



Folkhälsomyndigheten

Nationella insamlingen av cefadroxilresistenta *Escherichia coli* och *Klebsiella pneumoniae* från urinodlingar

Genotypningsresultat 2017-års insamling



Nationella insamlingen av
cefadroxilresistenta *Escherichia coli* och
Klebsiella pneumoniae från urinodlingar

Genotypningsresultat 2017-års insamling

Denna titel kan laddas ner från: www.folkhalsomyndigheten.se/publicerat-material/.

Citera gärna Folkhälsomyndighetens texter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd att använda dem.

© Folkhälsomyndigheten, 2019.

Artikelnummer: 19029

Om publikationen

Den här rapporten innehåller en sammanställning av resultaten från det mikrobiella övervakningsprogrammet för cefadroxilresistenta *Escherichia coli* (*E. coli*) och *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) från insamlingen 2017.

Övervakningsprogrammet syftar till att ge en överblick av epidemiologin hos ESBL-producerande *E. coli* och *K. pneumoniae* samt att undersöka förekomsten av överförbar mcr-medierad kolistinresistens.

Målgruppen för rapporten är de kliniska mikrobiologiska laboratorierna och utgör för dem även ett underlag för att sätta den lokala epidemiologin av ESBL-producerande *E. coli* och *K. pneumoniae* i ett nationellt perspektiv. De deltagande laboratorierna får utöver den nationella sammanställningen även en lokal sammanställning över resultaten. Ett urval av isolat kommer att resistensbestämmas fenotypiskt och resultaten kommer att presenteras senare i en uppdaterad version av rapporten.

Rapporten har sammanställts av Karin Sjöström, Kristina Rizzardi och Petra Edquist.

Sara Byfors
Enhetschef, Laborativ bakterieövervakning

Folkhälsomyndigheten

Innehåll

Sammanfattning	8
Summary.....	9
National surveillance of cefadroxil-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from urinary tract infections	9
Bakgrund.....	10
Syfte	11
Metod	12
Resultat.....	13
E. coli.....	13
K. pneumoniae	15
Jämförelse över tid (2007-2017)	16
Fenotypisk resistensbestämning.....	17
Diskussion	18
Referenser.....	19
Bilaga 1.....	20
Förklaringar till lokalt datablad	20

Sammanfattning

Under insamlingsperioden 1–31 mars 2017 (alt. 1–30 april 2017) samlades konsekutiva isolat av cefadroxilresistenta *E. coli* (*Escherichia coli*) och *K. pneumoniae* (*Klebsiella pneumoniae*) från urinodlingar in från landets kliniska mikrobiologiska laboratorier (ett isolat av vardera art per patient). Tjugofem av landets tjugosju kliniska laboratorier medverkade i insamlingen. Isolaten karakteriserades genotypiskt med en amplikonbaserad sekvenseringsteknik, de analyserades för de vanligaste förekommande ESBL-generna (CTX-M, ACC, DHA, EBC (ACT/MIR), FOX, MOX, CMY), ESBL-CARBA OXA-48-gruppen samt för *mcr*-medierad kolistinresistens. Multi-locus sequence typing (MLST) för både *E. coli* och *K. pneumoniae* ingår i analysen från och med årets insamling (2017).

Totalt samlades 967 verifierade *E. coli* och *K. pneumoniae* isolat in varav:

- 891 *E. coli* och 76 *K. pneumoniae*
- 718 *E. coli* och 61 *K. pneumoniae* som bär på ESBL-A-gener
- 34 *E. coli*, 5 *K. pneumoniae* som bär på ESBL-M-gener
- 10 *E. coli* med både ESBL-A och ESBL-M-gener
- 1 *E. coli* och 1 *K. pneumoniae* med ESBL-CARBA från oxa-48-gruppen
- 3 *E. coli* och 1 *K. pneumoniae* med *mcr*

Hos *E. coli*-isolaten är ST131 [1-3] den vanligaste förekommande sekvenstypen (40,7 %) och för *K. pneumoniae*-isolaten är ST307 den vanligaste förekommande sekvenstypen (9,2 %).

Den sammanlagda bilden av insamlingarna visar att trots att antalet insamlade isolat ökat konstant under åren, så är fördelningen mellan ESBL-A, ESBL-M och ESBL-CARBA konstant. Detsamma gäller även för andelen cefadroxilresistenta *E. coli* som ej bär en ESBL. Få fynd har gjorts av isolat som bär på överförbar *mcr*-medierad kolistinresistens och detta bedöms i nuläget inte utgöra ett problem inom vården.

Summary

National surveillance of cefadroxil-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections

The results from the 2017 surveillance program for cefadroxil-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections are summarized in this report.

Twenty-five of twenty-seven Swedish clinical laboratories contributed to the program collecting consecutive cefadroxil resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* from urinary tract infections during one month in 2017. The isolates were characterized genotypically using an amplicon-based sequencing technique. The most common ESBL-genes were included in the analysis (CTX-M, ACC, DHA, EBC (ACT/MIR), FOX, MOX, CMY), genes belonging to the ESBL-CARBA OXA-48-grup as well as mcr genes. Multi-locus sequence typing (MLST) for *E. coli* and *K. pneumoniae* is also included in the analysis as of 2017.

