

# „Neue Resistenzen“ – zwei sehr unterschiedliche Geschichten



**Dr. Jens A. Hammerl**

Nationales Referenzlabor für Antibiotikaresistenz (NRL-AR)

Fachgruppe Epidemiologie, Zoonosen und Antimikrobielle Resistenzen

Abteilung Biologische Sicherheit

Bundesinstitut für Risikobewertung

# Bedeutung von antimikrobiellen Resistenzen



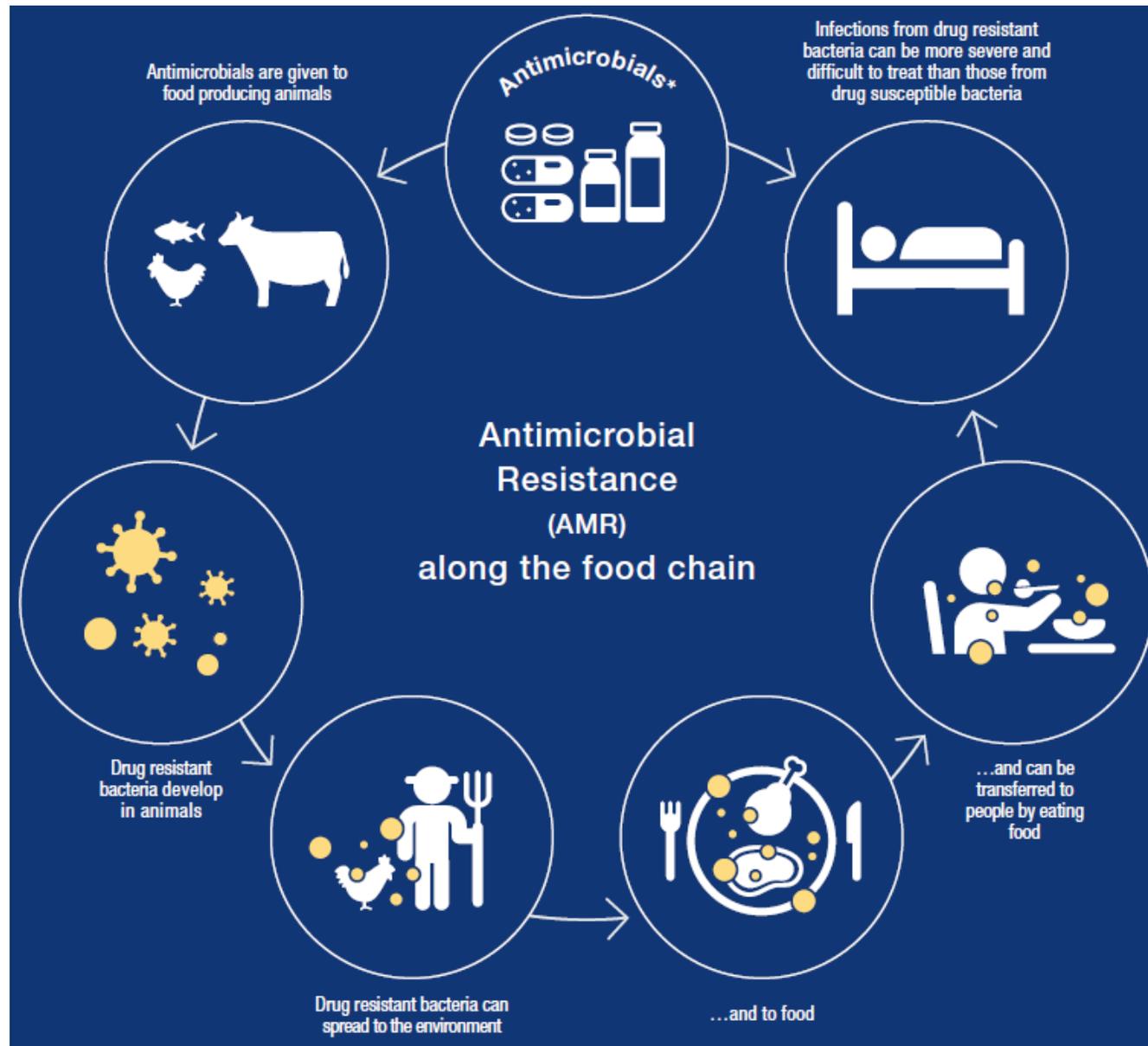
<https://www.nice.org.uk/news/article/calls-for-nhs-to-curb-inappropriate-antibiotic-prescribing> Bild 5 von 7

- Limitierung der Therapieoptionen bei Infektionskrankheiten
- hohe Gefährdung der öffentlichen Gesundheit
- Extreme ökonomische Verluste und Ausfälle zu erwarten

# Resistenzverbreitung: Ein Wettlauf gegen die Zeit

- hohe Relevanz der Erforschung neuer Antibiotika
- Entwicklung von Reserveantibiotika ist essentiell
- sachgerechter ärztlicher Einsatz von Antibiotika

# Resistenzverbreitung: Ein Wettlauf gegen die Zeit



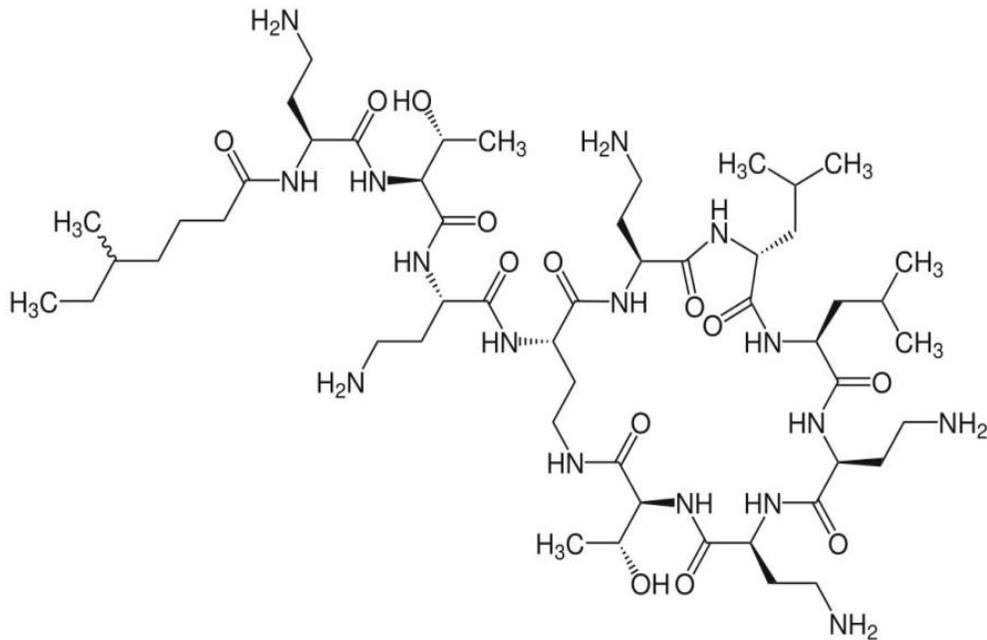
WHO CIA list 5th rev. : <http://who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-fifth/en/>

AGISAR: [http://who.int/foodsafety/areas\\_work/antimicrobial-resistance/agisar/en](http://who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/agisar/en)

© World Health Organization 2017. Some rights reserved. This work is available under the CC BY-NC-SA 3.0 IGO licence  
WHO/NMH/FOS/FZD/17.1

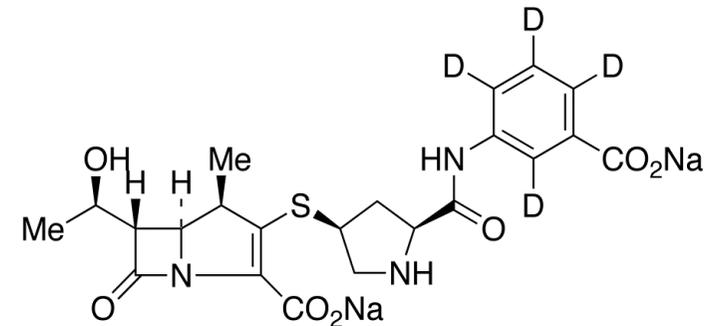
# „Neue Resistenzen“ – zwei sehr unterschiedliche Geschichten

