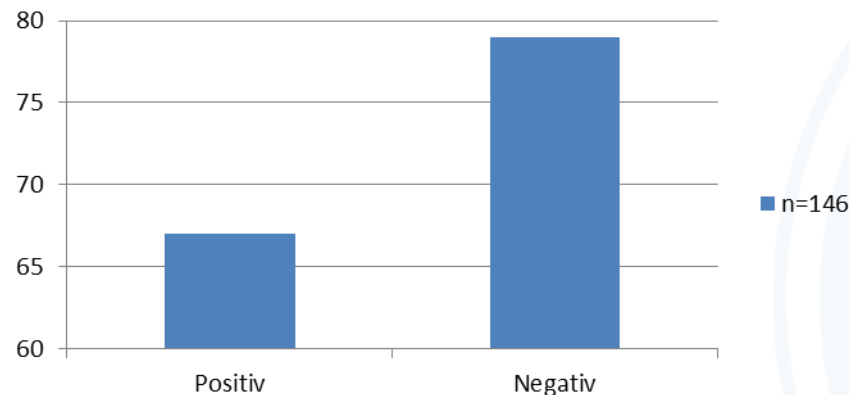
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, May 2011, p. 2420-2423  
0066-4804/11/\$12.00 doi:10.1128/AAC.01452-10  
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 55, No. 5

### Outbreak of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in France<sup>▽</sup>



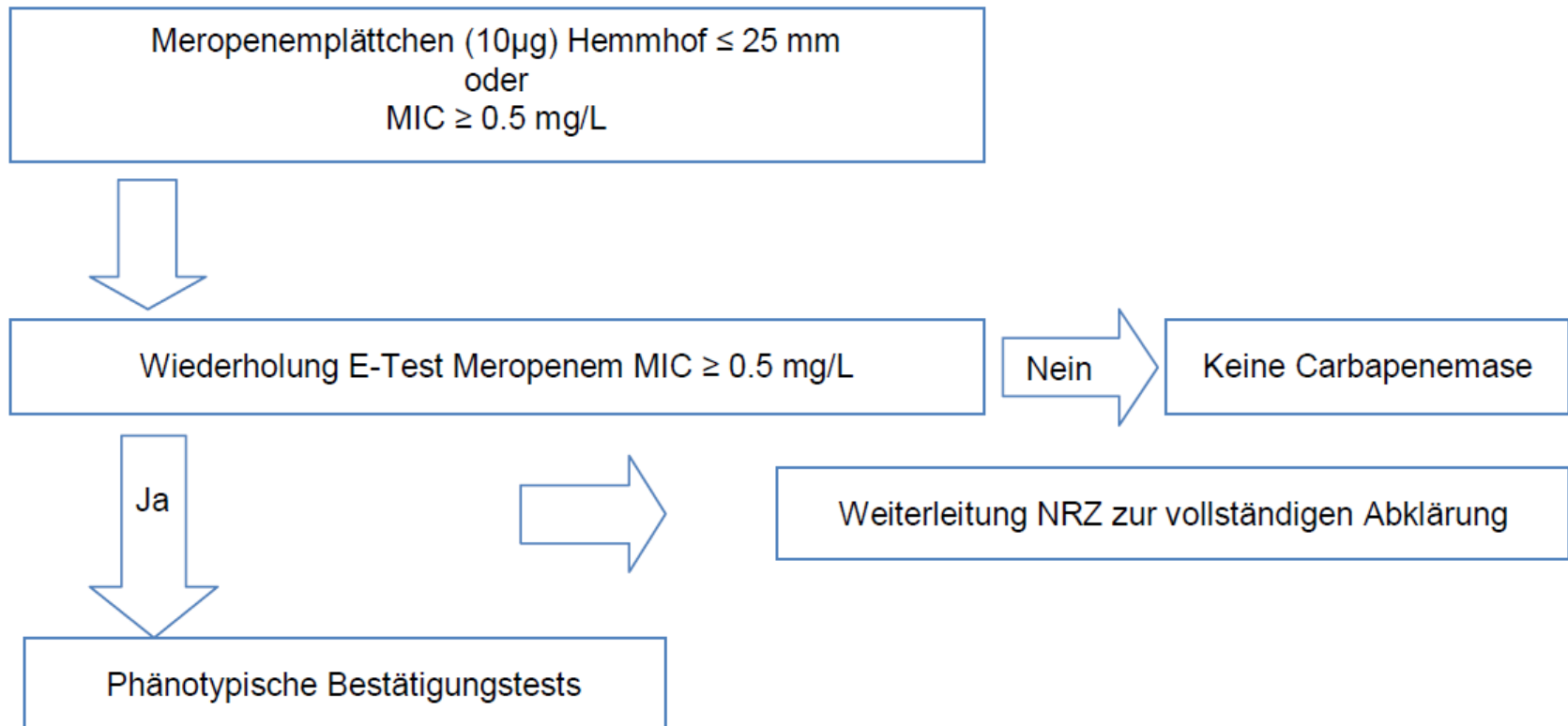
- **Insgesamt 146 Einsendungen an das NRZ mit Verdacht auf Carbapenemaseproduktion (8/2010 bis 2/2012)**
- **Bei 67 Isolaten war mindestens ein Carbapenemasegen nachweisbar**