In total 967 isolates of *E. coli* and *K. pneumoniae* were collected, these were subdivided as follows:

- 891 *E. coli* and 76 *K. pneumoniae*
- 718 *E. coli* and 61 *K. pneumoniae* carrying ESBL-A-genes
- 34 *E. coli* and 5 *K. pneumoniae* carrying ESBL-M-genes
- 10 *E. coli* carrying both ESBL-A and ESBL-M-genes
- 1 *E. coli* and 1 *K. pneumoniae* carrying ESBL-CARBA genes from the oxa-48-grup
- 3 *E. coli* and 1 *K. pneumoniae* carrying mcr-genes

For *E. coli* the most common sequence type was ST131 (40.7 %) [1-3] and the most common sequence type for *K. pneumoniae* was ST307 (9.2 %).

The results show that even though the number of collected isolates has increased over the years, the percentage of ESBL-A, ESBL-M och ESBL-CARBA is constant. This is also true for the percentage of cefadroxil-resistant *E. coli* that do not carry ESBL-genes. Mcr-mediated resistance was found in only a few isolates and we conclude that this is currently not an acute health care problem.

N.B. The title of the publication is translated from Swedish, however no full version of the publication has been produced in English.

Bakgrund

ESBL (extended spectrum beta-lactamase) är en resistensmekanism hos vissa bakterier, ett enzym, som bryter ner många betalaktamantibiotika som är en av de viktigaste antibiotikagrupperna. Enzymerna gör att bakterierna blir resistenta mot de traditionella penicillinerna och de flesta cefalosporinerna. Många olika ESBL-enzym har kunnat identifieras. Generna för ESBL-produktion är ofta lokaliserade på så kallade plasmider, vilket innebär att förmågan att producera enzymerna kan överföras mellan olika släkter av tarmbakterier. Detta är ett växande antibiotikaresistensproblem. Karbapenemaser (ESBL-CARBA) är en klass av antibiotika som i tillägg till att ge resistens mot penicilliner och cefalosporiner gör bakterien resistent mot karbapenemer. Karbapenemer är ett av de viktigaste behandlingsalternativen mot ESBL-producerande gramnegativa bakterier. I Sverige är än så länge karbapenemresistens hos gramnegativa bakterier ett relativt begränsat problem men antalet fall ökar årligen. Folkhälsomyndigheten har ett specifikt mikrobiellt övervakningsprogram för karbapenemasproducerande Enterobacteriaceae, Acinetobacter spp, och Pseudomonas spp, för att kontinuerligt följa epidemiologin av dessa (se [Mikrobiella övervakningsprogram](#) [4] för information omfattningen av respektive övervakningsprogram)

Vid karbapenemasresistens är kolistin det antibiotika som ofta utgör det enda behandlingsalternativet vid allvarliga infektioner orsakade av gramnegativa bakterier. Mobil kolistinresistens medierat av mcr-1 genen upptäcktes 2015 [5] och sedan dess har en rad olika varianter hittats i Enterobacteriaceae från människa och djur. Fynd av genen har sedan dess rapporterats från hela världen, bl.a. Sverige [6]. Att genen är lokaliserad på ett överförbart element gör det extra problematiskt då den snabbt kan få en spridning. Folkhälsomyndigheten har ett specifikt mikrobiellt övervakningsprogram för kolistinresistenta Enterobacteriaceae [4] för att övervaka förekomsten av mcr-genen nationellt.

Under våren 2007 genomfördes den första större insamlingen av cefadroxilresistenta E. coli och K. pneumoniae för karakterisering av resistensmekanismer på Folkhälsomyndigheten. Insamlingen har sedan pågått vartannat år mellan 2007 och 2017 för att kunna följa utvecklingen av cefalosporinresistens hos E. coli och K. pneumoniae över tid. En sammanställning av kollektionerna från 2007-2011 finns publicerat i artikeln "Epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli in Sweden 2007-2011" [7].

Resultaten från den utvidgade karaktäriseringen av dessa kollektioner har varit av stort värde för att följa utvecklingen av ESBL hos E. coli och K. pneumoniae i Sverige, vad det gäller dess mottaglighet för relevanta behandlingsalternativ, som referens vid smittspårningsutredningar och möjlighet att retrospektivt analysera förekomsten av nyupptäckta resistensmekanismer så som plasmidmedierad kolistinresistens av mcr-typ. Se Folkhälsomyndighetens rapport om [plasmidmedierad kolistinresistens](#) [6].

Syfte

Syftet med den mikrobiella övervakningen av cefadroxilresistenta *E. coli* och *K. pneumoniae* från urinodlingar är att ge en överblick av epidemiologin av ESBL-producerande Enterobacteriaceae i Sverige. Programmet syftar också till att undersöka förekomsten av mcr-medierad överförbar kolistinresistens.