## Reserveantibiotika



**Colistin  
(Polymyxin E)**

## Carbapeneme (z.B. Ertapenem)

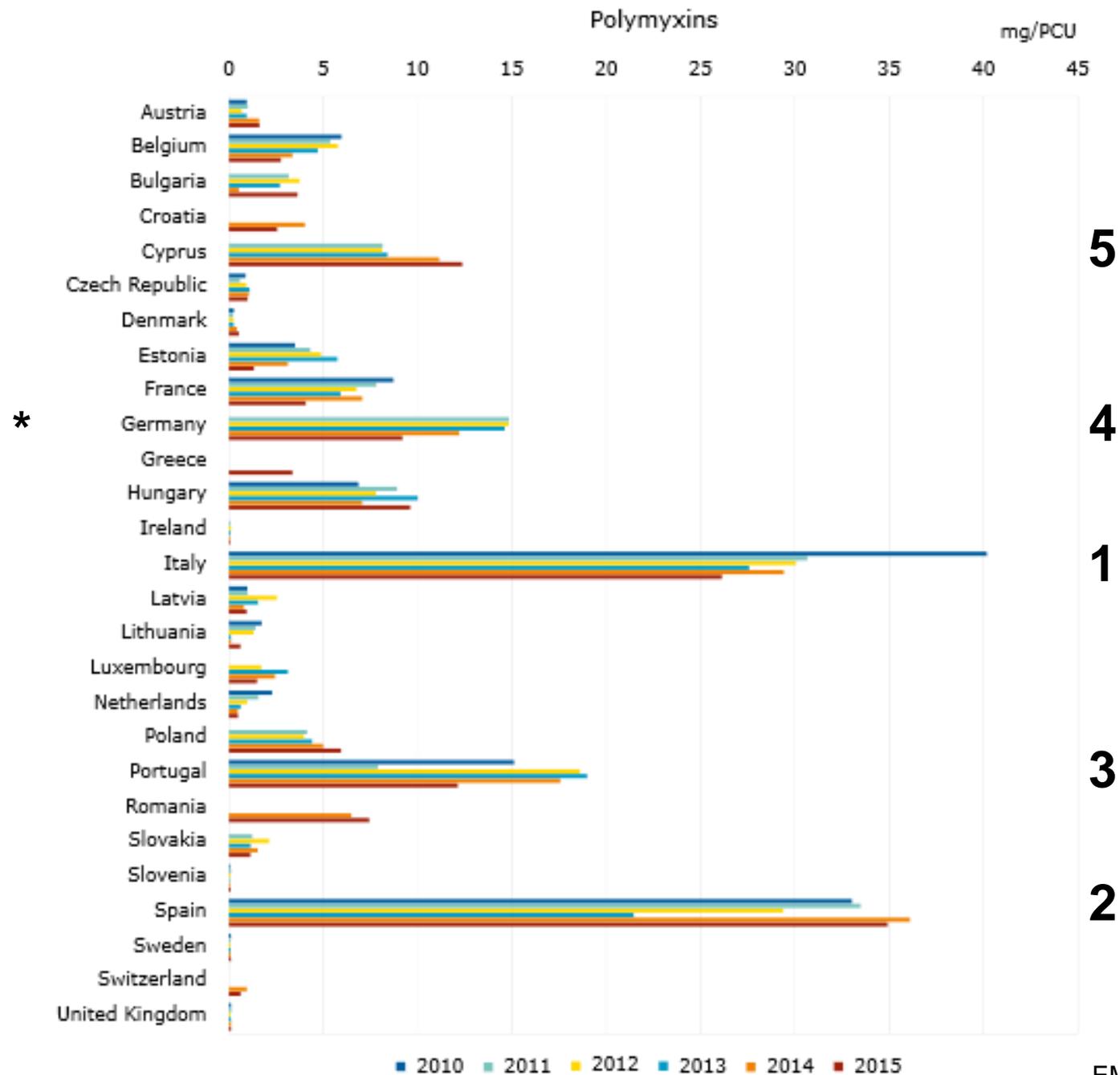




# Bedeutung von Colistin in der Veterinärmedizin

- große Bedeutung in Geflügel-, Schweine- und Kälbermast
- zweithäufigstes Antibiotika in der Putenmast (NRW)
- keine systemische Wirkung (kurze Wartezeit)
  
- Deutschland (2014): 107 Tonnen (Tendenz sinkend)
- weltweit (2014): 11.942 Tonnen (Tendenz steigend)

# Polymyxin Antibiotikaverbrauch pro kg Nutztier im Land



EMA, 2015

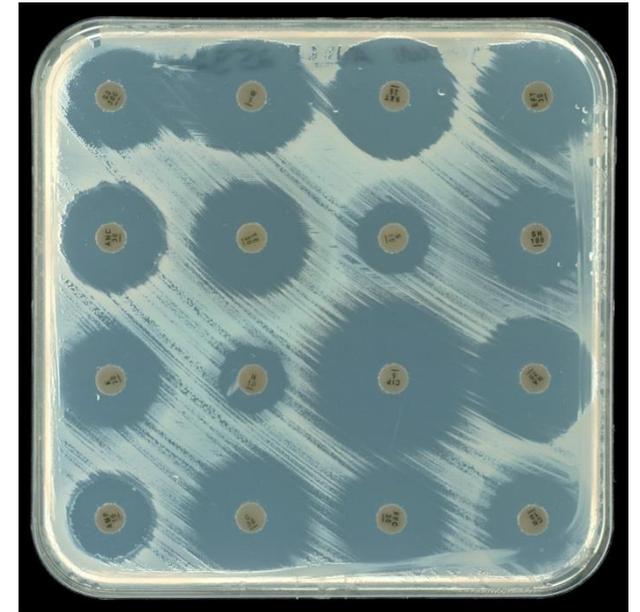
# Colistinresistenz in Gram-negativen Bakterien

## Intrinsische Resistenz

z.B. *Proteus* spp., *Burkholderia* spp.

## Erworbene (extrinsische) Resistenz

- Effluxpumpen (z.B. Yersinien, Klebsiellen)
- Veränderung der Kapselzusammensetzung (Klebsiellen)
- Verlust des LPS (*A. baumannii*)
- **Modifikationen der äußeren Membran bzw. LPS (Deacylierung, Hydroxylierung, Anlagerung von Aminoarabinose oder Phosphoethanolamin)**



# Colistinresistenz: Ein Paradigmenwechsel

- Chromosomal-assoziierte Resistenz  
(Punktmutationen beeinflussen die Polarität der Zellmembran)
- keine Beschreibung spezifischer Colistin-Resistenzgene
- Resistenz ist nicht übertragbar

# THE LANCET Infectious Diseases

[Online First](#) [Current Issue](#) [All Issues](#) [Multimedia](#) [Information for Authors](#)

All Content

Search

[Advanced Search](#)

[< Previous Article](#)

Volume 16, No. 2, p161–168, February 2016

[Next Article >](#)

Articles

## Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study

Yi-Yun Liu, BS<sup>†</sup>, Yang Wang, PhD<sup>†</sup>, Prof Timothy R Walsh, DSc, Ling-Xian Yi, BS, Rong Zhang, PhD, James Spencer, PhD, Yohei Doi, MD, Guobao Tian, PhD, Baolei Dong, BS, Xianhui Huang, PhD, Lin-Feng Yu, BS, Danxia Gu, PhD, Hongwei Ren, BS, Xiaojie Chen, MS, Luchao Lv, MS, Dandan He, MS, Hongwei Zhou, PhD, Prof Zisen Liang, MS, Prof Jian-Hua Liu, PhD  , Prof Jianzhong Shen, PhD  

<sup>†</sup> Contributed equally

Published: 18 November 2015

# Colistinresistenz: Ein Paradigmenwechsel

- chromosomal-assoziierte Resistenz

(Punktmutationen beeinflussen die Polarität der Zellmembran)

- Nachweis spezifischer Colistin-Resistenzgene
- Resistenz ist mobil (Transposon)
- Resistenz ist übertragbar (konjugatives bzw. mobilisierbares Plasmid)

THE LANCET Infectious Diseases

Online First · Current Issue · All Issues · Multimedia · Information for Authors  
All Content Search Advanced Search

< Previous Article Volume 16, No. 2, p161-168, February 2016 Next Article >

Articles

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study

Yi-Yun Liu, BS<sup>1</sup>, Yang Wang, PhD<sup>1</sup>, Prof Timothy R Walsh, DSc, Ling-Xian Yi, BS, Rong Zhang, PhD, James Spencer, PhD, Yohel Doi, MD, Guobao Tian, PhD, Baolei Dong, BS, Xianhui Huang, PhD, Lin-Feng Yu, BS, Danxia Gu, PhD, Hongwei Ren, BS, Xiaojie Chen, MS, Luchao Lv, MS, Dandan He, MS, Hongwei Zhou, PhD, Prof Zisen Liang, MS, Prof Jian-Hua Liu, PhD, Prof Jianzhong Shen, PhD

<sup>†</sup> Contributed equally  
Published: 18 November 2015

**Horizontale und Vertikale Verbreitung der Resistenz möglich!**

## Ursache der Resistenzentwicklung und Maßnahmen zur Eingrenzung der Ausbreitung in China

- Colistin in Asien (China, Indien, Japan, Vietnam) auch als Futterzusatz oder Wachstumsbeschleuniger eingesetzt
- *mcr-1* Identifizierung und Prävalenzraten führen zu einer Re-Evaluierung des Einsatzes als Futterzusatz in China
- Colistin seit 2017 in China als Wachstumsbeschleuniger verboten