- **Herabgesetzte Sensibilität gegenüber Carbapenemen beruht nicht zwangsläufig auf einer Carbapenemase (Bsp.: CTX-M ESBL oder AmpC in Kombination mit Porinveränderung oder Efflux Pumpen)**
- **Stämme, die nach EUCAST als sensibel eingestuft werden (Meropenem ab  $\leq 2$ mg/L sensibel), können ein Carbapenemasegen tragen**
- **Häufige Kombination mehrerer Resistenzmechanismen in einem Bakterium bringt phänotypische Methoden an Ihre Grenzen, sodass molekularbiologische Abklärung in den Vordergrund rückt**

- **Prinzipiell ist jedes Isolat, das eine Carbapenem MHK oberhalb der Wildtypverteilung aufweist, als potentiell Carbapenemasegen tragend anzusehen**
- **Keiner weiteren speziellen Abklärung bedürfen:**
  - Die Genera **Proteus, Morganella und Providencia**, die NUR **Imipenem resistant** sind. Diese weisen gegenüber Imipenem intrinsisch eine niedrige Empfindlichkeit auf
  - **Enterobacter spp.** mit Cephalosporin- und **Ertapenem Resistenz** sofern diese voll empfindlich für Imipenem und Meropenem sind. Hierbei handelt es sich in der Regel um Kombinationen aus AmpC und Porinveränderungen

## Schema für Carbapenemase-Screening bei Enterobakterien



- **Testsystem, das Carbapenemase aller 3 Ambler Klassen nachweisen kann (a)**
- **Für Ambler Klasse A und B Carbapenemase existieren spezifische Inhibitoren. Durch Synergismuskachweis mit Carbapenemen ist eine Zuordnung möglich (b)**