Metod

Under år 2007–2013 har inskickade isolat analyserats med realtids-PCR för karaktärisering av ESBL-typ, vilket är en metod som från och med 2015 bytts ut mot en amplikonbaserad NGS-sekvenseringsteknik. I den från 2015 etablerade amplikonanalysen ingår påvisning av de vanligaste plasmidmedierade ESBL-A och ESBL-M generna samt mcr-genen (mobile colistin resistance) som är en plasmidmedierad gen som kodar för ett enzym som ger kolistinresistens. De gener som ingår i analysen är följande; shv, tem, ctx-m, acc, cmy/cit, dha, fox, mox, act/mir, mcr. Från 2017 har denna analys kompletterats med ytterligare en gen-grupp, de gener som ingår i oxa-48-gruppen (ESBL-CARBA) och MLST generna för *E. coli* och *K. pneumoniae* (tabell 1).

Vid fynd av mcr-genen så utförs helgenomsekvensering av isolatet för att verifiera fyndet.

Tabell 1. Gener inkluderade i den amplikonbaserade sekvenseringsmetoden.

	E. coli	K. pneumoniae
MLST-gener	adk, fumC, gyrB, icd, mdh, purA, recA (Warwick [8])	gapA, infB, mdh, pgi, phoE, rpoB, tonB (Pasteur [9])
ESBL-A	shv, tem, ctx-m grupp 1, ctx-m gr2, ctx-m gr9, ctx-m gr8/25	
ESBL-M	cmy (cit), dha, fox, mox, acc, act/mir (ebc)	
ESBL-CARBA	oxa-48-gruppen	
Kolistinresistens	mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5	

Resultat

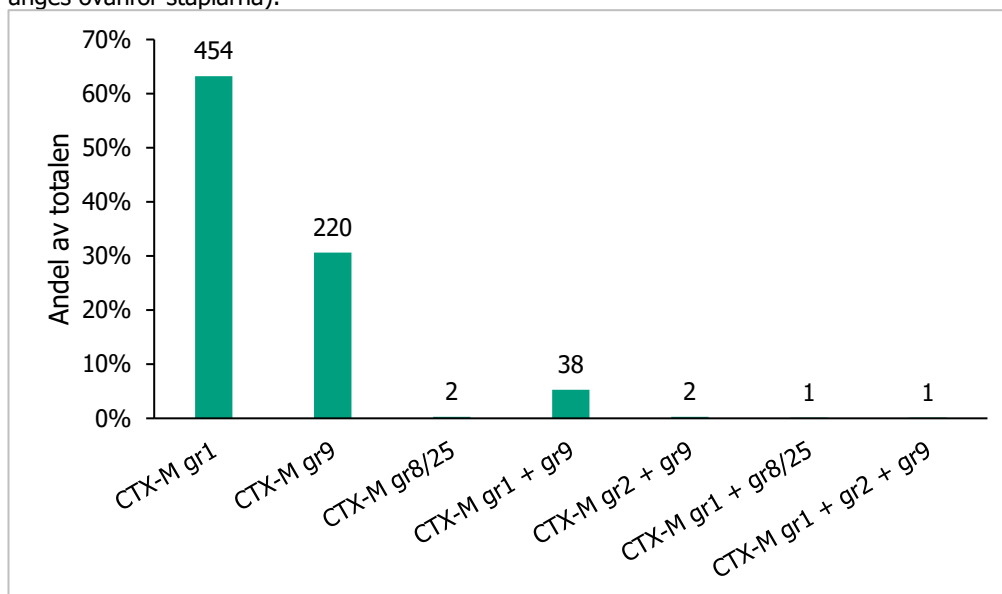
Fyra isolat med *mcr*, tre *E. coli* och en *K. pneumoniae* påvisades. Det är av stor vikt att i tid kunna fånga upp en eventuell spridning av *mcr*-medierad kolistinresistens i Sverige. De isolat där *mcr* påvisades analyserades också med helgenomsekvensering som verifierade påvisningen av *mcr* i samtliga tre isolat. Vidare analys av genomet visade att de tillhörde ST648 (*E. coli*) och ST15 (*K. pneumoniae*), *E. coli* isolaten hade sinsemellan inget nära genetiskt släktskap.

Sammanställningen är baserad på verifierade *E. coli* och *K. pneumoniae*-isolat (967 isolat, 891 *E. coli* och 76 *K. pneumoniae*).

