

Corinna Kehrenberg

Mechanismen von Antibiotikaresistenzen bei Bakterien von Mensch und Tier - Lösungsansätze und Risiken

Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Problem der Antibiotikaresistenz

European Union
population 500m

25,000 deaths per year

2.5m extra hospital days

Overall societal costs
(€ 900 million, hosp. days)
Approx. €1.5 billion per year



Source: ECDC 2007

Thailand
population 70m

>38,000 deaths

>3.2m hospital days

Overall societal costs
US\$ 84.6–202.8 mill. direct
>US\$1.3 billion indirect



Source: Pumar et al 2012

United States
population 300m

>23,000 deaths

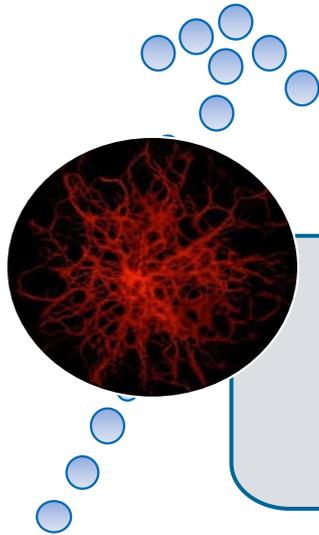
>2.0m illnesses

Overall societal costs
Up to \$20 billion direct
Up to \$35 billion indirect



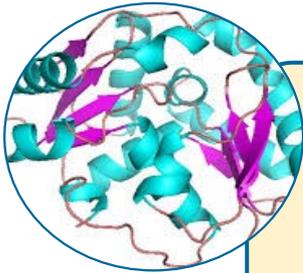
Source: US CDC 2013

Herkunft von Resistenzgenen



I. Resistenzgene aus Wirkstoffproduzenten

Schützen die Produzenten vor eigenen Stoffwechselprodukten



II. Resistenzgene aus Haushaltsgenen

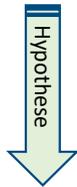
Über schrittweise Mutationen Änderung des Substratspektrums

Resistenzentwicklung vor klinischer Antibiotikanutzung



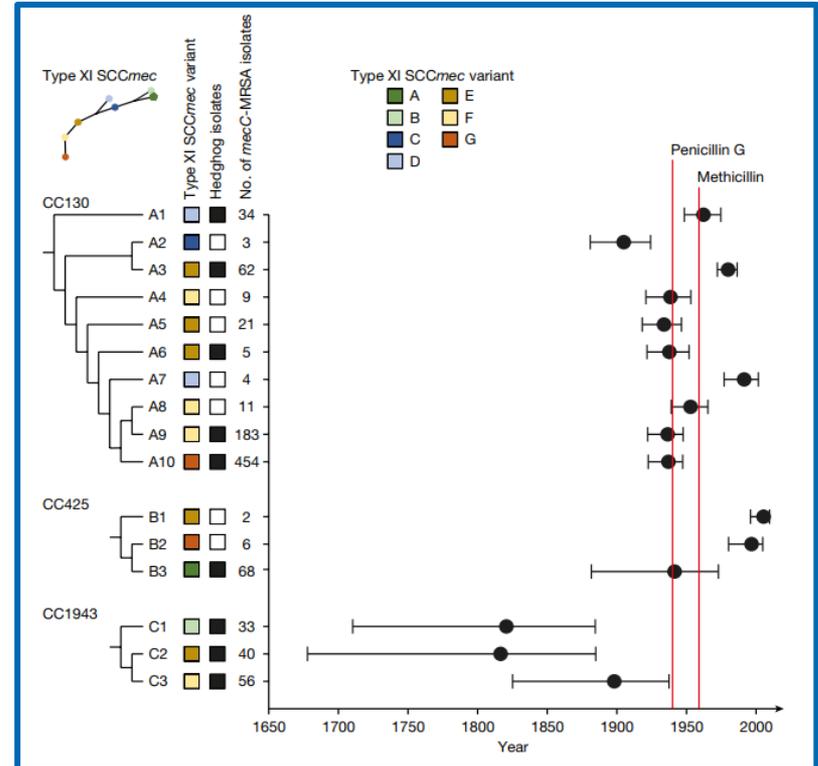
MRSA:
mecC- *S. aureus*

und
Dermatophyten:
Trichophyton erinacei



Produktion von β -Laktamen

Genomsequenzierungen
Penicillin G



Article

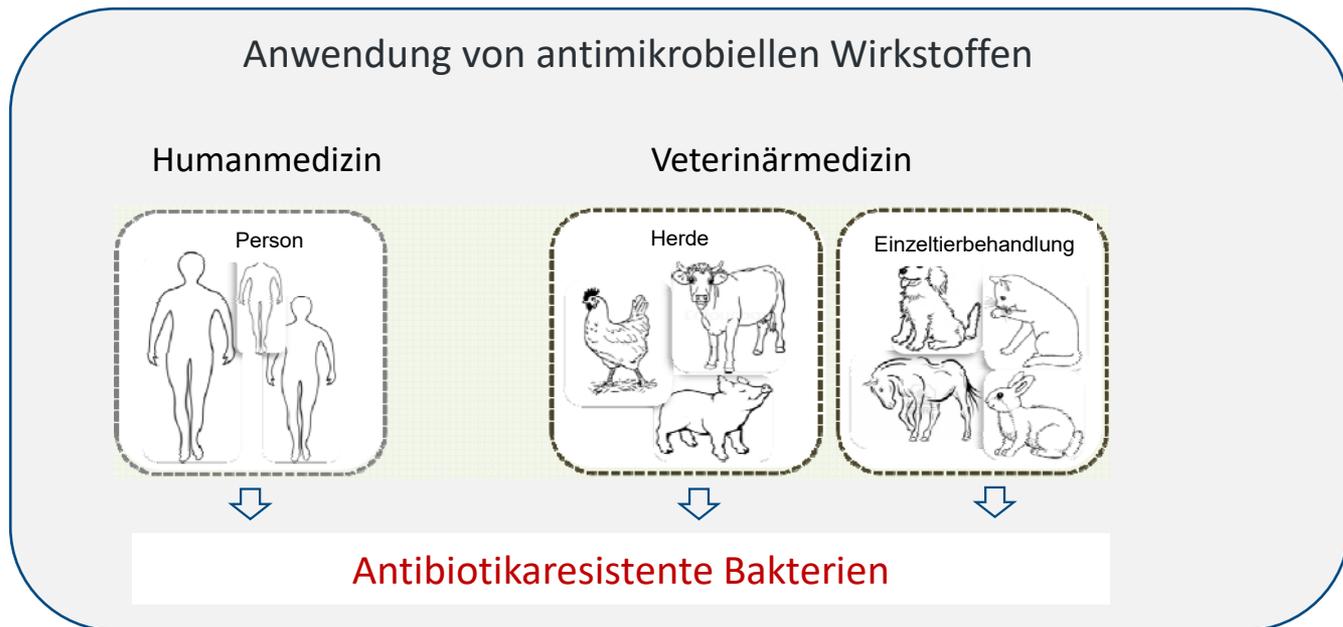
Emergence of methicillin resistance predates the clinical use of antibiotics