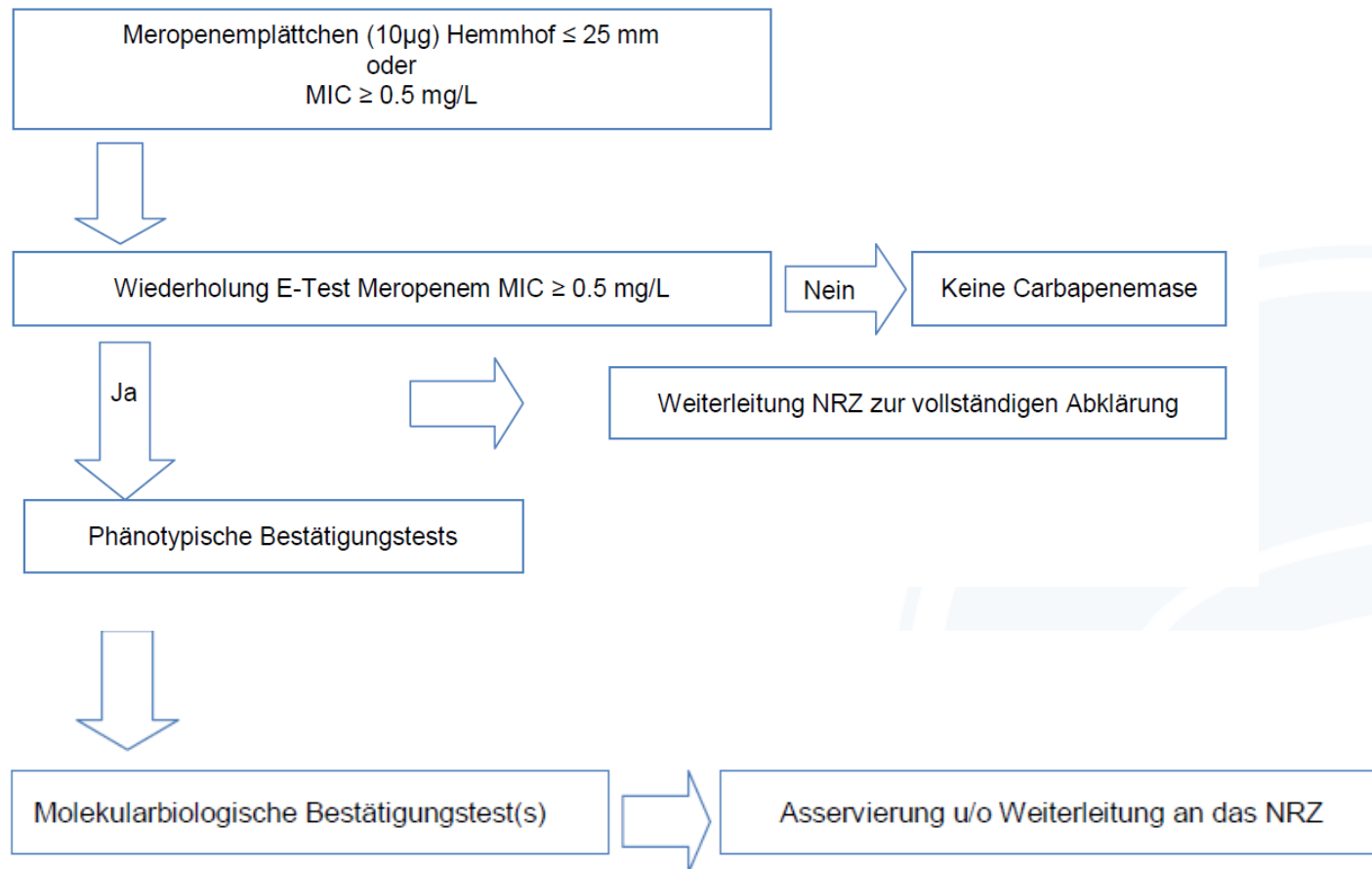
Testsystem	Carbapenemase			Reduzierte Permeabilität	
	A	B	D	mit AmpC	mit ESBL
a { Modifizierter Hodge Test	+	+	+	positives Ergebnis möglich	positives Ergebnis möglich
b { Meropenem-Borsäure-Synergismus	+	-	-	+	-
Meropenem-Cloxacillin Synergismus	-	-	-	+	-
Meropenem-Dipikolinsäure Synergismus	-	+	-	-	-
Imipenem-EDTA Synergismus	-	+	-	-	-
ESBL Screening	-	-	-	-	+

- **Modifizierter Hodge Test gemäß CLSI 2012**
- **Dient dem Nachweis aller Carbapenemaseklassen**
- **Keine Diskriminierung möglich**
- **Sensitivität sehr gut bei Klasse A und D**
- **Sensitivität schlecht bei Klasse B (V.a. NDM-1 ca. 50%)**
  - Eventuell Verbesserung durch Gallezusatz
  - NDM-1: Steigerung durch ZnSO<sub>4</sub> (100 µg/ml) auf 85% mgl
- **Spezifität ist niedrig (V.a. bei AmpC und ESBL)**
- **Zeitintensiv und häufig schwierige Interpretation (subjektive Komponente)**

- **Klasse A Enzyme werden durch Borsäure und deren Derivate inhibiert**
  - Meist APBA (Aminophenylborsäure)
  - Bessere Diskriminierung mittels PBA (Phenylborsäure) beschrieben
  - Sowohl Combined Disc Test als auch DDST
- **Klasse B Enzyme werden durch EDTA sowie Dipikolinsäure inhibiert**
  - Sowohl Combined Disc Test als auch DDST, E-Test MBL
  - EDTA hat schlechtere Spezifität als DPA
- **Zur Abgrenzung von AmpC mit Efflux bzw. Porinverlust kann Cloxacillin verwendet werden**
- **Mittels geschickter Kombination können auch Klasse A und B gleichzeitig nachgewiesen werden**