E. coli

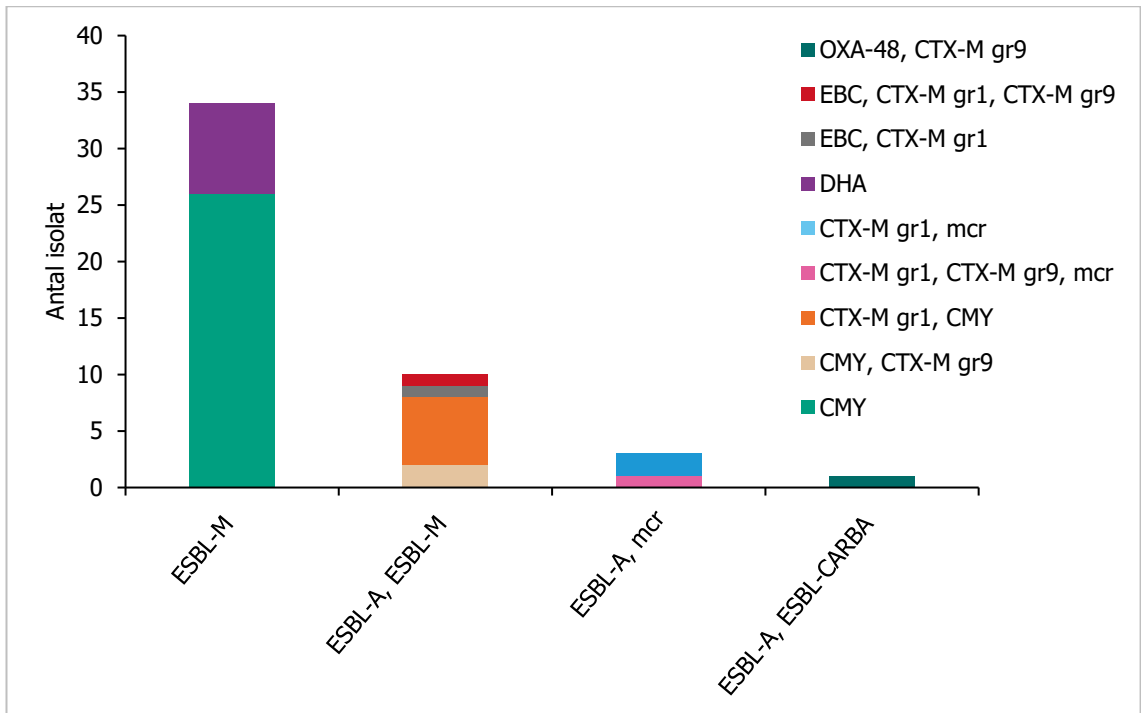
Majoriteten av de insamlade, ESBL positiva, *E. coli* stammarna bar endast på en ESBL-A gen. Drygt 60 % av ESBL-A positiva *E. coli* isolaten bar på CTX-M gr1, den näst vanligaste ESBL-A genotypen var CTX-M gr9 (Figur 1).

Figur 1. Fördelning av påvisade resistensgener bland samtliga *E. coli* med ESBL-A (antalet anges ovanför staplarna).

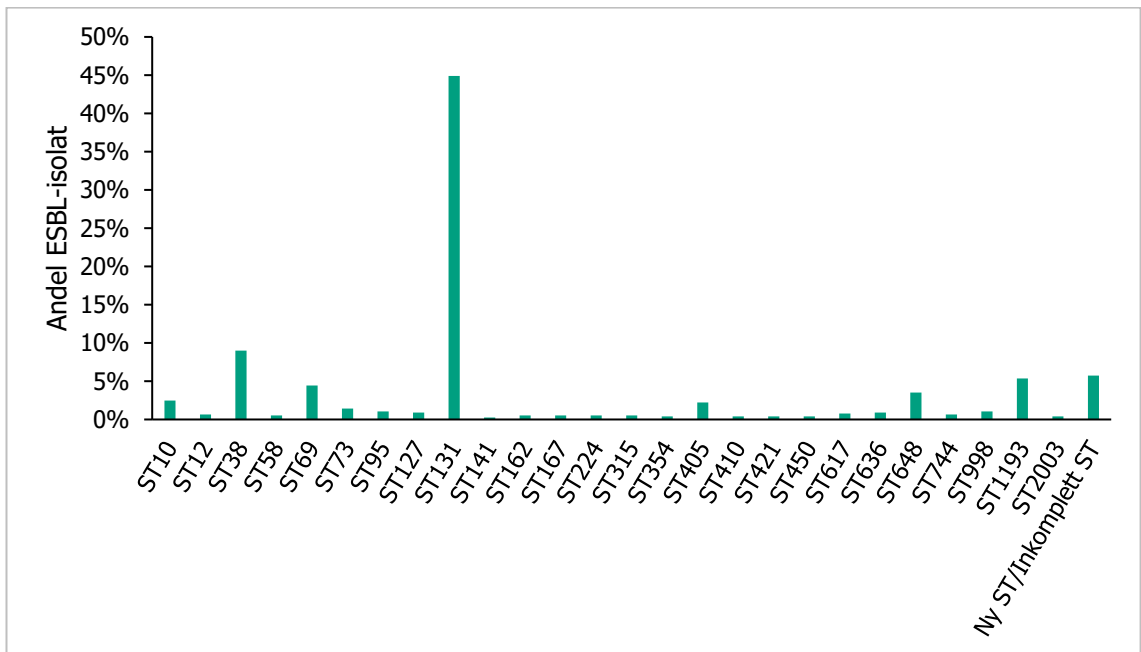


Övriga ESBL positiva isolat bar på ESBL-M eller en kombination av gener och redovisas i figur 2.