## Mobile Colistinresistenz: Lokales oder globales Resistenzproblem?

# Verbreitung des mobilen Colistin-Resistenzgens (*mcr-1*)

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 16, Issue 3, March 2016, Pages 282–283

Correspondence

Colistin resistant  
 $\beta$ -lactamase-producing  
Gram-negative bacteria

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 16, Issue 3, March 2016, Pages 288–289

Linda Falgenhauer<sup>a</sup>, Said-Eli  
Uwe Roesler<sup>c</sup>, Geovana Brer  
Cl

Correspondence

Carbapenem-resistant and colistin

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 16, Issue 3, March 2016, Pages 287–288

Correspondence

Emergence of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae

Hong Du<sup>a</sup>, Liang Chen<sup>b</sup>, , Yi-Wei Tang<sup>c</sup>, Barry N Kreiswirth<sup>b</sup>  
Stephan <sup>a</sup>

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 16, Issue 3, March 2016, Pages 286–287



Correspondence

Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* isolated from food animals in Hanoi, Vietnam

Surb

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 16, Issue 2, February 2016, Pages 147–149



Correspondence

Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene

Maris S Arcilla<sup>a, †</sup>, Jarne M van Hattem<sup>b, †</sup>, Sebastien Matamoros<sup>b</sup>, Damian C Melles<sup>a</sup>, John Penders<sup>d</sup>, Menno D de Jong<sup>b</sup>, Constance Schultsz<sup>b, c, </sup>, for the COMBAT consortium<sup>‡</sup>,

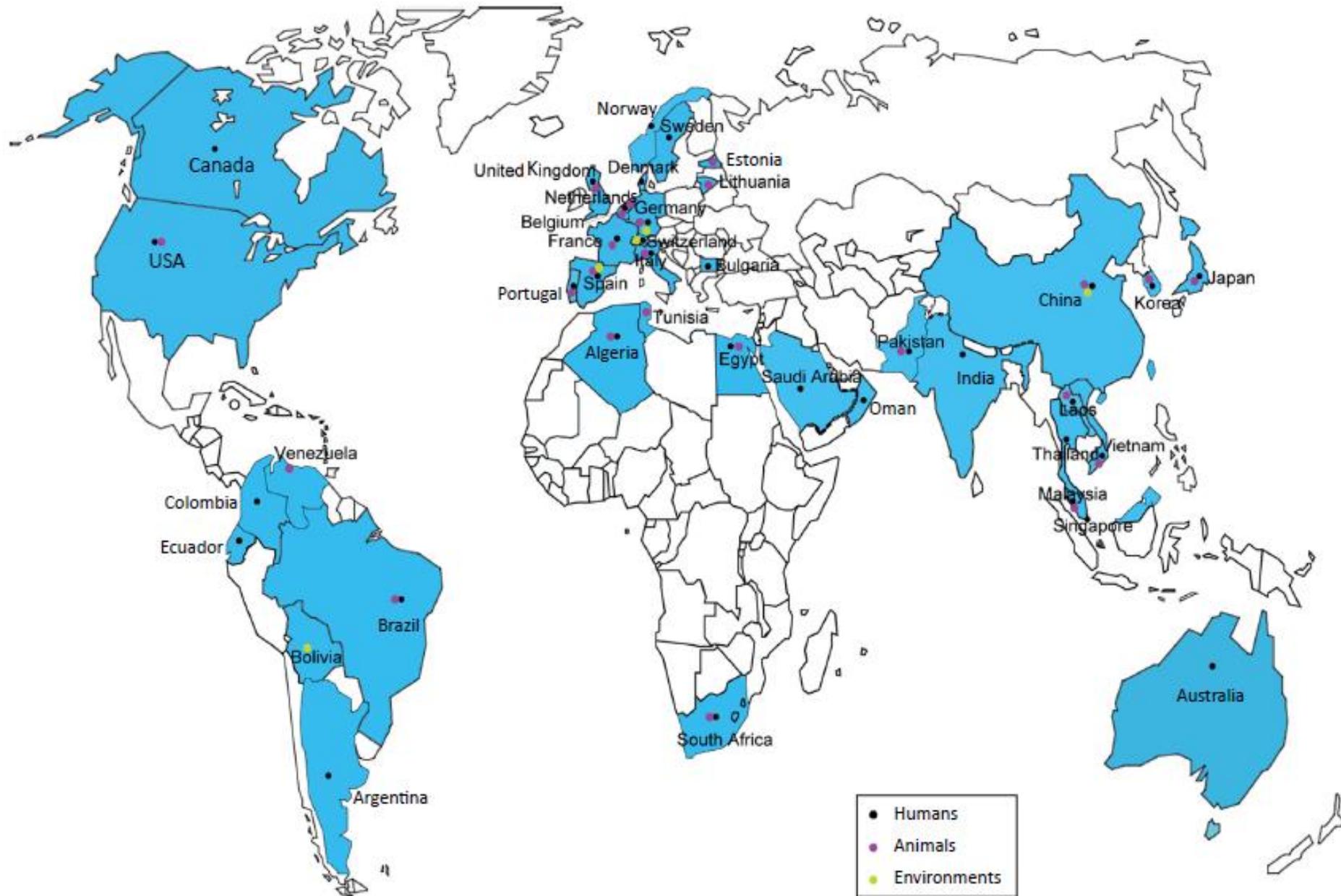
<sup>a</sup> Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus University Medical Centre,

obiology, Academic Medical Centre, Amsterdam, Netherlands  
<sup>b</sup> Amsterdam Institute for Global Health and Development, Academic Medical  
nds  
<sup>c</sup> obiology, Maastricht University Medical Centre, School for Nutrition,  
rd School for Public Health and Primary Care, Maastricht, Netherlands  
r 2015

**tin Resistance Gene in  
*Enterobacteriaceae* in  
in Switzerland**

nderbinen,<sup>a</sup> Herbert Hächler,<sup>a</sup> and Roger

# Die Welt rückt zusammen: *mcr-1* ist weltweit verbreitet



Sun et al., 2018 (Trends in Microbiology)

# Wie ist die *mcr-1* Situation in Isolaten aus Nutztieren/Lebensmitteln Deutschlands?



- NRL-AR: >15.000 kommensale *E. coli*-Isolate 2010-2015 in MHK-Testung
- ~5% Colistin-Resistenz (MIC >2 mg/l)
- ~80% *mcr-1* positiv (~4% aller Proben)
- Große Unterschiede zwischen den Tierarten

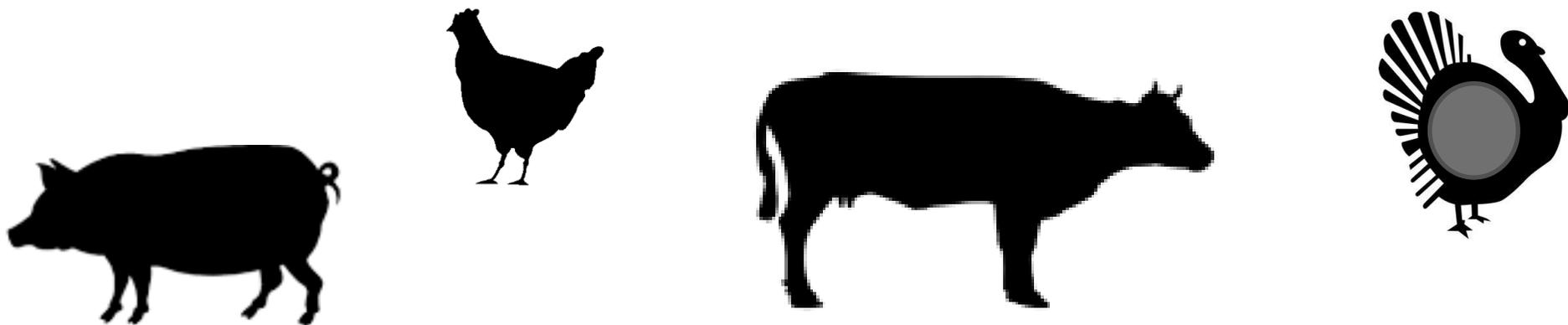
RESEARCH ARTICLE

## Prevalence of *mcr-1* in *E. coli* from Livestock and Food in Germany, 2010–2015

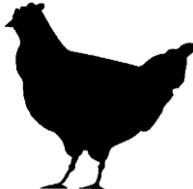
Alexandra Irrgang<sup>1</sup>\*, Nicole Roschanski<sup>2</sup>\*, Bernd-Alois Tenhagen<sup>1</sup>, Mirjam Grobbel<sup>1</sup>, Tanja Skladnikiewicz-Ziemer<sup>1</sup>, Katharina Thomas<sup>1</sup>, Uwe Roesler<sup>2</sup>, Annemarie Käsbohrer<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department Biological Safety, National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany, <sup>2</sup> Institute for Animal Hygiene and Environmental Health, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

\* These authors contributed equally to this work.