## Schema für Carbapenemase-Screening bei Enterobakterien



- **„Reine“ Resistenzphänotypen sind bei Carbapenemasen äußerst selten**
- **Meist treten zusätzlich Resistenzmechanismen auf**
  - Porinveränderungen
  - Erworbene AmpCs, Hyperproduktion
  - ESBL
- **Unterschiedliche genetische Elemente mobilisieren Betalaktamasegene und führen zu einer Kumulation von Resistenzmechanismen**
  - Transposons
  - Integrons (v.a. Klasse 1 Integron)
  - Insertionssequenzen
- **In Kombination ergibt sich dann oft ein MDR, XDR oder sogar PDR Phänotyp, der nur mittels Molekularbiologie eindeutig zugeordnet werden kann**

- **Prinzipiell sollte jede unklare Konstellation mittels PCR überprüft werden**
- **Zahlreiche konventionelle Multiplex PCRs zur Detektion unterschiedlicher Betalaktamasen beschrieben**
- **Kommerziell Verfügbare Testsysteme**
  - Ligasemedierte Amplifikation mit anschließender Microarray Hybridisierung (Check-Points®, Check ESBL bzw. MDR)
    - Detektion ESBL (TEM und SHV [Wildtypunterscheidung möglich], CTX-M)
    - Detektion AmpCs (CMY, DHA, FOX, MOX, ACC, MIR, ACT)
    - Detektion Carbapenemasen (NDM-1, VIM, OXA-48, KPC) J Clin Microbiol (2011) 49:1608-13
  - Multiplex PCR mit anschließender Visualisierung der Amplifikate per reverser Hybridisierung mit spezifischen Oligonukleotid-Sonden (Amplex, hyplex®)

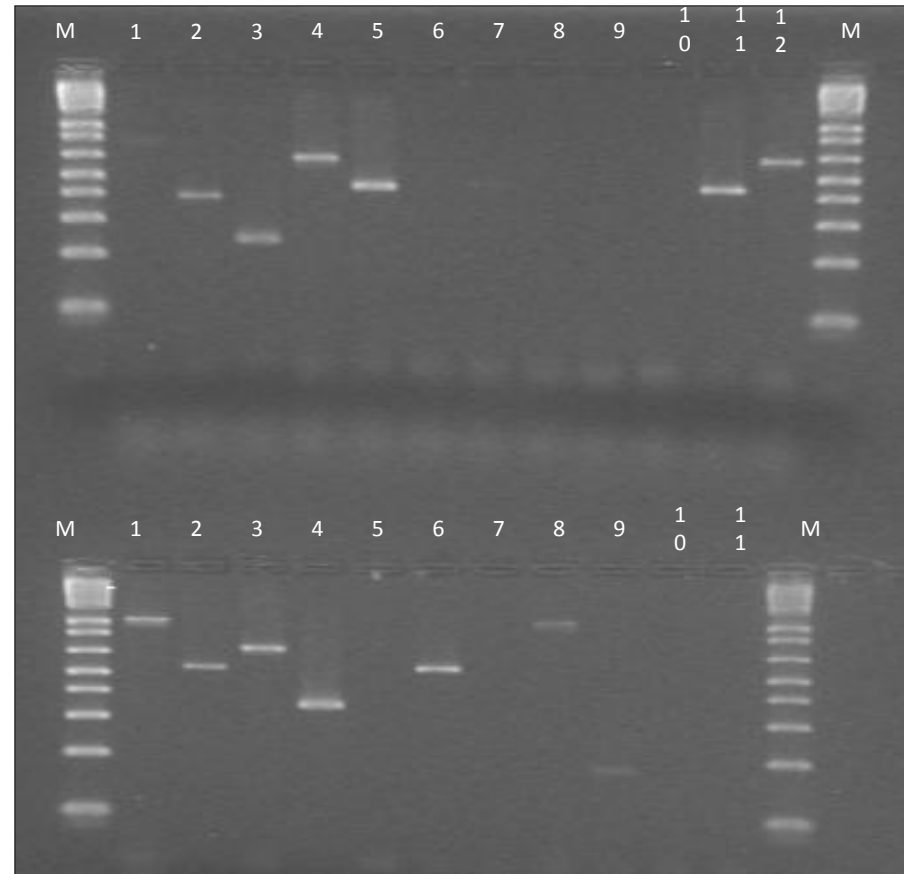
J Microbiol Methods (2010) 83: 185-7

Oben:

- 1 KPC
- 2 VIM
- 3 IMP
- 4 NDM
- 5 OXA-48
- 6 NC
- 7 OXA-48 (schwach)
- 8 negativ
- 9 negativ
- 10 negativ
- 11 OXA-48
- 12 NDM

Unten:

- 1 DHA
- 2 CMY/LAT/BIL
- 3 ACT/MIR
- 4 ACC
- 5 NC
- 6 CMY/LAT/BIL
- 7 negativ
- 8 DHA
- 9 FOX
- 10 negativ
- 11 negativ



- **Zahlreiche Mechanismen können zu Carbapenemresistenz führen**
  - Porinverlust
  - Efflux Pumpen
  - AmpC
  - ESBL
  - MBL (IMP, VIM), Serincarbapenemasen (KPC)
- **Hodge Test: schlechte Sensitivität sowie Spezifität (nicht sinnvoll)**
- **APBA und DPA geeignet zum Nachweis von KPC und MBL**
- **Cloxacillin muss bei P. aeruginosa in deutlich höherer Konzentration als bei CPE eingesetzt werden**



- **Acinetobacter baumannii**
  - Abklärung möglich, wenn Carbapeneme resistent
- **Zahlreiche Mechanismen der Carbapenemresistenz**
- **Carbapenemasen:**
  - V.a. OXA-23, OXA-24/40, OXA-58
  - OXA-51: kommt ubiquitär bei A. baumannii vor. Expression ist abhängig von Promotor (Resistenz bei Überexpression).
  - MBL
- **Hodge Test: nicht sinnvoll**



- **CPE nehmen weltweit stark zu**
- **Das Erkennen von CPE in der Routinediagnostik ist schwierig**
- **Phänotypische Methoden sind zur Bestätigung nicht immer ausreichend**
- **Molekularbiologische Nachweismethoden sind der Goldstandard in der Bestätigungsdiagnostik von CPE. Sie sollten in jeder unklaren Situation zum Einsatz kommen**
- **CPE Screeningbreakpoints sind zur Detektion von Carbapenemaseproduktion bei Nonfermentern nicht geeignet**



## Nationales Referenzzentrum für Nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz

STARTSEITE  
AKTUELLES  
FACHBEREICHE  
KUNDENSERVICE  
WIR ÜBER UNS  
KONTAKT  
» **NATIONALES  
REFERENZZENTRUM**

IHMT  
Hintergrund  
AURES  
PROHYG 2.0  
Carbapenemase  
Libysche Patienten

### Das Referenzzentrum

Das nationale Referenzzentrum für nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz wird seit 2003 im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit in Allianz zweier bettenführender Krankenanstalten, dem **Allgemeinen Krankenhaus der Stadt Wien** und dem **AÖ Krankenhaus der Elisabethinen Linz** geführt. Diese Kombination zweier etablierter Institutionen stellt repräsentative Zahlen, Fakten, Erkenntnisse und Empfehlungen in der gegenständlichen Thematik sicher.

Das nationale Referenzzentrum am **Klinischen Institut für Krankenhaushygiene der Medizinischen Universität Wien** beschäftigt sich mit verschiedenen Aspekten nosokomialer Infektionen, deren Erfassung, Analyse der Daten (z.B. im ANISS) sowie Entwicklung von Strategien zur Vermeidung solcher Infektionen.

Die fachlichen Schwerpunkte am **Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Tropenmedizin (IHMT)** des AÖ Krankenhaus der Elisabethinen Linz liegen im Bereich Antibiotikaresistenzen (Surveillance, Austestung) und Antibiotikaverbrauch. Darüber hinaus ist diesem nationalen Referenzzentrum „Alles rund um das Antibiogramm“ ein vordergründiges Anliegen.

### Kontakt

Wir freuen uns über Ihre Kontaktaufnahme unter +43 (0)732 7676-3654 oder [office@referenzzentrum.at](mailto:office@referenzzentrum.at) und sind jederzeit gerne für Sie da!

---

Diese Seite wird von der analyse BioLab im Auftrag des nationalen Referenzzentrums für nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz gehostet.



**Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!**