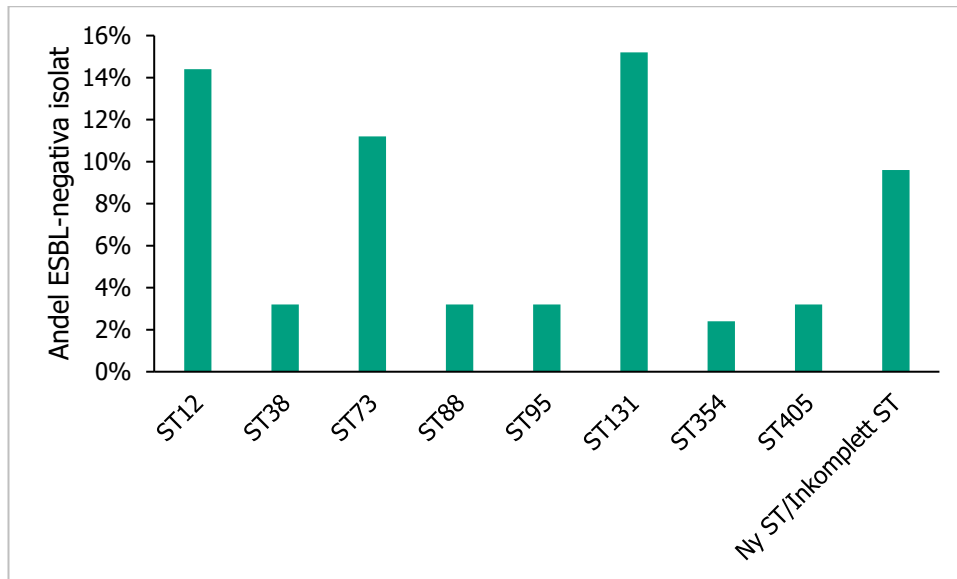
Figur 2. Fördelningen av påvisade resistensgener bland samtliga E. coli med ESBL-M, ESBL-A_M och ESBL-A+CARBA och ESBL-A+ mcr.



Figur 3. Fördelning av sekvenstyp påvisat hos ESBL bärande E. coli (>2 isolat med samma ST).



Figur 4. Fördelning av sekvenstyp påvisat hos ESBL-negativa E. coli isolat, (>2 isolat med samma ST).



Den vanligaste sekvenstypen för ESBL-positiva E. coli var ST131 följt av ST38 och ST1193 (Figur 3). En statistisk analys av geografisk klustring av ST och ESBL-genotyp visar att länen som redovisas i tabell 1 uppvisar en statistisk signifikant anhopning av ST och/eller ESBL-genotyp (Fishers test, $p < 0,01$).

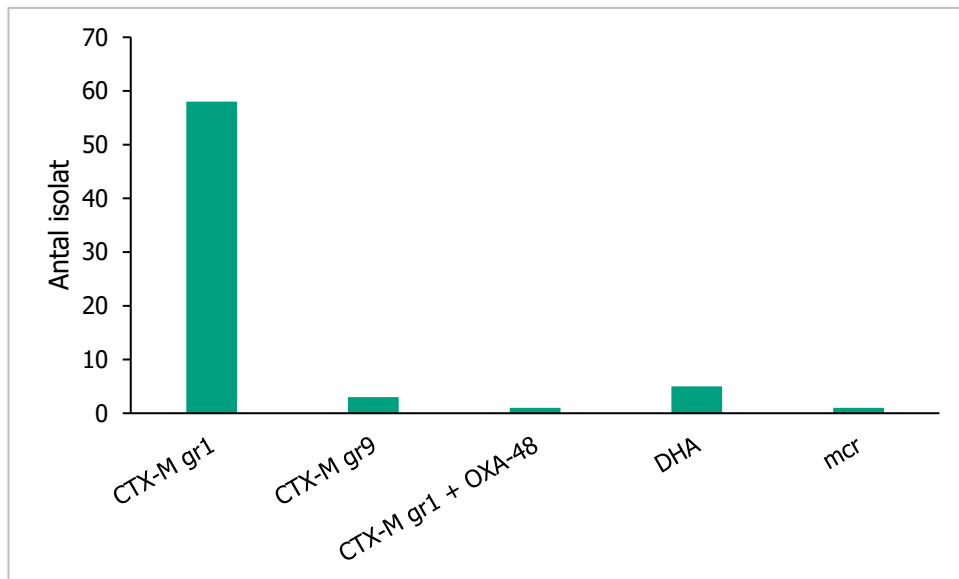
Tabell 2. Län som uppvisar en statistisk signifikant anhopning av ST och/eller ESBL-genotyp hos E. coli.