Jesper Larson et al. 2022, Nature ;602:135-141

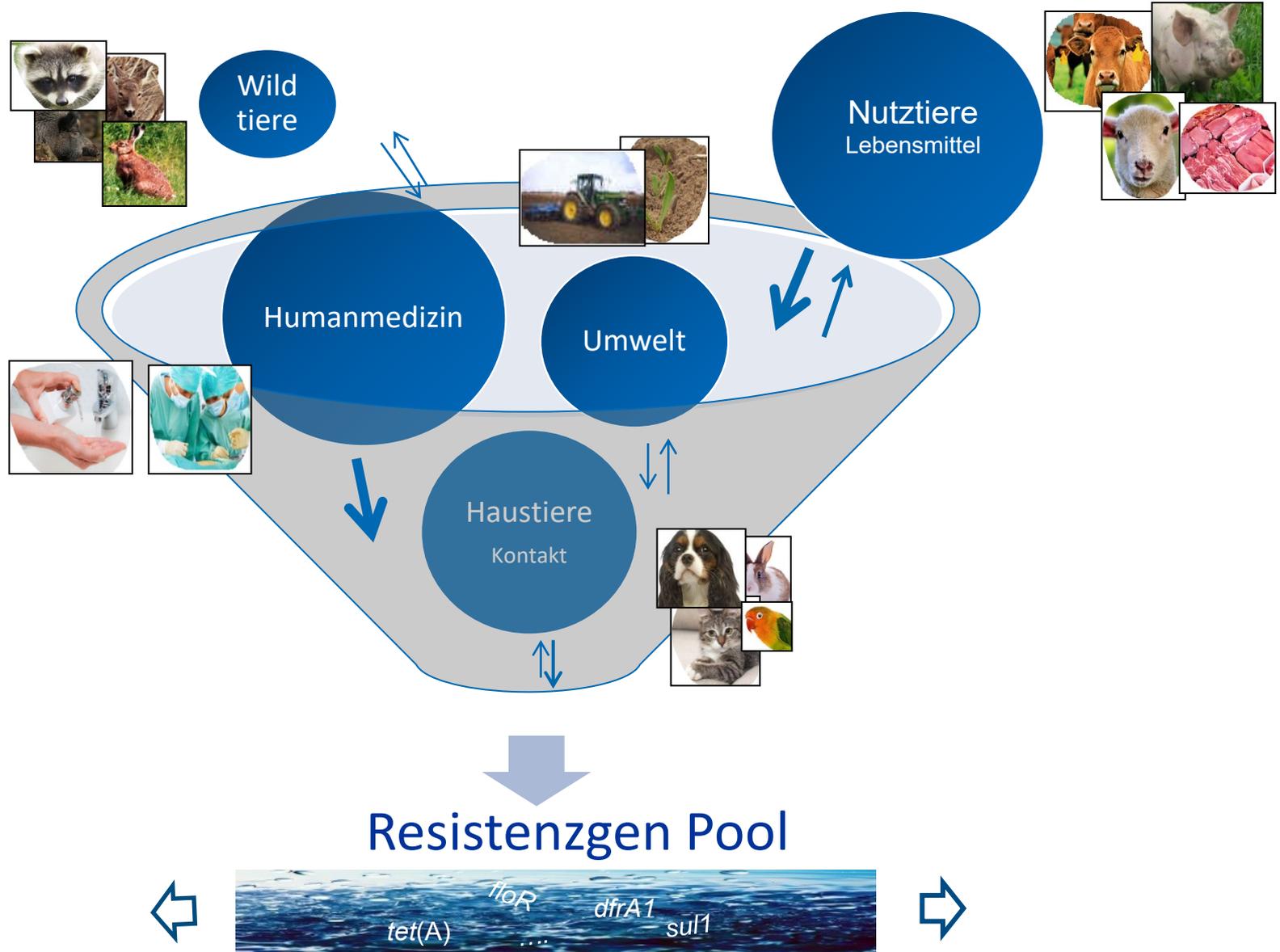
Treibende Kraft der Resistenzentwicklung

„...The main drivers of resistance rates are not new mutations but rather antimicrobial selection pressure and transmission“
(WHO 2011)

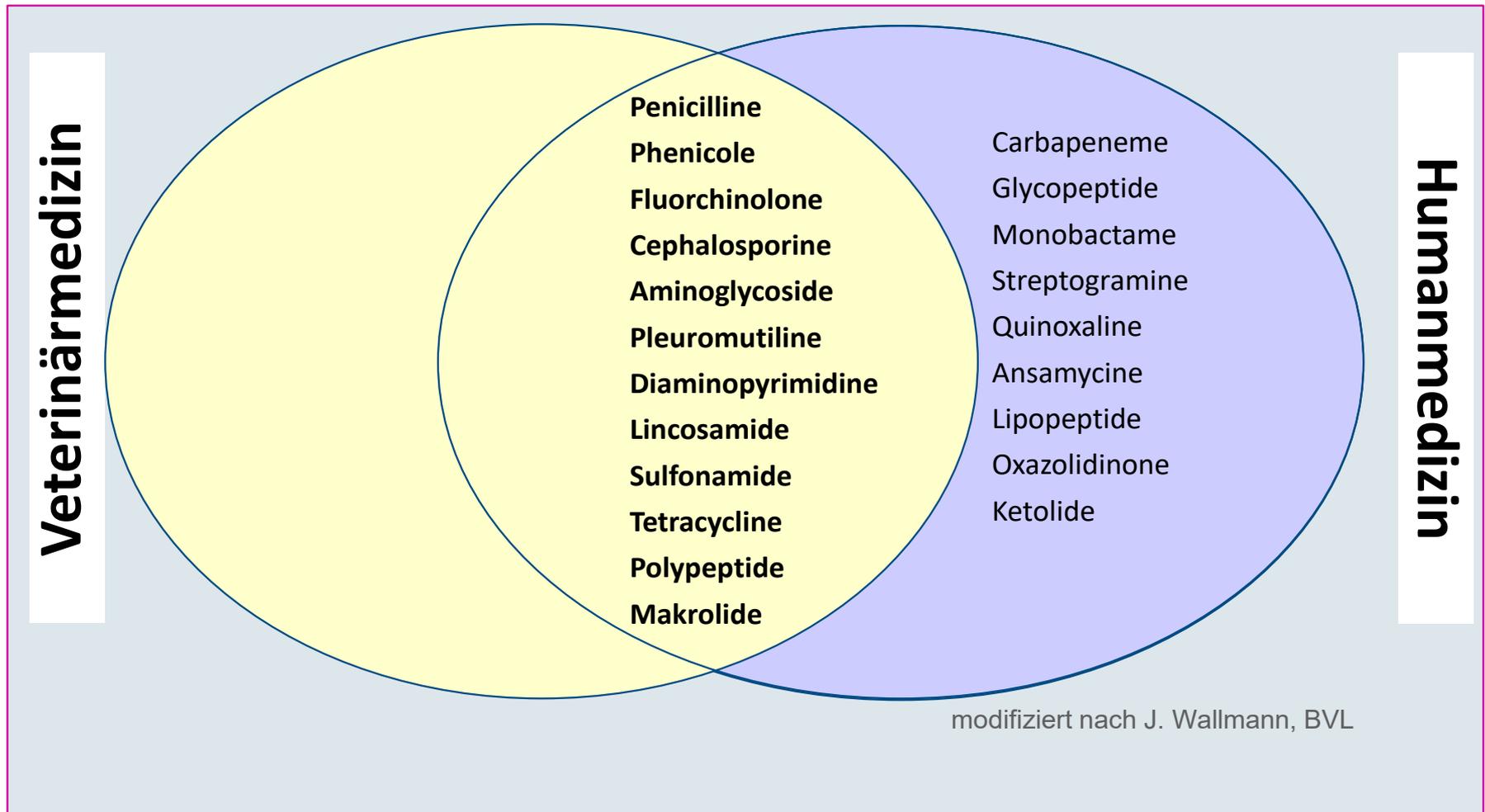
..... Selektionsdruck kann die Evolution sowohl von Krankheitserregern als auch von Kommensalen vorantreiben