# Colistin-Resistenzverbreitung in Nutztieren/Lebensmitteln

| Isolatherkunft         | Colistin-resistent | <i>mcr-1</i> Nachweis |   |
|------------------------|--------------------|-----------------------|---|
| <b>Rind:</b>           | 0-0,9%             | n.n.                  |    |
| <b>Kalb (Fleisch):</b> | 0,8-14,5% (6,1%)   | 70,1-100% (25%)       |    |
| <b>Schwein:</b>        | 0,0-4,0%           | 43-75,4%              |   |
| <b>Huhn (Kot):</b>     | 5,1-8,9%           | 85,2-100%             |  |
| <b>Hühnerfleisch:</b>  | 1,2-9,3%           | 50-88,9%              |   |
| <b>Pute (Kot):</b>     | 11,8% (10-19,5%)   | 81,1-93,9%            |   |
| <b>Putenfleisch:</b>   | 4,3-9,2%           | ~90%                  |   |

**Tieferes Verständnis zur die Biologie und Genetik von Isolaten mit dieser Resistenzdeterminante nötig!**

# Genetische Variabilität des *mcr-1* Gens in deutschen *E. coli* Isolaten

- zahlreiche Varianten bekannt (*mcr-1.2* bis *mcr-1.XX*)

- molekulare Studie an ~700 *mcr-1* positiven *E. coli*

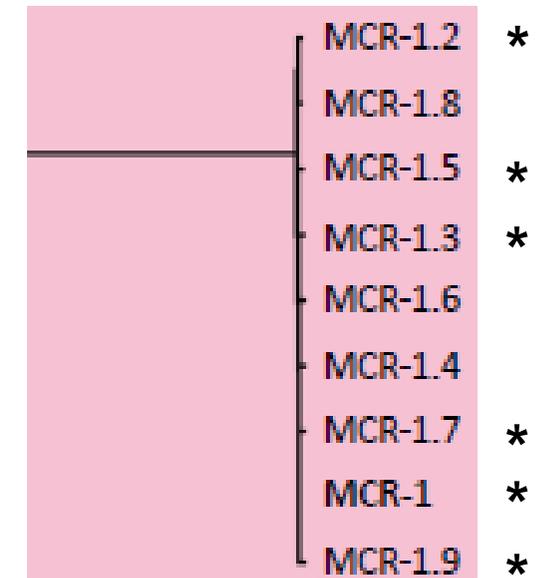
Isolaten: sieben *mcr-1* Varianten nachweisbar

- einzelne Aminosäureaustausche

- sporadisches Auftreten der Varianten

- keine erkennbarer Zusammenhang (Matrix, Isolationsjahr, Herkunft)

Sun et al., 2018  
(Trends in Microbiology)



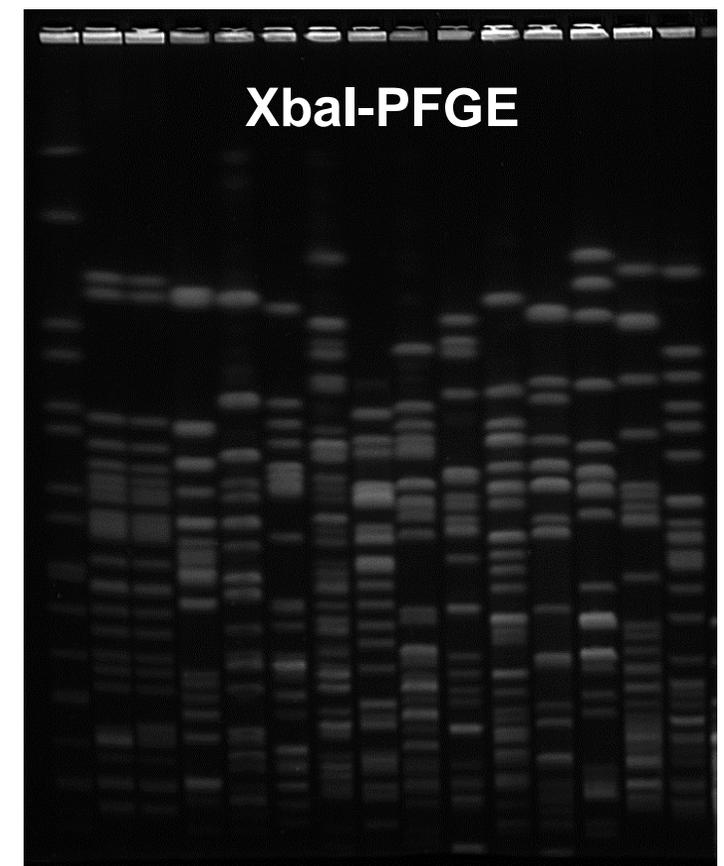
NEU: *mcr-1.12* \*

**Bedeutung der Varianten unbekannt**

# Genetische Variabilität der *mcr-1* positiven Isolate

- WGS (MiSeq): Charakterisierung Colistin resistenter *E. coli* (n>60)
- Bioinformatische Auswertung: hohe Diversität
  - WGS-basierte Serotypisierung, MLST- & cgMLST, etc.
  - *E. coli*-spezifischer Virulenzfaktoren
  - mobile genetische Elemente  
(Prophagen und Plasmide)
  - Antibiotikaresistenzgenen

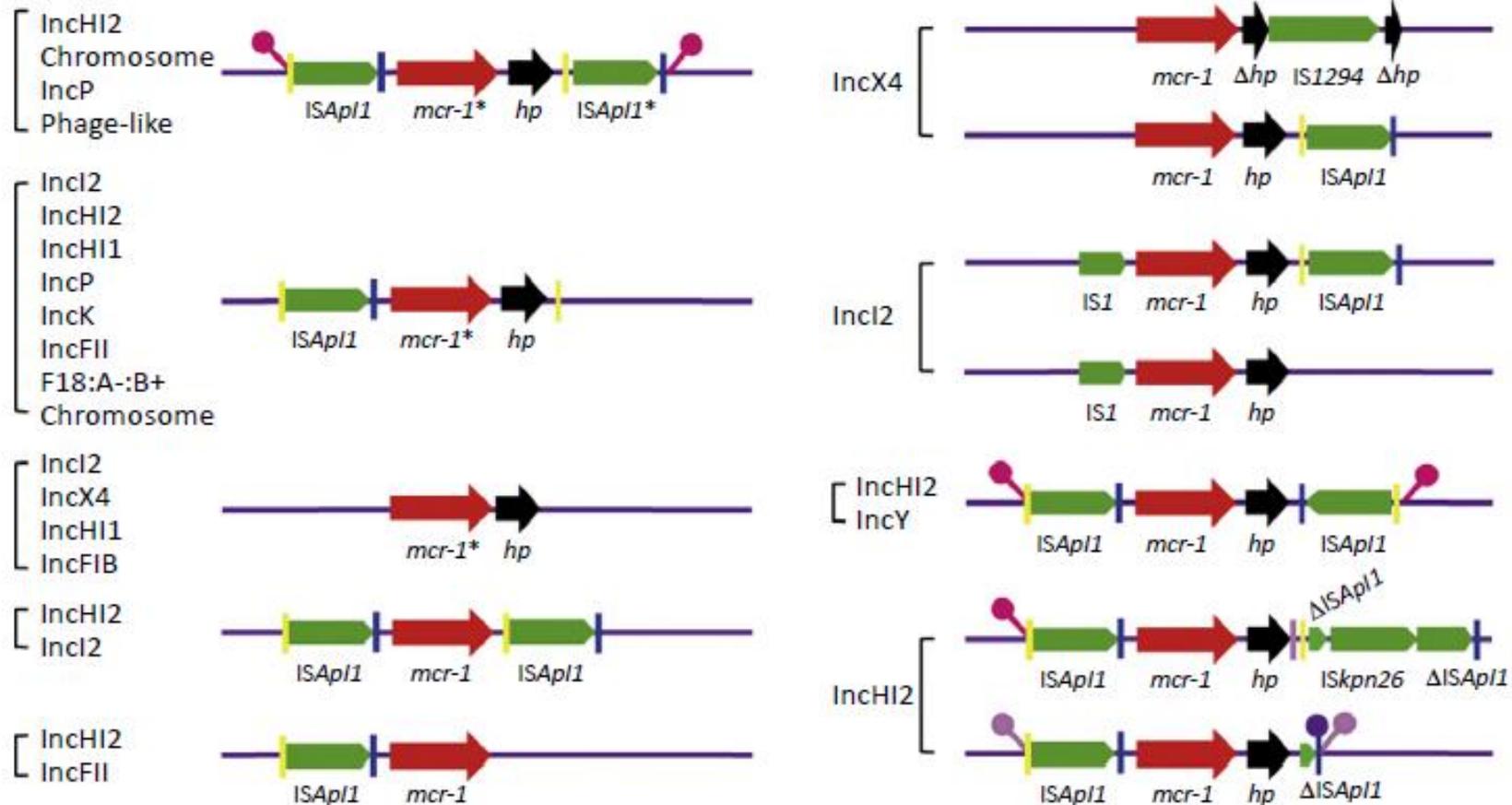
**Keine prädominanten klonalen Linien!**