Län	ST	ESBL-genotyp
Stockholm	131	
Västra Götaland	131	
Värmland	80, 349	
Kronoberg	38	
Skåne	12	
Norrbottnen	58	CTX-m gr1+ CTX-M gr9
Västernorrland	354	
Östergötland	410	
Södermanland	14, 569	

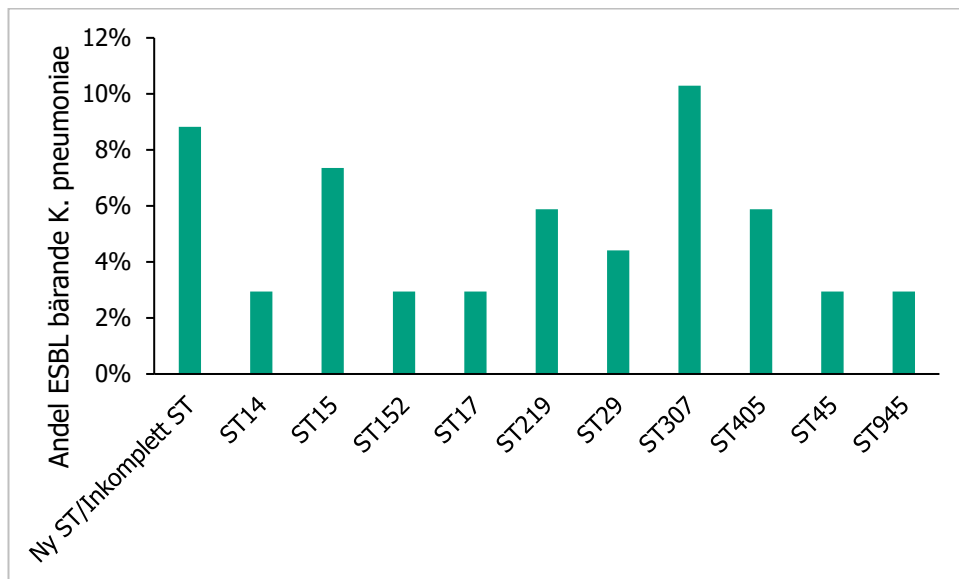
K. pneumoniae

Den vanligaste ESBL-genotypen hos K. pneumoniae isolat var CTX-M gr1 följt av DHA (Figur 5), och den vanligaste ST för ESBL-positiva K. pneumoniae var ST307 följt av ST15 (Figur 6). En statistisk analys av geografisk klustring av ST och ESBL-genotyp visar att Skåne och Halland uppvisar en statistisk signifikant anhopning av ST29 respektive ST48. Inget län uppvisade en statistisk signifikant anhopning av ESBL-genotyper (Fishers test, $p < 0,01$).

Figur 5. Fördelning av påvisade resistensgener bland samtliga K. pneumoniae med ESBL-A, ESBL-M, ESBL-A+CARBA och kolistinresistens



Figur 6. Fördelning av sekvenstyp hos ESBL-bärande K. pneumoniae (>1 isolat med samma ST).

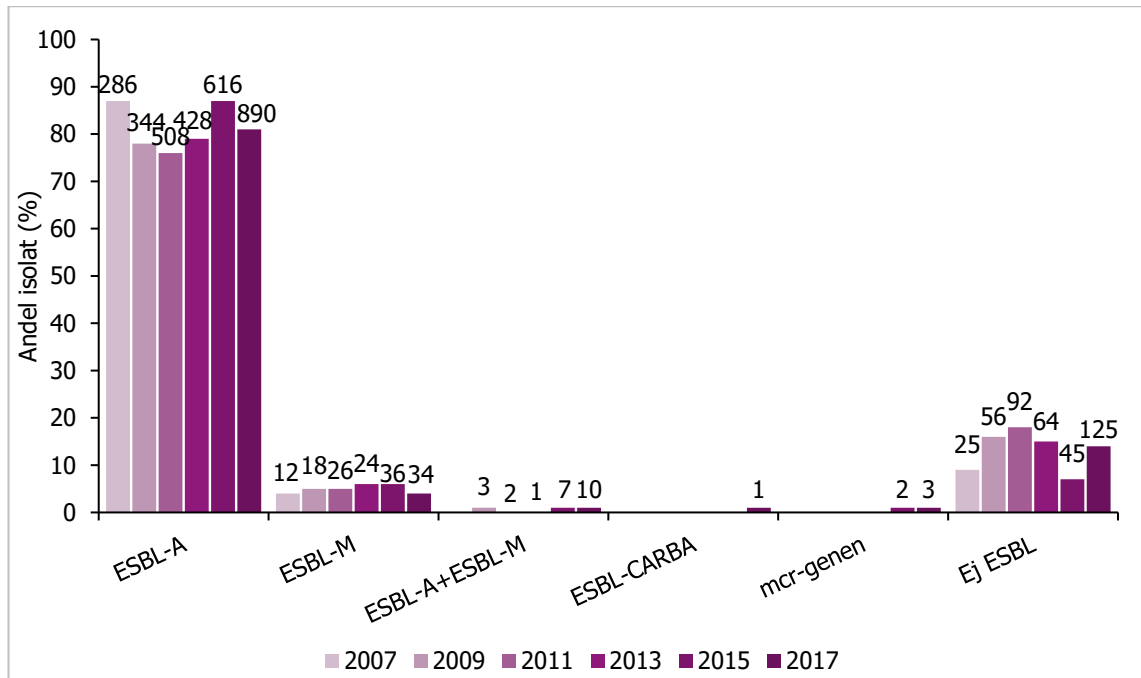


Jämförelse över tid (2007-2017)

