

ESBL- Stämme von *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* in GENARS*-Kliniken

German Network for Antimicrobial Resistance Surveillance

KMP002

Huppertz K.¹, Beer J.², Noll I.¹, Pfister W.³, Pietzcker T.⁴, Schubert S.⁵, Wichelhaus T.A.⁶, Ziesing S.⁷ und Wiedemann B.¹

Geschäftsstelle der GENARS-Projektgruppe; Pharmazeutische Mikrobiologie; Universität Bonn; Meckenheimer Allee 168; 53115 Bonn

* gefördert durch das Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung

REVISED ABSTRACT

The increasing resistance of Enterobacteriaceae to monobactams and oxymino-cephalosporines like cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone and cefepodoxime is due to an increasing spread of strains expressing extended spectrum β -lactamases (ESBL). ESBL rates of more than 50 % have already been reported for southern European countries. For Germany, Austria and Switzerland a multicenter study of the Paul Ehrlich Society (PEG) in 2001 detected ESBL-rates of 0.8 % and 8.2 % for *E. coli* and *K. pneumoniae*, respectively. More recent and detailed information about the occurrence of ESBL phenotypes in Germany is provided by the GENARS project which is funded by the German Federal Ministry of Health and Social Security.

In this project antibiotics are routinely tested which according to NCCLS guidelines should be used as indicators for an ESBL screening (cefotaxime, ceftazidime, cefepodoxime for the initial ESBL-screening; the ratio of cefepodoxime and cefepodoxime/clavulanic acid for phenotypical confirmation). In the 2nd half of 2003, the percentage of strains with a positive ESBL-screening amounts to 3.9 % and to 12.4 % for *E. coli* (n=2120) and *K. pneumoniae* (n=491), respectively. Phenotypically confirmed as ESBL are 1.7 % of all *E. coli* strains and 8.1 % of all *K. pneumoniae* strains. In both species strains were detected in which ESBL are phenotypically confirmed, but where NCCLS parameters for initial screening failed (0.2 %). Strains with a MIC for cefepodoxime of ≥ 8 mg/L which can not be reduced by clavulanic acid are identified as AmpC expressing strains (*E. coli* 2.0 %; *K. pneumoniae* 1.4 %). Focused on the departments and the kind of wards in GENARS hospitals the epidemiological situation concerning to ESBL strains can be assessed. In GENARS hospitals the difference of ESBL rates between departments can sometimes be considerable (*E. coli*: 0.0 % - 4.1 %; *K. pneumoniae*: 0.0 % - 23.3 %). For both *E. coli* and *K. pneumoniae*, ESBL rates are highest in ICU's.

EINLEITUNG

Seit den letzten 20 Jahren werden zunehmend klinische Isolate aus der Gruppe der Enterobacteriaceae beschrieben, die Beta-Laktamasen mit einem erweiterten Wirkungsspektrum produzieren (Extended Spectrum Beta-Laktamasen, ESBL). Diese Beta-Laktamasen sind per definitionem in vitro durch die derzeit kommerziell verfügbaren Beta-Laktamaseinhibitoren hemmbar. ESBL bildende Isolate sind weitgehend resistent gegenüber Monobactamen und den meisten Cephalosporinen. Da diese Multiresistenz eine adäquate Antibiotikatherapie betroffener Patienten erheblich erschwert, gilt dem Nachweis von ESBL produzierenden Bakterien und deren Epidemiologie eine besondere Aufmerksamkeit. In einigen Südeuropäischen Staaten beträgt der Anteil ESBL produzierender Enterobacteriaceae bereits mehr als 50 %. Nach Ergebnissen der multizentrischen Studie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft von 2001 (2) liegt in Deutschland, Österreich und der Schweiz der Anteil ESBL produzierender Stämme von *Escherichia coli* bei 0,8 % und der Anteil ESBL produzierender Stämme von *Klebsiella pneumoniae* bei 8,2 %.

Mit dem Ziel eine flächendeckende Überwachung der Antibiotikaresistenz für ganz Deutschland aufzubauen, werden im GENARS-Projekt resistenzepidemiologische Daten von z.Z. sechs Universitätskliniken aus der täglichen Laborroutine kontinuierlich zentral erfasst (1). Die für alle GENARS-Teilnehmer verbindliche Bestimmung der bakteriellen Empfindlichkeit gegenüber Antifektiva durch die Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentration und durch das breite Spektrum der von den GENARS-Teilnehmern getesteten Antibiotika, können Stämme mit ESBL sicher erkannt werden. Durch die Testung von Cefepodoxim/Clavulansäure können diese auch phänotypisch entsprechend den NCCLS-Richtlinien (3) bestätigt werden. Mit den Testergebnissen für diese Antibiotika lassen sich aber auch solche Stämme detektieren, die eine AmpC Beta-Laktamase aufweisen.