# Genetische Variabilität *mcr-1* tragender Plasmide in *E. coli* Isolaten

- z.T. auch chromosomales Vorkommen von *mcr-1*
- Replikon & Rückgrat der Plasmide variabel
- *mcr-1* Transposon konserviert

Sun et al., 2018 (Trends in Microbiology)



**Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in *d*-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B**

Maria Borowiak<sup>1</sup>, Jennie Fischer<sup>1</sup>, Jens A. Hammerl<sup>1</sup>, Rene S. Hendriksen<sup>2</sup>, Istvan Szabo<sup>1</sup> and Burkhard Malorny<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>German Federal Institute for Risk Assessment, BfR, Department for Biological Safety, Berlin, Germany; <sup>2</sup>National Food Institute, Technical University of Denmark, WHO Collaborating Center for Antimicrobial Resistance in Foodborne Pathogens and European Union Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, Kgs Lyngby, Denmark

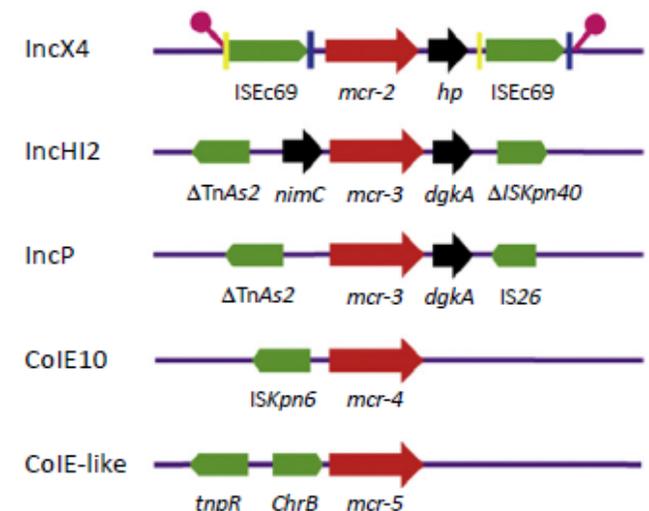
\*Corresponding author. Tel: +49-30-18412-2237; E-mail: Burkhard.Malorny@bfr.bund.de

Received 23 June 2017; returned 17 July 2017; revised 4 August 2017; accepted 4 August 2017

# Aktueller Überblick zu übertragbaren Colistin-Resistenzen

| Resistenzgen | Vorkommen   | Lokalisation                 | Literaturverweis       |
|--------------|---|------------------------------|------------------------|
| <i>mcr-1</i> | insb. Enterobacteriaceae: <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc. | plasmidal (z.T. chromosomal) | Liu et al., 2015       |
| <i>mcr-2</i> | Enterobacteriaceae: <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.                                      | plasmidal                    | Xavier et al., 2016    |
| <i>mcr-3</i> | Enterobacteriaceae: <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.                                      | plasmidal                    | Yin et al., 2017       |
| <i>mcr-4</i> | Enterobacteriaceae: <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.                                      | plasmidal                    | Carattoli et al., 2017 |
| <i>mcr-5</i> | Enterobacteriaceae: <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.                                      | plasmidal                    | Borowiak et al., 2017  |

- *mcr* Gene überwiegend plasmidal lokalisiert
- Plasmide selbst-transferierbar oder mobilisierbar
- Plasmide unterschiedlicher Inkompatibilitätsgruppen tragen *mcr*



Sun et al., 2018 (Trends in Microbiology)

RESEARCH ARTICLE

# Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes

Ana Rita Rebelo<sup>1</sup>, Valeria Bortolala<sup>1</sup>, Jette S Kjeldgaard<sup>1</sup>, Susanne K Pedersen<sup>1</sup>, Pimlapas Leekitcharoenphon<sup>1</sup>, Inge M Hansen<sup>1</sup>, Beatriz Guerra<sup>2</sup>, Burkhard Malorny<sup>3</sup>, Maria Borowiak<sup>3</sup>, Jens Andre Hammerl<sup>3</sup>, Antonio Battisti<sup>4</sup>, Alessia Franco<sup>4</sup>, Patricia Alba<sup>4</sup>, Agnes Perrin-Guyomard<sup>5</sup>, Sophie A Granier<sup>6</sup>, Cristina De Frutos Escobar<sup>7\*</sup>, Surbhi Malhotra-Kumar<sup>8</sup>, Laura Villa<sup>9</sup>, Alessandra Carattoli<sup>9</sup>, Rene S Hendriksen<sup>1</sup>

1. National Food Institute, Technical University of Denmark, WHO Collaborating Center for Antimicrobial Resistance in Food borne Pathogens and European Union Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, Kongens Lyngby, Denmark
2. European Food Safety Authority, Parma, Italy
3. German Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany
4. National Reference Laboratory for antimicrobial resistance, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Rome, Italy
5. Anses, Fougères Laboratory, Fougères, France
6. Université Paris-Est, Anses, Laboratory for Food Safety, Maisons-Alfort, France
7. Laboratorio Central de Veterinaria, (LCV Algete), Madrid, Spain
8. Laboratory of Medical Microbiology, Vaccine & Infectious Disease Institute, University of Antwerp, Wilrijk, Belgium
9. Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

Correspondence: Rene S. Hendriksen (rshe@food.dtu.dk)

Citation style for this article:

Rebelo Ana Rita, Bortolala Valeria, Kjeldgaard Jette S, Pedersen Susanne K, Leekitcharoenphon Pimlapas, Hansen Inge M, Guerra Beatriz, Malorny Burkhard, Borowiak Maria, Hammerl Jens Andre, Battisti Antonio, Franco Alessia, Alba Patricia, Perrin-Guyomard Agnes, Granier Sophie A, De Frutos Escobar Cristina, Malhotra-Kumar Surbhi, Villa Laura, Carattoli Alessandra, Hendriksen Rene S. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. Euro Surveill. 2018;23(6):pii=17-00672. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>

Article submitted on 04 Oct 2017 / accepted on 13 Nov 2017 / published on 08 Feb 2018

# Standardisierung des molekularen Screenings zum Vorkommen von mobilen Colistin-Resistenzgenen

- Etablierung/Validierung: *mcr*-Multiplex PCR (*mcr-1* bis *mcr-5*)

| Primer name     | Sequence (5'-3')        | Target gene  | Size (bp) | Positive control               |
|-----------------|-------------------------|--------------|-----------|--------------------------------|
| mcr1_320bp_fw   | AGTCCGTTTGTTCCTTGTTGGC  | <i>mcr-1</i> | 320       | <i>E. coli</i> 2012-60-1176-27 |
| mcr1_320bp_rev  | AGATCCTTGGTCTCGGCTTG    |              |           |                                |
| mcr2_700bp_fw   | CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT    | <i>mcr-2</i> | 715       | <i>E. coli</i> KP37            |
| mcr2_700bp_rev  | TCTAGCCCGACAAGCATACC    |              |           |                                |
| mcr3_900bp_fw   | AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG | <i>mcr-3</i> | 929       | <i>E. coli</i> 2013-SQ352      |
| mcr3_900bp_rev  | AATGGAGATCCCCGTTTTT     |              |           |                                |
| mcr4_1100bp_fw  | TCACTTTCATCACTGCGTTG    | <i>mcr-4</i> | 1116      | <i>E. coli</i> DH5α            |
| mcr4_1100bp_rev | TTGGTCCATGACTACCAATG    |              |           |                                |
| mcr5_fw         | ATGCGGTTGTCTGCATTTATC   | <i>mcr-5</i> | 1644      | <i>Salmonella</i> 13-SA01718   |
| mcr5_rev        | TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG  |              |           |                                |



Rebelo et al., 2018 (Eurosurveillance)

- Verbreitung von *mcr*-Genen in kommensalen *E. coli* (räumliche & zeitliche Analysen, Reservoiranalysen, etc.)