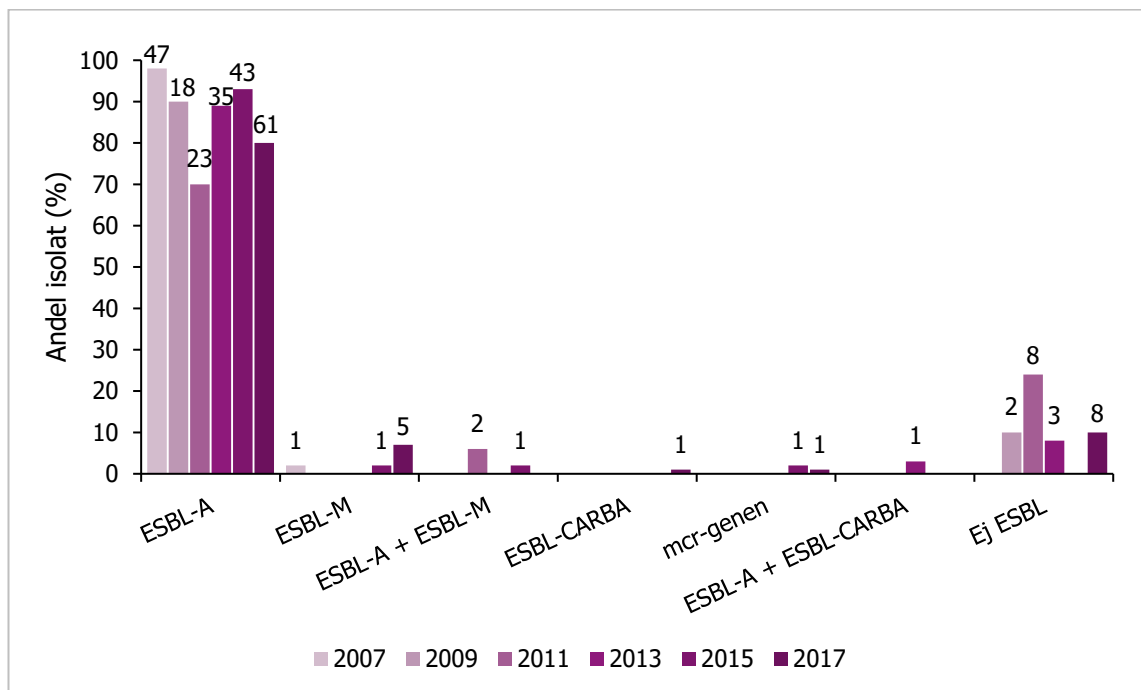
Antalet insamlade isolat har ökat konstant under insamlingsåren, däremot är fördelningen mellan ESBL-A, ESBL-M och ESBL-CARBA konstant. Andelen cefadroxilresistenta coli som ej bär en ESBL är också stabil och ligger på ungefär 15 procent av alla insamlade urinvägsisolat (Figur 7).

Liknande fördelning ses även för cefadroxilresistenta K. pneumoniae från urinodlingar, dock är antalet insamlade fortfarande litet och inga större slutsatser kan dras (Figur 8).

Figur 7. Fördelning av ESBL-grupper hos cefadroxilresistenta E. coli 2007-2017 (antalet anges ovanför respektive stapel).



Figur 8. Fördelning av ESBL-grupper hos cefadroxilresistenta K. pneumoniae 2007-2017 (antalet anges i parentes ovanför respektive stapel).



Fenotypisk resistensbestämning

Ett urval av isolat kommer att resistensbestämmas fenotypiskt och resultaten kommer att presenteras senare i en uppdaterad version av rapporten.

Diskussion

Den sammanlagda bilden av insamlingarna visar att trots att antalet insamlade isolat ökat konstant under åren, så är fördelningen mellan ESBL-A, ESBL-M och ESBL-CARBA konstant. Fördelningen av resistensmekanismer inom respektive grupp har också varit stabil liksom andelen cefadroxilresistenta *E. coli* som inte bär en ESBL-gen.