Selektion von antibiotikaresistenten Bakterien



Verfügbarkeit von Klassen antimikrobieller Wirkstoffe (WHO, OIE)



modifiziert nach J. Wallmann, BVL

Antibiotikaresistenz und Tier/Mensch-Transfer



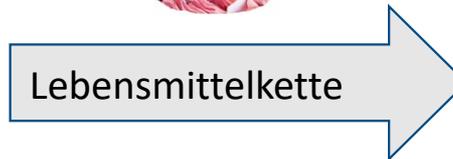
Kommensale Flora



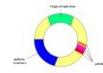
Resistenzselektion



Pathogene Keime



Bakterien



Resistenzdeterminanten

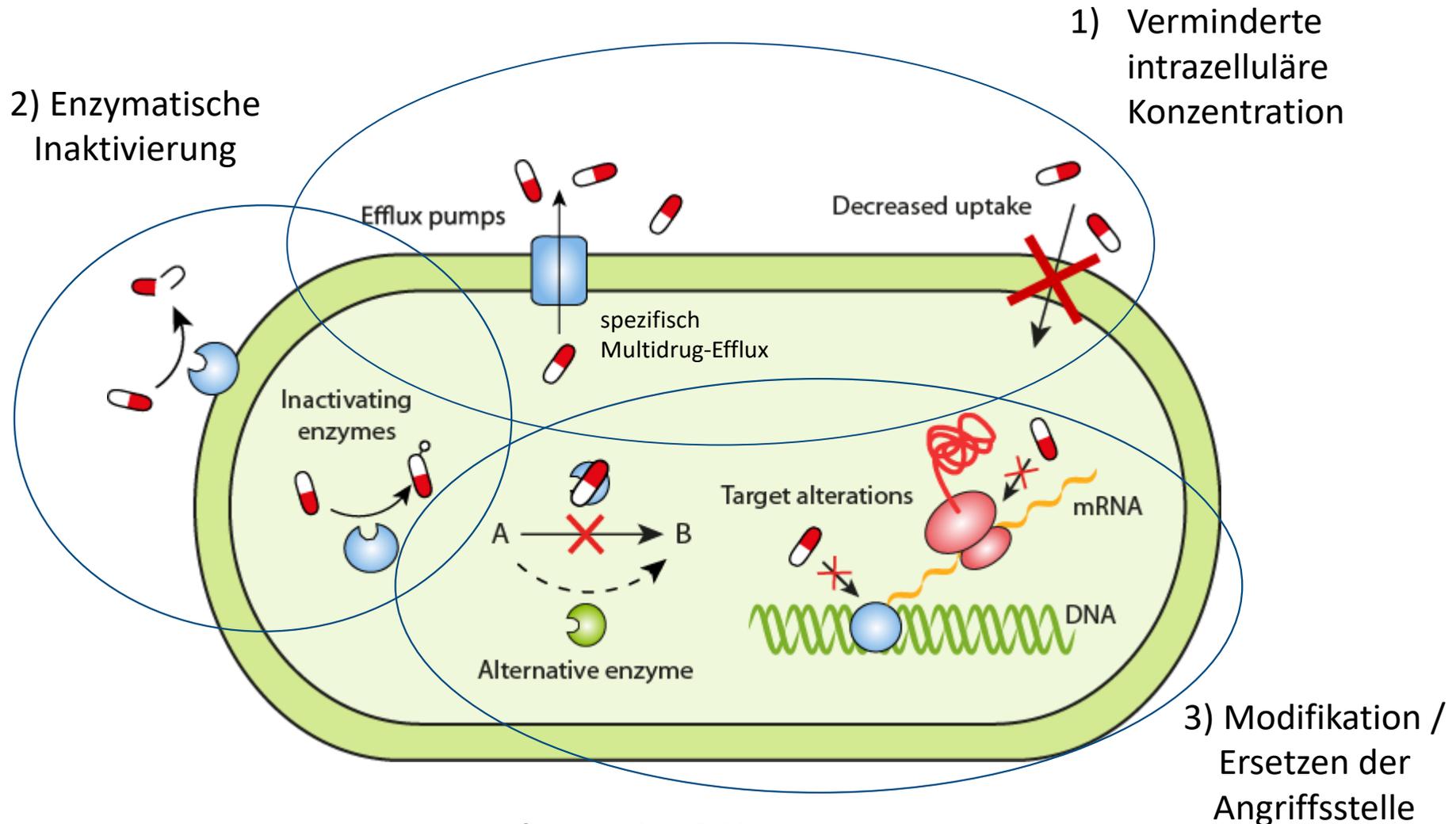


Kommensale Flora

Pathogene Keime (Zoonoseerreger)