## Bereitstellung von Verfahren zum Nachweis und zur Typisierung von Colistin resistenten *E. coli*

# *mcr*-Resistenzgenverbreitung in Nutztier-/Lebensmittel-Isolaten

| <i>E. coli</i><br>Herkunft | Colistin-<br>resistent  | <i>mcr-1</i> | <i>mcr-2</i> | <i>mcr-3</i> | <i>mcr-4</i> | <i>mcr-5</i> |   |
|----------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---|
| <b>Rind:</b>               | <b>0-0,9%</b>           | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     |    |
| <b>Kalb (Fleisch):</b>     | <b>0,8-14,5% (6,1%)</b> | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>+</b>     | <b>-</b>     |   |
| <b>Schwein:</b>            | <b>0,0-4,0%</b>         | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>+</b>     | <b>+</b>     |    |
| <b>Huhn (Kot):</b>         | <b>5,1-8,9%</b>         | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     |   |
| <b>Hühnerfleisch:</b>      | <b>1,2-9,3%</b>         | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     |   |
| <b>Pute (Kot):</b>         | <b>11,8% (10-19,5%)</b> | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     |   |
| <b>Putenfleisch:</b>       | <b>4,3-9,2%</b>         | <b>+</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     | <b>-</b>     |  |

# Genetische Variabilität der *mcr-4* & *mcr-5* positiver Isolate

WGS (MiSeq) & bioinformatische Auswertung:

- hohe Diversität *mcr-4* (n=14) & *mcr-5* (n=4) positiver Isolate (PFGE, MLST, Serotyp, Virulenzfaktoren, antimikrobielle Resistenz)
- Nachweis der *mcr-4.2* & *mcr-4.3* Varianten
- ein Plasmidtyp (unterschiedliche Größen), bisher nicht transferierbar
- Nachweis der *mcr-5* und *mcr-5.2* Varianten
- drei Plasmidtypen (unterschiedl. Größen), bisher nicht transferierbar

**Welche Bedeutung haben die unterschiedlichen *mcr*-Gene?**

## Vorkommen von *mcr*-Genen in sensiblen *E. coli*

- *mcr*-Multiplex PCR Screening von sensiblen *E. coli*
- MIC>2 mg/L (n>700): 80% *mcr-1*, <1% *mcr-4*, <1% *mcr-5*
- MIC=2 mg/L (n=60): vereinzelt *mcr-1* Nachweis
- MIC<2 mg/L (n=100): keine *mcr*-Gene nachweisbar
- Sanger-Sequenzierung intakte *mcr-1* Gene und Regulationssequenzen
- Transfer der *mcr-1* Plasmide in *E. coli* resultiert in stammabhängiger

MIC Ausprägung

**Genotyp des Stammes scheint entscheidend für die Ausprägung der Resistenz zu sein!**

# Neue Colistin-Resistenzgene: Nach dem Screening ist vor dem Screening

NCBI Resources How To

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank

## Klebsiella pneumoniae strain SC20141012 plasmid pSC20141012, sequence

GenBank: MG267386.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to

LOCUS MG267386 65631 bp DNA circular BCT 21-FEB-2018  
DEFINITION Klebsiella pneumoniae strain SC20141012 plasmid pSC20141012, complete sequence.  
ACCESSION MG267386  
VERSION MG267386.1  
KEYWORDS .  
SOURCE Klebsiella pneumoniae  
ORGANISM [Klebsiella pneumoniae](#)  
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Klebsiella.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 65631)  
AUTHORS Yang, Y. and Wang, H.  
TITLE Novel plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-7.1 in Klebsiella pneumoniae  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2 (bases 1 to 65631)  
AUTHORS Yang, Y. and Wang, H.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (25-OCT-2017) College of Life Science, Sichuan University, No. 29 Wangjiang Rd, Chengdu, Sichuan 610064, China  
FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..65631  
/organism="Klebsiella pneumoniae"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="SC20141012"  
/host="Chicken"  
/db\_xref="taxon:573"  
/plasmid="pSC20141012"  
/country="China"

NCBI Resources How To

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank

## Moraxella sp. MSG47-C17 mcr-6 gene for phosphoethanolamine-transferase MCR-6.1, complete CDS

NCBI Reference Sequence: NG\_055781.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to

LOCUS NG\_055781 1617 bp DNA linear CON 25-JAN-2018  
DEFINITION Moraxella sp. MSG47-C17 mcr-6 gene for phosphoethanolamine--lipid A transferase MCR-6.1, complete CDS.  
ACCESSION NG\_055781  
VERSION NG\_055781.1  
DBLINK BioProject: [PRJNA313047](#)  
KEYWORDS RefSeq.  
SOURCE Moraxella sp. MSG47-C17  
ORGANISM [Moraxella sp. MSG47-C17](#)  
Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Moraxella.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 1617)  
AUTHORS AbuOun, M., Stubberfield, E., Duggett, N., Kirchner, M., Dorma, L., Nunez-Garcia, J., Randall, L., Lemma, F., Crook, D., Teale, C., Smith, R. P. and Anjum, M. F.  
TITLE mcr-1 and mcr-2 variant genes identified in Moraxella species isolated from pigs  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2 (bases 1 to 1617)  
CONSRM NCBI Refseq Project  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (25-JAN-2018) National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA  
COMMENT REVIEWED [REFSEQ](#): This record has been curated by NCBI staff. The reference sequence was derived from [MF176240.1](#). This record has been chosen as a reference for antimicrobial resistance. For more general information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/>  
COMPLETENESS: not full length.  
FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..1617  
/organism="Moraxella sp. MSG47-C17"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="MSG47-C17"  
/isolation\_source="caecal contents"  
/host="porcine"  
/db\_xref="taxon:1935434"  
/country="United Kingdom"  
/collection\_date="May-2015"  
/note="Moraxella cf. pluranimalium"

- Bisher keine Publikationen mit weiteren

Informationen zu *mcr-6* & *mcr-7* verfügbar

# Zusammenfassung

- Diversität der Isolate hoch (keine prädominanten MLST-/PFGE-Typen)
- *mcr*-Plasmide mit verschiedenen Replikons, meist übertragbar
- Plasmide mosaikartig, aus funktionellen Modulen zusammengesetzt
- Bedeutung einzelner Gene für die Resistenzverbreitung unklar
  
- **Anpassung molekularer Typisierungsverfahren nötig**
- **Untersuchung der Biologie und Genetik einzelner Gene essentiell**
- **Bewertung: Wenige Daten zur *mcr*-Prävalenz in humanen Proben**

## Muss Colistin verboten werden?

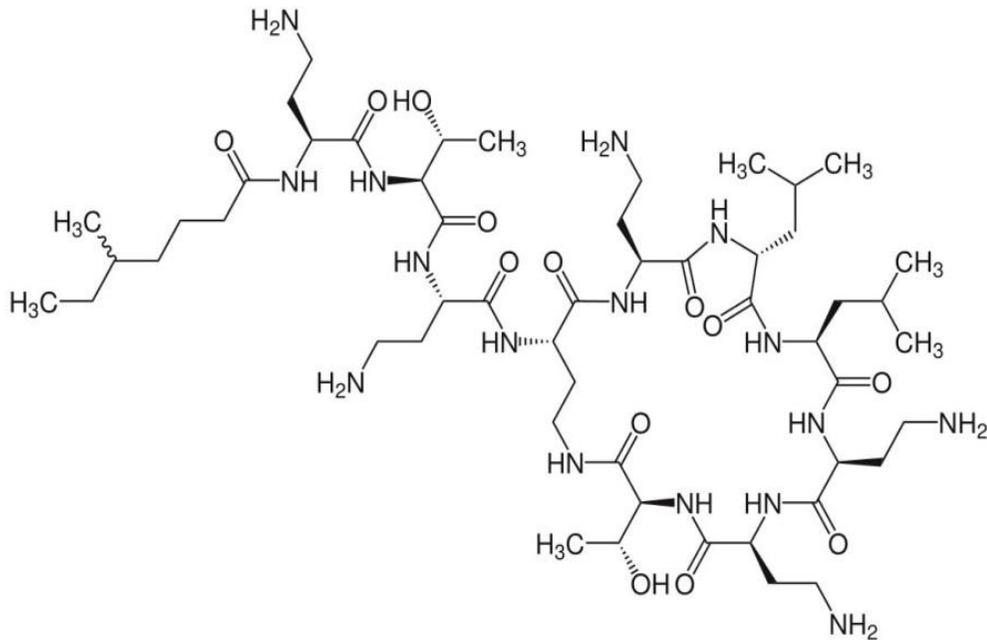
Nein, da vermutlich nur geringe Veränderung der Situation!