Die hier vorgestellte Untersuchung verfolgt das Ziel für ausgesuchte GENARS-Kliniken den Anteil der ESBL-produzierenden Stämme für *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* festzustellen, sowie Unterschiede zwischen den Kliniken und die Herkunft der Stämme nach Stationstyp und klinischer Abteilung aufzuzeigen.

METHODEN

Gegenwärtig nehmen in Deutschland sechs Medizinisch Mikrobiologische Institute am GENARS-Projekt teil (www.genars.de). Alle Institute bestimmen die Empfindlichkeit bakterieller Erreger durch Ermittlung der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK). Folgende Systeme werden hierzu eingesetzt: Miconaut® der Firma Merlin (4 Teilnehmer), Vitek2® der Firma BioMérieux (1 Teilnehmer) und ein manuelles Verfahren gemäß DIN (Entwurf) 58940-8 (1 Teilnehmer). Pro Isolat werden MHK-Bestimmungen für ca. 25 Antibiotika kontinuierlich für alle klinischen Isolate durchgeführt.

Aus methodischen Gründen und zur Erzielung möglichst repräsentativer Ergebnisse wurden bei der vorliegenden Auswertung die Daten folgender Institute herangezogen:

- Institut für Mikrobiologie und Immunologie des Universitätsklinikums **Ulm**
- Institut für Medizinische Mikrobiologie der Friedrich-Schiller-Universität **Jena**
- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-hygiene der Medizinischen Hochschule **Hannover**

Die ESBL-Bestimmung erfolgte nach folgenden Kriterien:

Verdacht auf ESBL: MHK für Cefotaxim ≥ 2 mg/L und/oder Ceftazidim ≥ 2 mg/L und/oder Cefepodoxim ≥ 8 mg/L
ESBL, phänotypisch bestätigt: Erniedrigung der MHK von Cefepodoxim um mindestens 3 Titerstufen bei Kombination mit dem Beta-Laktamaseinhibitor Clavulansäure

Für die Detektion von AmpC Beta-Laktamasen wurde folgendes Kriterium herangezogen:

AmpC Beta-Laktamasen: MHK für Cefotaxim ≥ 2 mg/L, Ceftazidim ≥ 2 mg/L, Cefepodoxim ≥ 8 mg/L; keine Erniedrigung der MHK von Cefepodoxim bei Kombination mit Clavulansäure

Die Auswertungen für *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* wurden ausschließlich an Erstisolaten des 2. Halbjahres 2003 vorgenommen.

ERGEBNISSE

Im Untersuchungszeitraum 2. Halbjahr 2003 betrug die ESBL-Rate für die drei ausgewerteten GENARS-Kliniken bei *E. coli* 1,7 % (Tab. 1a) und bei *K. pneumoniae* 8,1 % (Tab. 1b).

		ESBL-Bestätigung			
		+		-	
ESBL-Verdacht	+	1,4%	2,5%	7,9%	4,5%
	-	0,3%	95,8%	0,2%	87,4%

Tab. 1 Prozentuale Anteile der Stämme von *Escherichia coli* (Tab. 1a) und *K. pneumoniae* (Tab. 1b) mit ESBL-Verdacht und phänotypischer ESBL-Bestätigung (*E. coli*: n = 2120, *K. pneumoniae*: n = 491)

Bei insgesamt 6 der 2120 ausgewerteten Stämme von *E. coli* wurde eine ESBL durch die Testung von Cefepodoxim und Cefepodoxim/Clavulansäure bestätigt, obwohl nach NCCLS (3) kein Verdacht vorliegt (keine MHK-Werte für Cefotaxim ≥ 2 mg/L, Ceftazidim ≥ 2 mg/L, Cefepodoxim ≥ 8 mg/L; durch Clavulansäure Reduktion der Cefepodoxim-MHK von 2 mg/L nach 0,25 mg/L). Bei *K. pneumoniae* traf dies auf einen der 491 untersuchten Stämme zu.

Diese Ergebnisse zeigen, dass ein Vorgehen nach NCCLS-Kriterien nicht alle ESBL-Produzenten erfasst. Die 6 ESBL-Stämme von *E. coli*, die nicht den NCCLS-Kriterien für ESBL-Verdacht entsprachen, zeichnen sich zudem durch MHK-Werte für Cefuroxim von 16 – 128 mg/L aus (Cefuroximase).

Bei 2 % der *E. coli* Isolate (43 Stämme) führen AmpC Beta-Laktamasen zur Resistenz. Bei *K. pneumoniae* finden sich 1,4 % (7 Stämme) aller Isolate bei denen bei hohen MHK-Werten für Cefotaxim, Ceftazidim und Cefepodoxim die Beta-Laktamase Aktivität durch Clavulansäure nicht inhibierbar ist.