Mechanismen der Antibiotikaresistenz



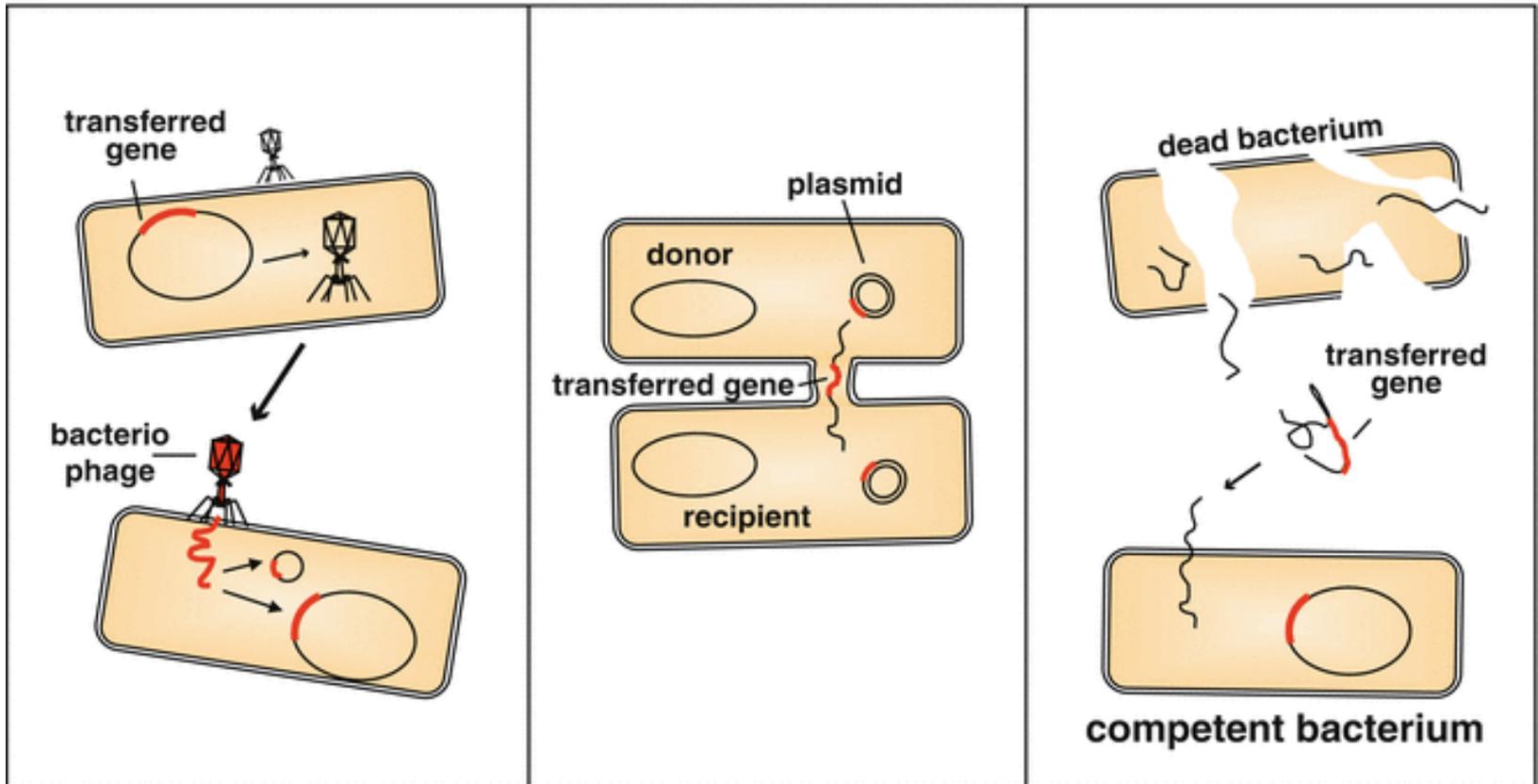
modifiziert nach E. Gullberg
www.reactgroup.org

Wege der Übertragung

Transduktion

Konjugation/Mobilisierung

Transformation



<https://link.springer.com/protocol/10.1007/8>

623_2015_46

Aktuelle Problemfelder Antibiotikaresistenz

Mikroorganismen:

- Carbapenem-resistente Enterobacteriaceae
- Antibiotika-resistente *Campylobacter*
- ESBL-produzierende Enterobacteriaceae
- Vancomycin-resistente *Enterococcus* (VRE)
- Antibiotika-resistente nicht-typhöse *Salmonella*
- Colistinresistenz bei *E. coli* und Salmonellen
- Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)
-