### **Aber restriktiver Einsatz!**

- kein Einsatz für vorsorgliche Anwendungen
- Nicht als Wachstumsbeschleuniger einsetzen
- Gruppenbehandlungen limitieren (nach Antibiogrammen behandeln)
- Ausbreitung auf nosokomiale Klebsiellen verhindern (incl. KPCs)
- eventl. neg. Effekt der Verbannung: Tierwohl gefährdet (effizientes Medikament in der Veterinärmedizin entfällt)

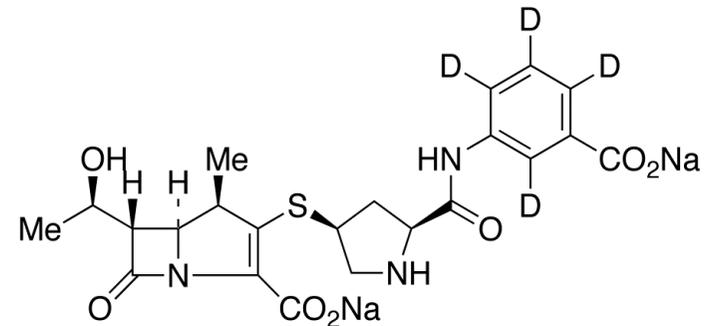
# „Neue Resistenzen“ – zwei sehr unterschiedliche Geschichten

## Reserveantibiotika



**Colistin  
(Polymyxin E)**

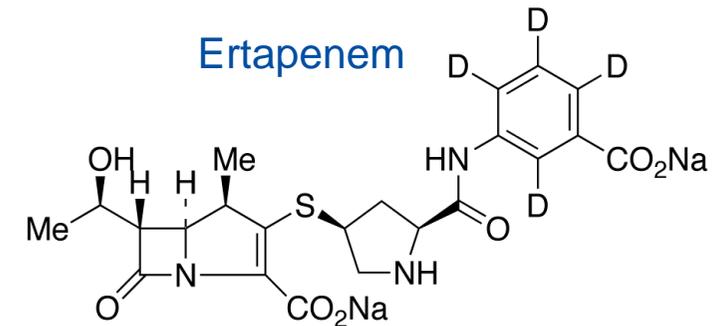
## Carbapeneme (z.B. Ertapenem)



# Bedeutung von Carbapenemen (Thienamycine) in der Human- und Veterinärmedizin

Humanmedizin

- $\beta$ -Lactam-Antibiotika  
(breites antimikrobielles Wirkspektrums)



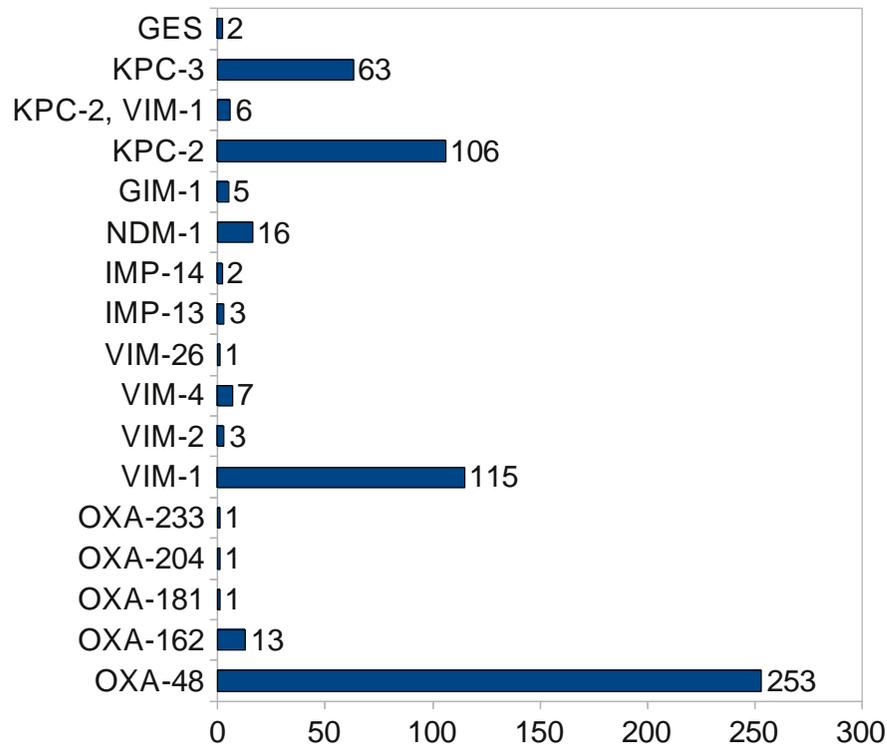
- Vertreter sind Meropenem, Doripenem, Tebipenem, etc.
- Therapie von schweren nosokomialen Infektionen (z.B. *P. aeruginosa*)
- Reserveantibiotikum
- keine Verwendung

Veterinärmed.

# Carbapenemasen in Enterobacteriaceen aus humanen Ursprung

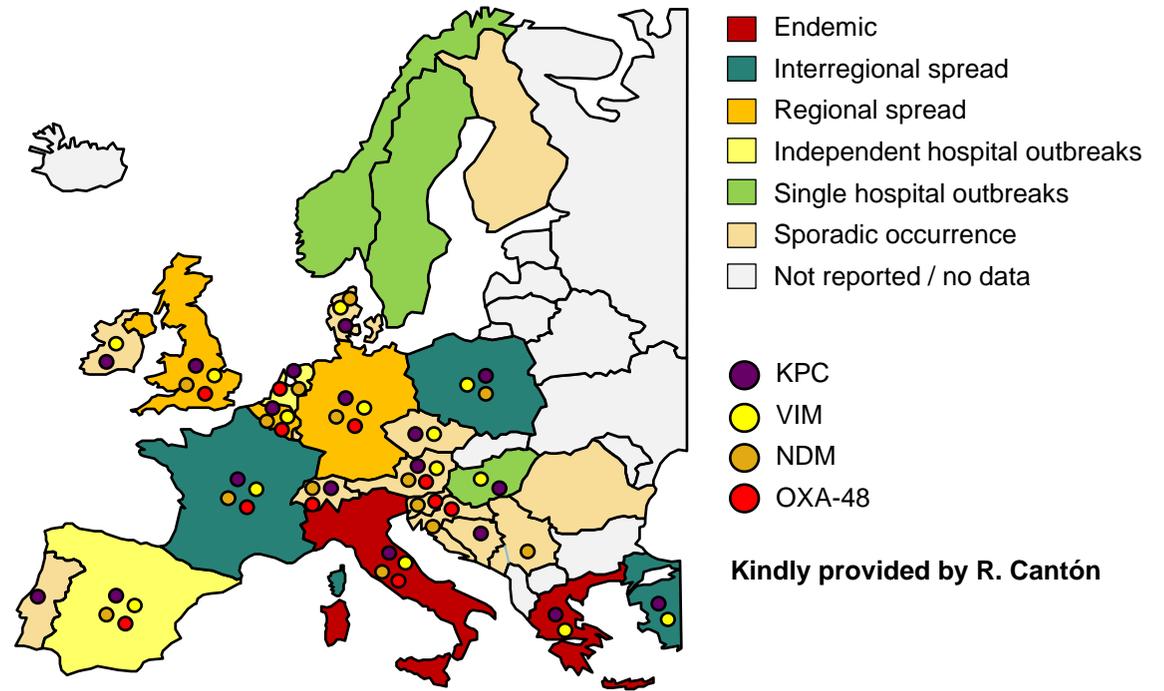
## Germany

September 2009 – Februar 2012



Kindly provided by M. Kaase  
 Nationales Referenzzentrum für gramnegative  
 Krankenhauserreger  
 Abteilung für Medizinische Mikrobiologie  
 Ruhr-Universität Bochum

## Europe



Kindly provided by R. Cantón

Wie sieht es in Nutztier- bzw. Lebensmittelisolaten aus?

# Nachweismethoden vom EURL-AR bereitgestellt

## Caecalkot-Untersuchungen

DTU Food  
National Food Institute



### LABORATORY PROTOCOL

Isolation of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing *E. coli* from caecal samples

February 2018  
Version 6

Version 6 was reviewed and updated by: Rene S. Hendriksen and Valeria Bortolaia

Authors of the document: Henrik Hasman, Yvonne Agersø, Rene Hendriksen, Lina M. Cavaco (DTU Food) and Beatriz Guerra-Roman (external expert)

## Fleischuntersuchungen

DTU Food  
National Food Institute



### LABORATORY PROTOCOL

Isolation of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing *E. coli* from fresh meat

February 2018  
Version 6

Version 6 reviewed and updated by: Rene S. Hendriksen and Valeria Bortolaia

Authors of the document: Henrik Hasman, Yvonne Agersø, Rene Hendriksen, Lina M. Cavaco (DTU Food) and Beatriz Guerra-Roman (external expert)

<https://www.eurl-ar.eu/protocols.aspx>

# Protokoll Isolation von ESBL-, AmpC- und Carbapenemase-produzierenden *E. coli* /Enterobacteriaceae

- Detektion von ESBL/AmpC

Monitoring auf ESBL/AmpC ist schon verpflichtend

- Detektion von Carbapenemasen inklusive OXA-48 (und Derivate)

Monitoring auf Carbapenemase-Bildner ist verpflichtend

- Nachweis von geringen Erregerkonzentrationen sehr anspruchsvoll
- Methode muss optimiert werden
- ggf. molekulares Vorscreening nötig um Erreger zu identifizieren

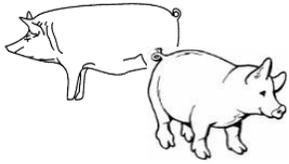
# Nachweis VIM-1 tragender *E. coli* im Monitoring