Isolat med *mcr*-gener kan vara svåra att detektera då genen inte alltid medför kolistinresistens vid fenotypisk resistensbestämning. Enbart ett urval av isolat resistensbestäms mot kolistin i Sverige då problematiken med resistens är begränsad. Resistensbestämning mot kolistin kan dessutom enbart utföras med mikrodilution [10] vilket inte finns tillgängligt på alla kliniska mikrobiologiska laboratorier. Denna insamling innebär en möjlighet att få en indikation på förekomsten av mobil kolistinresistens i Sverige. Få fynd av isolat som bär på överförbar *mcr*-medierad kolistinresistens gjordes och det bedöms i nuläget inte utgöra ett problem för vården. Kollektionen utgör en adekvat grund för att undersöka förekomst av överförbar kolistinresistens, kollektionen kan lämpligen användas som en vårdindikator.

Insamlingen av cefadroxilresistenta *E. coli* och *K. pneumoniae* har skett vartannat år sedan programmet introducerades 2007. Incidensen av ESBL producerande Enterobacteriaceae har samtidigt ökat från cirka 40 fall/100 000 invånare 2009 till 102 fall/100 000 invånare 2018, ökningen har dock planat ut de senaste åren och sedan 2015 har det varit ungefär samma incidens [11]. Med tanke på det stabila läget med antalet fall och att den molekylära epidemiologin också varit stabil över åren så har Folkhälsomyndigheten beslutat att 2019 års planerade insamling genomförs 2020. Övervakningen av ESBL-CARBA producerande Enterobacteriaceae fortlöper kontinuerligt så som tidigare och två nya program för karbapenemproducerande *Acinetobacter* spp samt *Pseudomonas* spp infördes 2019. Även övervakningsprogrammet för kolistinresistenta Enterobacteriaceae fortlöper under 2019 [4].

Referenser

1. Ny S et al. Community carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* is associated with strains of low pathogenicity: a Swedish nationwide study. *J. Antimicrob. Chemother.* 72 (2017), pp. 582–588.
2. M.H. Nicolas-Chanoine et al, Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15, *J. Antimicrob. Chemother.* 61 (2008), pp. 273–281.
3. BA. Rogers et al, *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother.* 66 (2011), pp. 1-14.
4. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/mikrobiologi-laboratorieanalyser/mikrobiella-och-immunologiska-overvakningsprogram/>
5. YY Liu et al, Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study, *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 2016, pp 161-168
6. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/contentassets/9ecbe90539af46428de9305435db522b/plasmidmedierad-kolistinresistens.pdf>
7. Brolund A et al, Epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Sweden 2007-2011. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Jun; 20(6):O344-52.
8. http://enterobase.warwick.ac.uk/species/ecoli/allele_st_search
9. <https://biqsdb.pasteur.fr/klebsiella/>
10. E. Matuschek et al, Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(8),2018,pp 865-870
11. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistikdatabaser-och-visualisering/sjukdomsstatistik/extended-spectrum-beta-lactamase-esbl/?t=county>

Bilaga 1

Förklaringar till lokalt datablad

Förtydligande av rubrikerna i databladet

Laboratorium:	Insändande laboratorium
Art:	Bakterieart
Lab nr:	Insändande laboratoriums isolatnummer
Studie nr:	Folkhälsomyndighetens studienummer
Enzym:	Genetisk detektion av gen kodande för enzym med känd ESBL-profil
ESBL-kategori:	Genotypisk analys för detektion av ESBL-A, ESBL-M och ESBL-CARBA oxa-48 samt mcr-genen.
MLST sekvenstyp (ST):	Sekvenstypen fastställs av kombinationen av de sju allelerna.
adk/gapA:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
fumC/InfB:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
GyrB/mdh:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
icd/pgi:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
mdh/phoE:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
purA/rpoB:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae
recA/tonB:	Allel hos E. coli/Allel hos K. pneumoniae

Den här rapporten innehåller en sammanställning av resultaten från det mikrobiella övervakningsprogrammet för cefadroxilresistenta *Escherichia coli* (*E. coli*) och *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) från insamlingen 2017. Övervakningsprogrammet syftar till att ge en överblick av epidemiologin hos ESBL-producerande *E. coli* och *K. pneumoniae* samt att undersöka förekomsten av överförbar mcr-medierad kolistinresistens.

Målgruppen för rapporten är de kliniska mikrobiologiska laboratorerna och utgör för dem även ett underlag för att sätta den lokala epidemiologin av ESBL-producerande *E. coli* och *K. pneumoniae* i ett nationellt perspektiv. De deltagande laboratorerna får utöver den nationella sammanställningen även en lokal sammanställning över resultaten. Ett urval av isolat kommer att bestämmas fenotypiskt och resultaten kommer att presenteras senare i en uppdaterad version av rapporten.

Folkhälsomyndigheten är en nationell kunskapsmyndighet som arbetar för en bättre folkhälsa. Det gör myndigheten genom att utveckla och stödja samhällets arbete med att främja hälsa, förebygga ohälsa och skydda mot hälsot.

Vår vision är en folkhälsa som stärker samhällets utveckling.



Folkhälsomyndigheten

Solna Nobels väg 18, SE-171 82 Solna Östersund Forskarens väg 3, SE-831 40 Östersund.

www.folkhalsomyndigheten.se