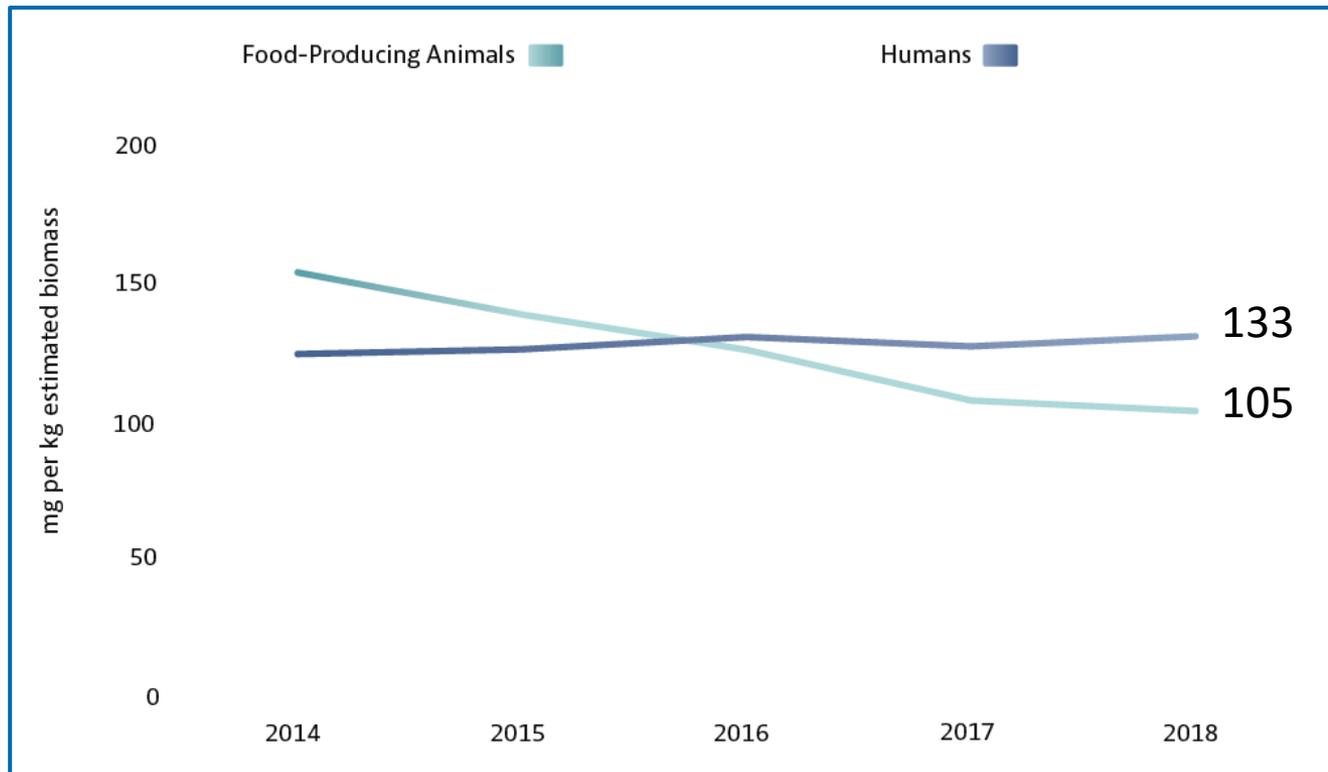
Lösungsansätze

Reduktion des Selektionsdrucks durch Senkung des Antibiotikaverbrauchs

Reduktion des Antibiotikaverbrauchs EU/EWR

Reduktion (2011-2020): 23% Mensch und 43% LM-liefernde Tiere

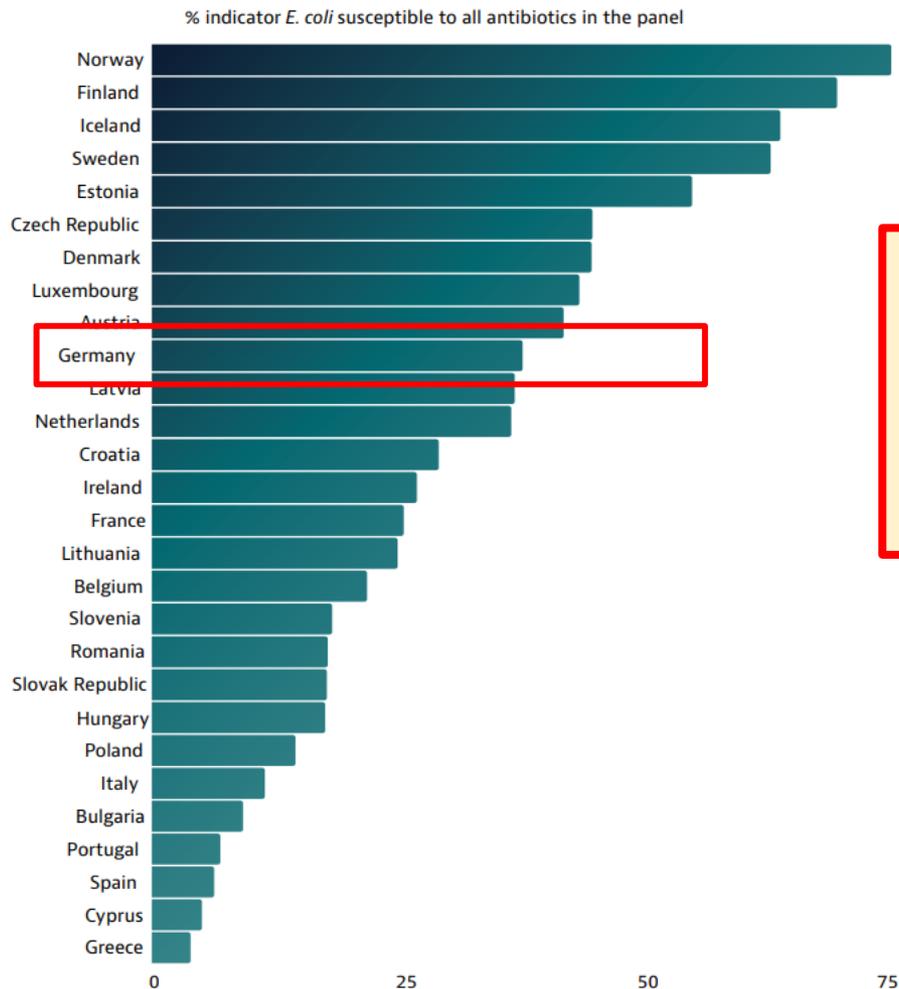
Verbrauch von Antibiotika bei Menschen und zur Lebensmittelerzeugung gehaltenen Tieren, in 27 EU/EWR Ländern (bevölkerungsgewichteter Mittelwert), 2014-2018



2018:
4264 t Mensch
6358 t LM-liefernde Tiere

Quelle: ECDC, EFSA, EMA (2021)

Prozentsätze empfindlicher *E. coli* von LM-liefernden Tieren



Was steht einem „Verschwinden“ von Resistenzdeterminanten entgegen.....?

Problem der Persistenz

Nurseothricin: Streptothricin Antibiotikum – ehem. DDR 1983

Einziges Applikations- Wachstumsförderer

1985 Transposon-kodierter Resistenzmechanismus in *E. coli*
(Streptothricin Acetyltransferase Gene *sat*) und auf Genkassetten

Einsatz gestoppt nach Wiedervereinigung 1990

Ausbreitung in Abwesenheit von Selektionsdruck (*Salmonella*, *Shigella*)



International Journal of Antimicrobial Agents 16 (2000) S19–S24

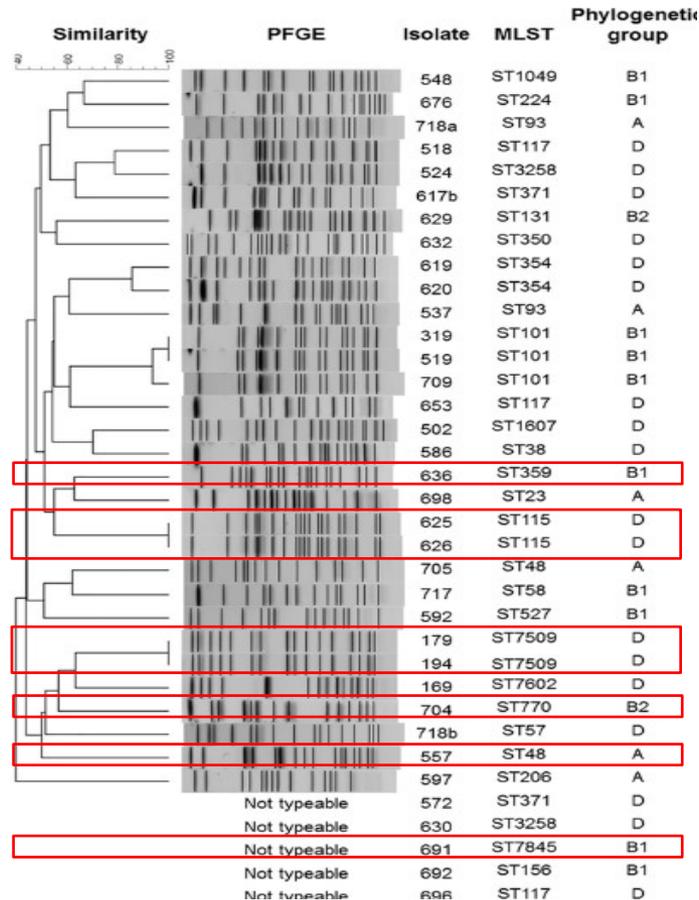


Selective pressure by antibiotic use in livestock

Wolfgang Witte *

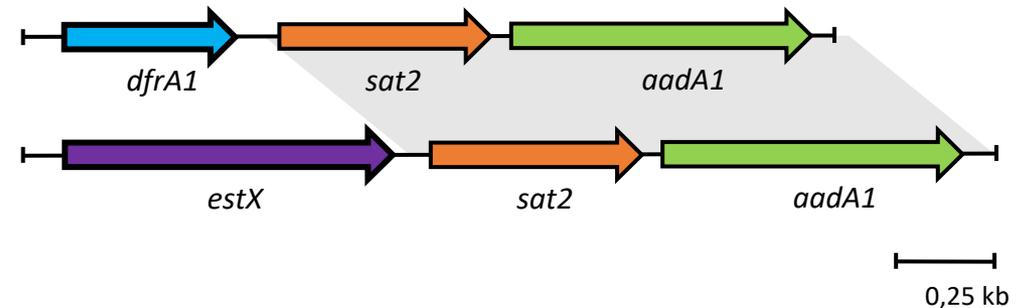
sat2-Gene bei *E. coli* von Lebensmitteln

Dr. Anja Müller



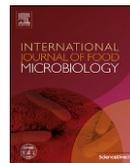
36 ESBL-bildende *E. coli* von Geflügelfleisch und Schweinefleisch

8 Isolate trugen *sat2*-Gene in Klasse II Integrons



ESBL- and AmpC-producing *Escherichia coli* from legally and illegally imported meat: Characterization of isolates brought into the EU from third countries

Anja Müller^a, Wiebke Jansen^b, Nils Th. Grabowski^a, Stefan Monecke^{c,d}, Ralf Ehrlich^{c,d}, Corinna Kehrenberg^{a,*}