2017 VIM-1 positiv-Nachweis bei zwei Isolaten im NRL-AR:

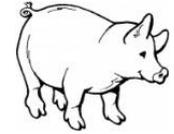
1. Carba-Monitoring
2. ESBL-Monitoring (im Carba-Monitoring negativ)

## Untersuchungsstrategie

- Selektive Ausstriche
- MIC Bestimmung (MERO  $\geq$  0.12 mg/L, ETP  $\geq$  0.12 mg/L , IMI  $\geq$  1 mg/L)
- molekularer Nachweis des Carbapenem Resistenzgens
- PFGE: XbaI (phylogenetische Verwandtschaft) und S1 (Plasmidnachweis)
- Genomsequenzierung und bioinformatische Auswertung



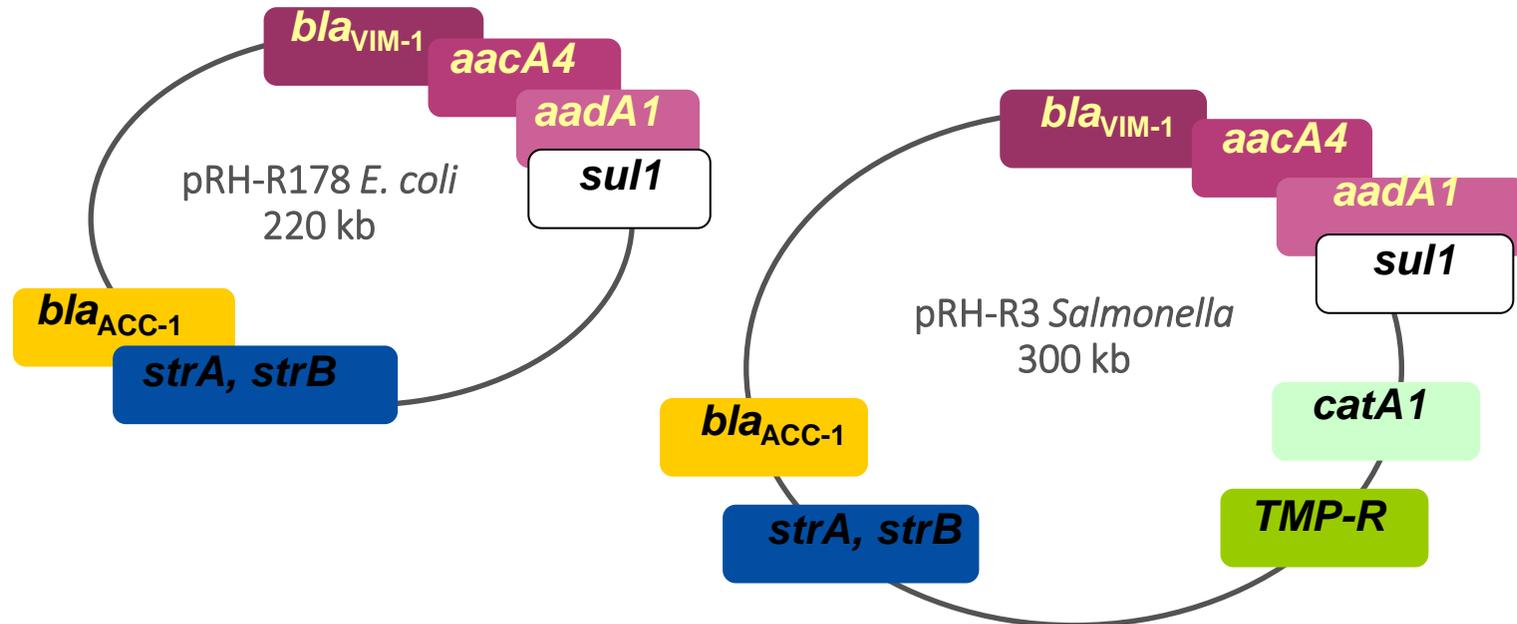
# Charakteristika der VIM-1 Isolate



|   | <b>RESET 2011/2012</b>  | <b>15-AB00585 und weitere aus dem Betrieb</b>   | <b>17-AB01027</b>  | <b>17-AB02384</b>  |
|---|---|---|--|--|
| <b>Herkunft</b>   | Schweinegestall<br>Sammelkot;<br>Sockentupfer außen<br>(Salmonelle) | ZoMo, Blinddarm<br>Schwein Schlachthof  | Carba-Monitoring   | ESBL-Monitoring (in<br>Carba Monitoring<br>negativ)  |
| <b>MLST</b>   | ST88  | ST88  | ST48   | ST7593   |
| <b>Plasmid</b>  | IncHI2; 300 kb (Salm);<br>220 kb (E. coli)                          | Chromosomal<br>(Integron vorhanden),<br>oder 180-200 kb;<br>IncHI2  | Im Labor sehr<br>variabel; 150 kb in<br>Konjugation; verm.<br>IncHI2   | IncHI2 / IncFI/ IncFIB<br>(PlasmidFinder<br>Konjugante)  |
| <b>Weitere Resistenzgene</b><br><b>a) <math>\beta</math>-Laktamasen</b><br><b>b) andere</b> | a) ACC-1<br>b) aadA1, aacA4, strA,<br>strB, aac(6)-Ib-cr,<br>sul1   | a) AAC-1, (blaTEM-<br>206 or 1B)<br>b) aac(6')Ib-cr,<br>aadA1, aadA2,<br>aacA4, dfrA12,<br>(dfrA8), cmlA1,<br>sul1, sul2, strB,<br>strA | a) AAC-1<br>b) aadA1, aacA4,<br>strA, aph(6)-Id,<br>aac(6')Ib-cr,<br>floR, catA1,<br>sul1, sul2, tet(A),<br>dfrA | a) AAC-1; SHV-12<br>b) aacA4, aph(3')-XV,<br>aadA1, aph(6)-Id,<br>strA, aac(6')Ib-cr,<br>qnrA1, floR, catB2,<br>catA1, sul1,<br>dfrA14, mph(A) |
| <b>PFGE XbaI</b>  | Nahezu identisch  |   |  |  |
| <b>Konjugation</b>  | Nur Salmonelle  | Nein  | Ja   | Ja   |

# Mobile genetische Elemente: Ursache für die Verbreitung der Resistenz

IncHI2 Plasmide:



Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

 **Veterinary Microbiology**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetmic](http://www.elsevier.com/locate/vetmic)

Spread and persistence of VIM-1 Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in three German swine farms in 2011 and 2012

Jennie Fischer<sup>a</sup>, Mateo San José<sup>a,b</sup>, Nicole Roschanski<sup>c</sup>, Silvia Schmogger<sup>a</sup>, Beatrice Baumann<sup>a</sup>, Alexandra Irrgang<sup>a,c</sup>, Anika Friese<sup>c</sup>, Uwe Roesler<sup>c</sup>, Reiner Helmuth<sup>a</sup>, Beatriz Guerra<sup>a,\*</sup>

Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

 **Veterinary Microbiology**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetmic](http://www.elsevier.com/locate/vetmic)

Comparative genome analysis of IncHI2 VIM-1 carbapenemase-encoding plasmids of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from a livestock farm in Germany

Linda Falgenhauer<sup>a,b</sup>, Hiren Ghosh<sup>a,b</sup>, Beatriz Guerra<sup>c,1</sup>, Yancheng Yao<sup>a,b</sup>, Moritz Fritzenwanker<sup>a,b</sup>, Jennie Fischer<sup>c</sup>, Reiner Helmuth<sup>c</sup>, Can Imirzalioglu<sup>a,b</sup>, Trinad Chakraborty<sup>a,b,\*</sup>

# Zusammenfassung

- Diversität der Isolate (keine prädominanten MLST-/PFGE-Typen)
- dominanter Plasmidtyp (verschiedene Größen), z.T. übertragbar
- Plasmide mosaikartig, aus funktionellen Modulen zusammengesetzt
- **Anpassung der Nachweismethode nötig (insb. bei geringen Erregerkonzentrationen essentiell)**
- **Untersuchung der Biologie und Genetik einzelner Plasmide essentiell**
- **Bewertung: Vergleichsdaten zu humanen Proben nötig**

# Restriktiver Einsatz um Therapieoption so lange wie möglich zu erhalten...

- ausschließlich gezielt am Menschen anwenden



[https://www.efsa.europa.eu/en/interactive\\_pages/Antimicrobial\\_Resistance](https://www.efsa.europa.eu/en/interactive_pages/Antimicrobial_Resistance)

**Vielen Dank an alle  
Mitarbeiter des NRL-AR  
für die Unterstützung!**



**Danke für Ihre Aufmerksamkeit**

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Str. 8-10 ● 10589 Berlin

Tel. 030 - 184 12 - 0 ● Fax 030 - 184 12 - 47 41

bfr@bfr.bund.de ● www.bfr.bund.de