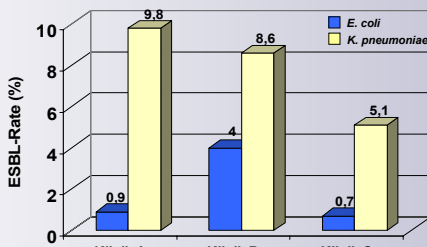


Abb. 1 ESBL-Raten in den verschiedenen Kliniken für *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*

In den einzelnen Kliniken unterscheiden sich die ESBL-Raten bei *E. coli* erheblich (Abb. 1). Im Gegensatz dazu sind bei *K. pneumoniae* die relativen Unterschiede der ESBL-Raten in den untersuchten Kliniken nicht ganz so groß (Abb. 1).

Sowohl bei *E. coli* (69,6 %), als auch bei *K. pneumoniae* (35,3 %) rekrutieren sich ESBL-Stämme überwiegend aus Isolaten von Intensivstationen (Abb. 2a; Abb. 3a). Obwohl die Anästhesiologie als eine von vier ausgewerteten klinischen Abteilungen für beide Spezies die geringsten Stammzahlen einsenden (Abb. 2c, Abb. 3c), ist der prozentuale Anteil an ESBL-Bildnern mit 40,2 % für *E. coli* (Abb. 2b) und 45,2 % für *K. pneumoniae* (Abb. 3b) dieser klinischen Fachrichtung erheblich.

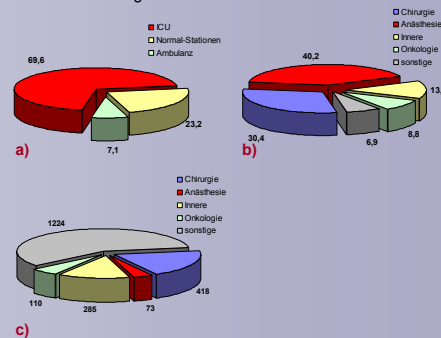


Abb. 2 *E. coli*: Einsender von ESBL-Stämmen

- Häufigkeit von ESBL-Stämmen in verschiedenen Stationstypen in Prozent
- Häufigkeit von ESBL-Stämmen in verschiedenen klin. Abteilungen in Prozent
- Zahl der *E. coli* Isolate aus den klinischen Abteilungen

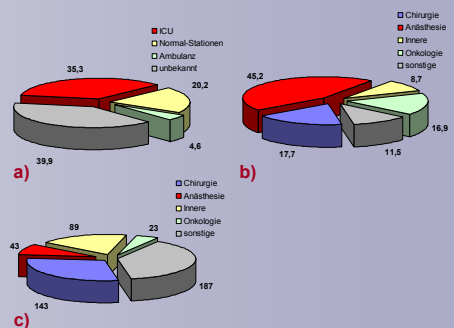


Abb. 3 *K. pneumoniae*: Einsender von ESBL-Stämmen

- Häufigkeit von ESBL-Stämmen in verschiedenen Stationstypen in Prozent
- Häufigkeit von ESBL-Stämmen in verschiedenen klin. Abteilungen in Prozent
- Zahl der *K. pneumoniae* Isolate aus den klinischen Abteilungen

ZUSAMMENFASSUNG

- Die ESBL-Rate für *E. coli* liegt mit 1,7 % etwa doppelt so hoch, wie sie in der multizentrischen Studie der PEG für 2001 angegeben wird. Bei *K. pneumoniae* sind die ESBL-Raten mit 8,1 % (GENARS) und 8,2 % (PEG) nahezu identisch.
- Die Häufigkeit ESBL produzierender Stämme ist je nach Klinik, medizinischer Fachrichtung und Stationsart sehr unterschiedlich.
- Für eine quantitative Erfassung aller ESBL Stämme sind die NCCLS-Richtlinien nicht ausreichend.
- Bei *E. coli* sind AmpC Beta-Laktamasen ähnlich häufig wie ESBL. Die Zahl der Stämme von *K. pneumoniae* mit AmpC Beta-Laktamase (Plasmid kodiert) ist im Vergleich zu ESBL bildenden Stämmen erheblich geringer.
- Eine mögliche klonale Ausbreitung ESBL produzierender Stämme muss beachtet werden.

LITERATUR

- Huppertz K, Wiedemann B. GENARS-Projekt etabliert. *Chemotherapie Journal* 2000;9:200-12
- Kresken M, Hafner D, Schmitz F-J, Wichelhaus T A. PEG-Resistenzstudie 2001. Bonn: Antifektives Intelligence Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, 2003.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards (2004). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth International Supplement; NCCLS Document M100-S14; Vol. 24.

PROJEKTGRUPPE

- Geschäftsstelle: Pharmazeutische Mikrobiologie, Universität **Bonn**
- Institut für Med. Mikrobiologie und Epidemiologie der Universität **Leipzig**
- Institut für Med. Mikrobiologie der Universität **Jena**
- Institut für Mikrobiologie und Immunologie der Universität **Ulm**
- Institut für Med. Mikrobiologie und Virologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein; - Campus **Kiel** -
- Institut für Med. Mikrobiologie der Universität **Frankfurt/Main**
- Institut für Med. Mikrobiologie und Krankenhaushygiene der Med. Hochschule **Hannover**