Co-Selektionsmechanismen

Glaesserella (Haemophilus) parasuis



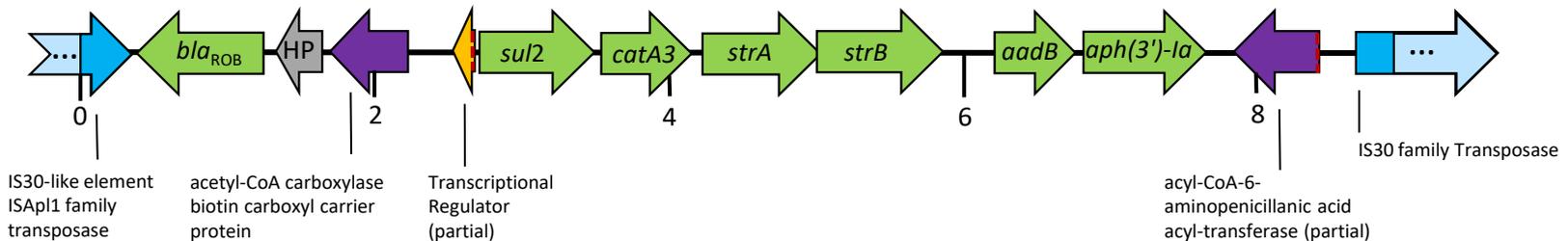
Glaessersche Krankheit
Respiratorische Symptomatik
Polyarthritits
Polyserositis
Meningitis



Screening der Stammsammlung von 142 Isolaten:
Isolate mit auffälligem phänotypischen Resistenzmuster

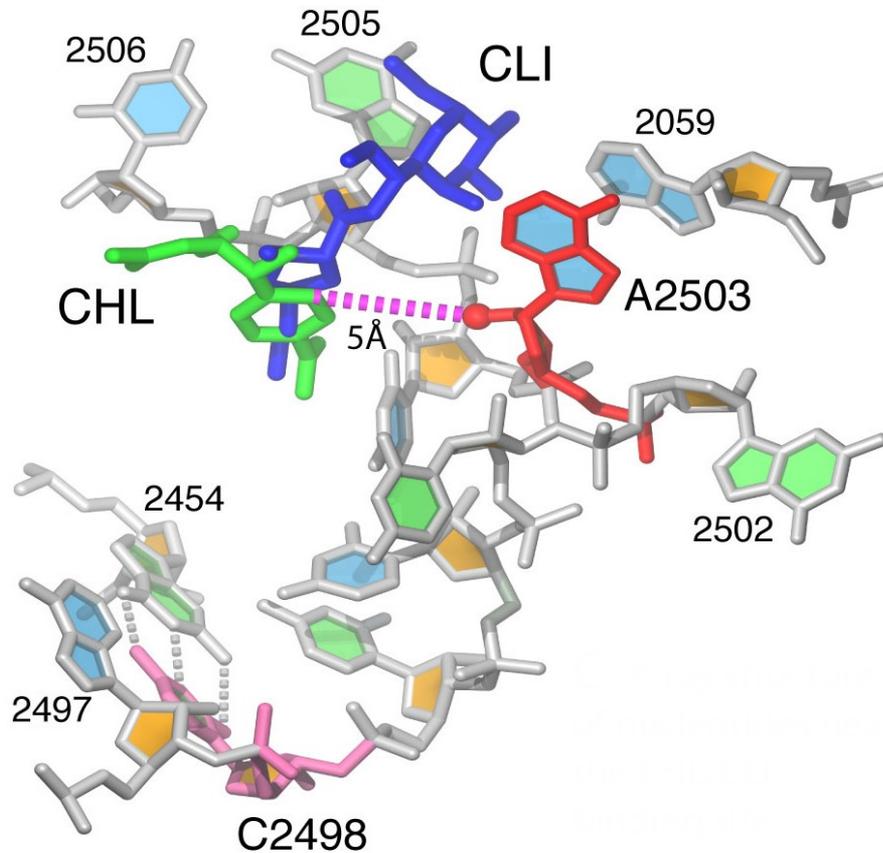
Dr. Anja Müller

Gesamtgenomsequenzierungen



Kreuzresistenz: Multiresistenz durch *cfr*

Cfr-vermittelte Methylierung an m⁸A2503



m⁸A2503 ist nur 5Å entfernt von der Bindungsstelle für Chloramphenicol/Florfenicol und Clindamycin



Zusätzliche Methylierung an m⁸A2503 hemmt die korrekte Positionierung von Phenicolen und Clindamycin



Resistenz gegenüber Phenicolen und Clindamycin

Vorkommen und klinische Relevanz

Vorkommen Tier

Nasentupfer 846 Schweine:
110 *S. aureus*:

1 *S. aureus*

302 vorselektierte Staphylokokken:

2 *S. lentus*

2 *S. simulans*

1 *S. sciuri*

1 *S. aureus*

30 Schweine und Personal, Serbien:

1 *S. aureus*

1 *S. lentus*

- MRSA ST398, *spa*-Typ t034
- MRSA ST398, *spa*-Typ t011
- MSSA ST09, *spa*-Typ t3198

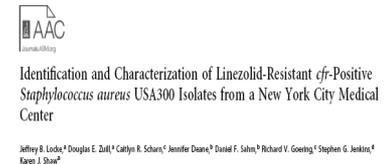


Fälle beim Menschen

Tödlicher Verlauf einer Infektion
mit einem *cfr*-positiven Methicillin-
resistenten *S. epidermidis* ST22



New York City medical center
3 *S. aureus* USA300



12 Patienten auf Intensivstation
3 Patienten auf weiteren Stationen
Ausbruch von Linezolid resistenten
S. aureus

Resistance to Linezolid Is Mediated by the *cfr* Gene in the First Report of an Outbreak of Linezolid-Resistant *Staphylococcus aureus*

Gracia Morales^a, Juan J. Picazo^a, Elvira Baos^a, Francisco J. Candel^a, Ana Arribas^a, Beatriz Peláez^a, Raquel Andrade^a, María Angeles de la Torre^a, José Peres^a, and Miguel Sanchez-García^a

Clinical Infectious Diseases 2010;50:821-825

Empfindlichkeitstestungen und gezielte antimikrobielle Therapie

Empfindlichkeitstestungen veterinärpathogener Erreger

Rechtsvorschriften: Verordnung über tierärztliche Hausapotheken

§

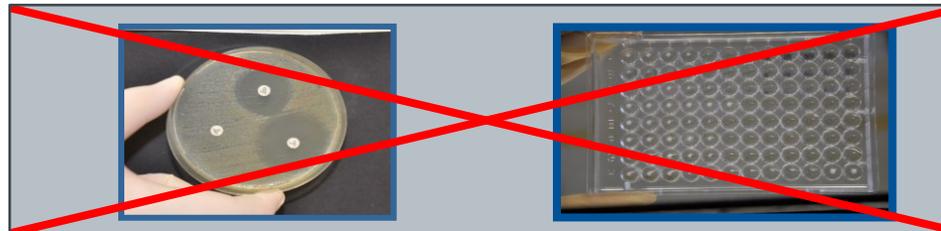
⇒ Bei Behandlung von Nutztieren mit Antibiotika ist in vielen Fällen die Durchführung eines Antibiogramms nach Isolierung eines bakteriellen Erregers vorgesehen

Zur Empfindlichkeitstestung einiger veterinärmedizinisch relevanter Erreger von Schweinen, vom Geflügel oder vom Rind gibt es

keine oder keine anerkannten Durchführungsvorschriften



Ein Antibiogramm kann nicht oder nicht nach einem standardisierten Verfahren erstellt werden !



Erarbeitung von Methoden zur Empfindlichkeitstestung

Diss. Franziska Gütgemann
Lisa Käbisch

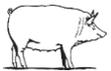
Gütgemann et al. JAM 2022
Gütgemann et al. JCM in revision



- Bordetella avium*
- Avibacterium gallinarum*
- Avibacterium paragallinarum*
- Mycoplasma (Mycoplasma) gallisepticum*



- Mycoplasma (Mycoplasma) bovis*



- Mycoplasma (Mesomycoplasma) hyorhinis*
- Mycoplasma (Mesomycoplasma) hyopneumoniae*

Projekt:

„Standardisierung der Antibiotikaresistenzdiagnostik,
Empfehlungen der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft“



Erste Daten zur Empfindlichkeit von *B. avium*

49 *B. avium*-Isolate

Anzahl an Isolaten mit MHK-Wert [µg/ml] von

Antimikrobieller Wirkstoff	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Amoxicillin/Clavulansäure (2:1)			9 ^g	9	22	7	10		1										0.12	0.50
Ampicillin				20	11	9	5	3	1										0.12	0.50
Cefoperazon				2*	23	4	4	16											0.12	1.00
Cefotaxim					9	19	4	8	8		1								0.25	2.00
Cefquinom							8	22	5	12	2								1.00	4.00
Ceftiofur						17	11	7	8	5	1								0.50	4.00
Cephaothin							8	37	4										1.00	1.00
Ciprofloxacin							39	10											0.50	1.00
Colistin							11	26	10	2									1.00	2.00
Doxycyclin				8*	27	8	1			1	2	2							0.12	4.00
Enrofloxacin						17	27	5											0.50	1.00
Florfenicol								5	39	4			1						2.00	4.00
Gentamicin								15	32	2									2.00	2.00
Imipinem						1	16	32											1.00	1.00
Marbofloxacin						12	34	3											0.50	0.50
Nalidixinsäure									1	19	28	1							8.00	8.00
Neomycin									25	22	2								2.00	4.00
Penicillin						1	25	8	6	7	1	1							0.50	4.00
Streptomycin											1	27	18	1	1			1*	16.00	32.00
Tetracyclin				8*	31	4	1							2	3				0.25	64.00
Tiamulin										5	9	13	4	1	17*				16.00	≥128.00
Tilmicosin											3	27	5	8	6				16.00	128.00
Trimethoprim /Sulfamethoxazol (1:19)				1	30	10	2	3	1	1				1*					0.12	1.00
Tulathromycin										11	15	8	15						8.00	32.00

Minimierung (resistenter) Erreger

- Einsatz biozider Substanzen

- Einsatz von Bakteriophagen
- Einsatz von kaltem Plasma
- Einsatz von Peroxyessigsäure

-

Dr. Yuri Churin, Dorothee Serian
Dr. Karolina Lis
Dr. Rilana Bertram

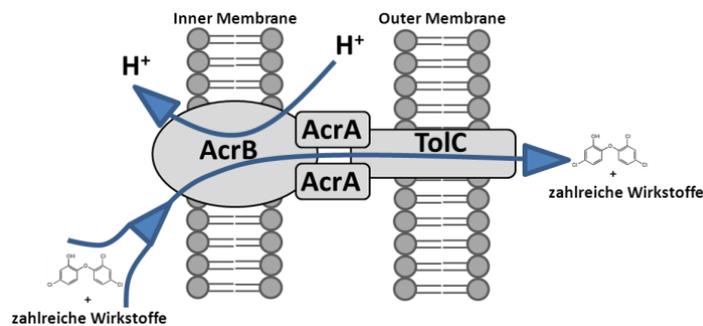
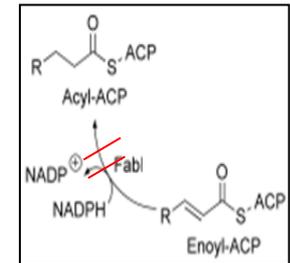
Beispiel für den Einsatz biozider Substanzen

Triclosan

Einsatz in Europe, North Amerika, Asien, Australien

Das am meisten verwendete Biozid in den USA

- Anwendung in D seit 1965
- Aktive Substanz in:
- Hemmt die ACP-Reductase (FabI) im Fettsäure-Biosyntheseweg



- Nalidixinsäure
- Fluorchinolone
- β -Lactam Antibiotika
- Chloramphenicol
- Tetracycline
- Rifampicin
- Novobiocin
- Triclosan
- Gallensäuren
- Fettsäuren
- Natriumdodecylsulfat
- Triton X-100
- Acriflavine

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008) 61, 156–162
doi:10.1093/jac/dkm415
Advance Access publication 12 November 2007

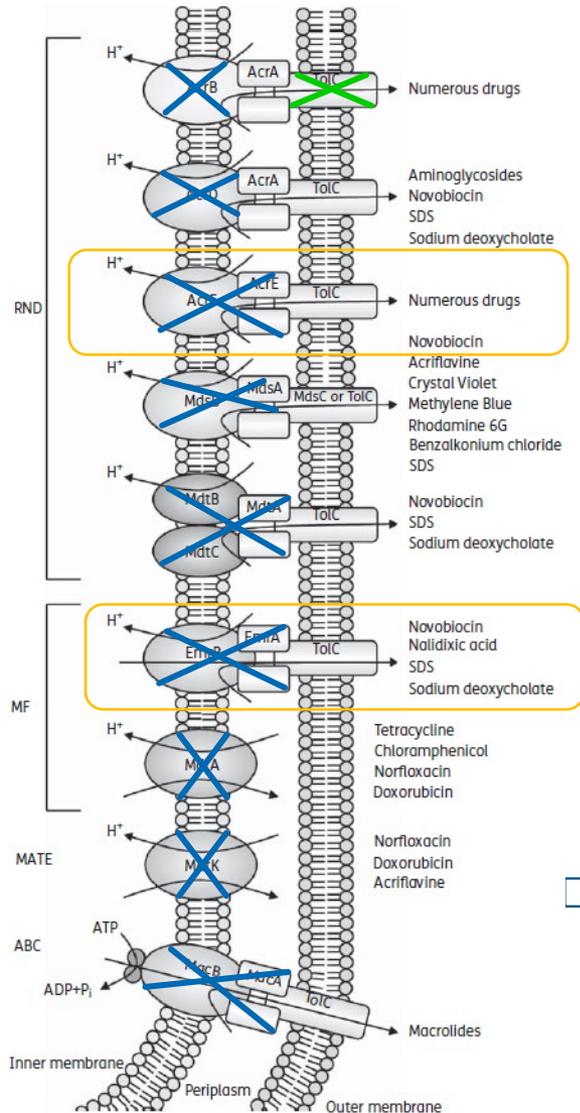
Fitness and dissemination of disinfectant-selected multiple-antibiotic-resistant (MAR) strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens

Luke P. Randall^{1*}, M. C. Bagnall¹, K. A. Karatzas², Nick C. Coldham¹,
Laura J. V. Piddock³ and Martin J. Woodward¹

JAC

Beteiligung von Effluxpumpen an der Triclosantoleranz

Dr. Ulrike Fiegen



Deletionsstudien

Stämme und Charakteristika		MHK _{TRC} (mg/L)	MPC _{TRC} 48 h (mg/L)
ATCC 14028s	wilde-type	0.25	16
ATCC 14028s	Δ acrB::aph	0.032	1
ATCC 14028s	Δ emrAB::cat	0.125	16
ATCC 14028s	Δ acrEF	0.125	16
ATCC 14028s	Δ mdtABC::cat	0.25	16

Komplementationsstudien

ATCC 14028s	Δ acrB::aph / vector	0.032	nt
ATCC 14028s	Δ acrB::aph / pacrAB	0.125	16
ATCC 14028s	Δ acrB::aph / pemrAB	0.125	4
ATCC 14028s	Δ acrB::aph / pacrEF	0.125	4
ATCC 14028s	Δ acrB::aph / pmdtABC	0.032	1

4-facher Anstieg beobachtet

Die Effluxpumpen EmrAB und AcrEF spielen eine Rolle bei der Triclosantoleranz und unterstützen die Haupt Effluxpumpe AcrAB-TolC

Biozidtoleranz bei MRSA und MSSA

Biozideinsatz z.B. Reduktion von resistenten Bakterien auf Oberflächen

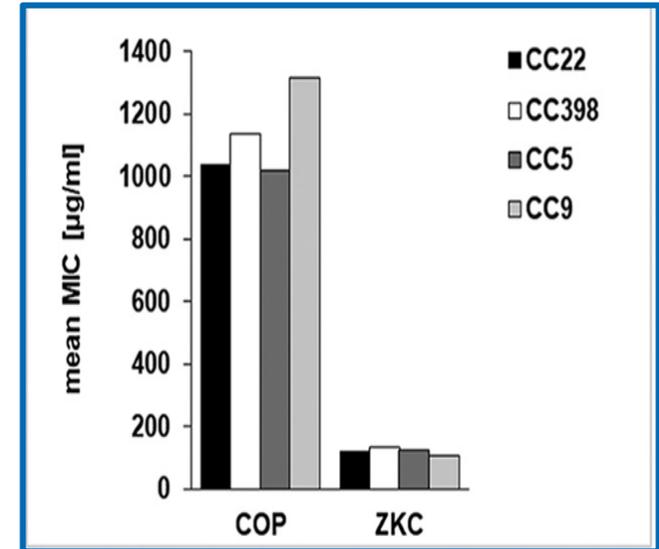
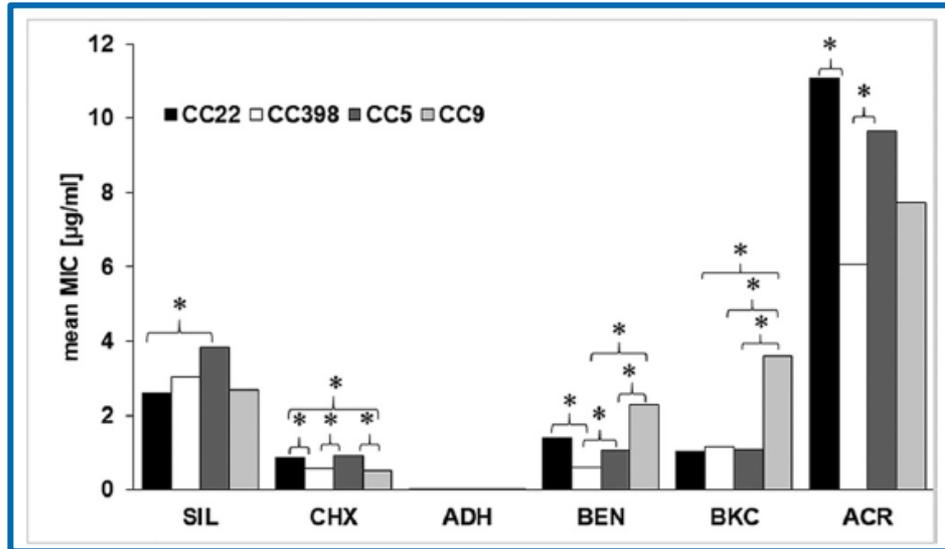
Verteilung von MHK-Werten von *S. aureus* gegenüber Bioziden und Schwermetallen

Biocide	Origin of isolates	Number of isolates with MIC value (µg/ml) of																			MIC ₅₀	MIC ₉₀		
		0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192			>8192	
ACR	human						5*	18	70	25	1												8	16
ACR	animal							18	44	1													8	8
ADH	human	103*	15	1																			≤ 0.06	≤ 0.06
ADH	animal	59*	1	3																			≤ 0.06	≤ 0.06
BKC	human						114*	1	2	1		1											≤ 2	≤ 2
BKC	animal						56*	6		1													≤ 2	4
BEN	human						73*	37	9														≤ 1	2
BEN	animal						55*	1	7														≤ 1	4
CHX	human		1	1	59	52	5	1															0.5	1
CHX	animal		1		52	7	3																0.5	1
COP	human												4	113	1	1							1024	1024
COP	animal											3	52	2	5	1							1024	2048
SIL	human						36	71	10	2													4	4
SIL	animal						43	16	4														2	4
ZKC	human										1	42	74	2									128	128
ZKC	animal										1	10	49									3*	128	128

*ACR, acriflavine; ADH, alkyldiaminoethyl glycine hydrochloride; BKC, benzalkonium chloride; BEN, benzethonium chloride; CHX, chlorhexidine; COP, copper sulfate; SIL, silver nitrate; ZKC, zinc chloride. Asterisks indicate the number of isolates exhibiting a MIC that is greater than the highest concentration tested or less than or equal to the lowest concentration tested. The white and light-colored areas represent the tested ranges of biocides.

Dr. Isa Kernberger
Dr. Daniela Deus

Abhängigkeit der Toleranzentwicklung



Biocide or heavy metal	MIC (µg/ml)	No. of isolates investigated ^a	No. of isolates positive for gene ^b								
			<i>lmrS</i>	<i>mepA</i>	<i>norA</i>	<i>sepA</i>	<i>qacA/B</i>	<i>qacG</i>	<i>qacH</i>	<i>qacJ</i>	<i>smr</i>
Quaternary ammonium compounds			<i>lmrS</i>	<i>mepA</i>	<i>norA</i>	<i>sepA</i>	<i>qacA/B</i>	<i>qacG</i>	<i>qacH</i>	<i>qacJ</i>	<i>smr</i>
Benzalkonium chloride	≥4	12	11	12	9	3	2			1	
Benzethonium chloride	≥4	16	16	16	11	4	1	2	1	2	
Acriflavine	≥16	27	21	27	21	19				2	
Bisbiguanides			<i>lmrS</i>	<i>mepA</i>	<i>norA</i>	<i>sepA</i>	<i>qacA/B</i>	<i>qacG</i>	<i>qacH</i>	<i>qacJ</i>	<i>smr</i>
Chlorhexidine	≥2	9	8	9	5	3					
Heavy metal ions			<i>copA</i>	<i>mco</i>	<i>czrC</i>						
Copper sulfate	≥4,096	7	1	5	NT						
Zinc chloride	>8,192	3	NT	NT	3						

Vielen Dank

Viele Faktoren und Mechanismen beeinflussen die Selektion von resistenten (und multiresistenten) Bakterien.

“Die Überwachung des Antibiotikaresistoms ist der Schlüssel zur Erhaltung der Wirksamkeit von Antibiotika in der Klinik.”



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Current Opinion in
Microbiology

The antibiotic resistome: what's new?

Julie Ann Perry¹, Erin Louise Westman¹ and Gerard D Wright



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit