

# Klin. Erfahrung d. Carbapenemase-Detektion mit dem NAK-Algorithmus

**Stefan Ziesing**

Institut für Med. Mikrobiologie und Krankenhaushygiene



Medizinische Hochschule  
Hannover



Medizinische Hochschule  
Hannover

# Keimidentifikation und Resistenztestung

## Mikrobiologie MH Hannover

Identifikation: MALDI-TOF

Reserve: Vitek 2, api, 16S Sequenzierung

Resistenztestung 1: Vitek II

- Standard für alle in Vitek bearbeitbaren Keime

Resistenztestung 2: Merlin

- Nonfermenter bei CF-Patienten
- Keime, die im Vitek nicht untersucht werden können
- Keime, die im Vitek nicht/schlecht anwachsen
- ***Bestätigungssystem für auffällige Resistenzen***

Resistenztestung Reserve:

Agardiffusion, Gradiententeste

# Gramnegative Stäbchen mit verminderter Carbapenem-Empfindlichkeit

## Regelwerke und Vorgaben zur Bearbeitung:

- *RKI – KRINKO*: MR-GN Klassifikation > Krh.hygiene
- *IfSG*: Meldepflicht
- dito, + *RKI Falldefinitionen*: Meldepflicht  
(cave: Widersprüche zu KRINKO-Definitionen)
- *EUCAST* (BP table, detection resistance mechanisms)
- *NAK* (Detektion von Carbapenemasen)
- *NRZ Bochum* (diverse Hilfen)
- Evtl.: Wünsche der Krankenhaushygiene in der eigenen Klinik

# Vorgehen bei V.a. verminderte Carbapenem-Empfindlichkeit > nach Vitek-Ergebnissen

**Meropenem** Cut-off abweichend von EUCAST  $\geq 0,5$ mg/l. **Imipenem** wird nicht ausgegeben (nicht an MHH gelistet)  
**Eingangskriterien:** unter Berücksichtigung von Spezies- und Vitek-Eigenheiten...

Spezies	MHK-Werte in Vitek (!)			Bearbeitung
	Meropenem MHK	Ertapenem MHK	Imipenem MHK	
<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Raoultella spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Leclercia spp.</i> <i>Pantoea spp.</i> <i>Lelliottia amnigena</i> , und andere, nicht AmpC-bildende Enterobacterales	>0,25	>0,5 (R)	egal	Carbapenemase-Testung (Immunchromat.) + Merlin Pyo
	$\leq 0,25$	>0,5 (R)	egal	Bestätigung ERT-Resistenz, z.B. E-Test, insbesondere wenn kein ESBL-Phänotyp
	$\leq 0,25$	$\leq 0,5$ (S)	>0,25	Keine weitere Bearbeitung
	>0,25 und $\leq 2$	$\leq 0,5$ (S)	egal	Ungewöhnliche Konstellation – ggf. Wiederholung als Merlin GN
	>2	egal	egal	Carbapenemase-Testung (Immunchromat.) + Merlin Pyo
<i>Proteus spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> , <i>Providencia spp.</i> , <i>Serratia spp.</i> , <i>Moellerella spp.</i>	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$ (S)	egal	Keine weitere Bearbeitung
	$\leq 0,5$	>0,5	egal	Selten, bei <i>P. mirabilis</i> ERT-E-Test
	>0,5	egal	egal	Carbapenemase-Testung (Immunchromat.) + Merlin Pyo
<i>Enterobacter spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>H. alvei</i>	$\leq 0,25$	>0,5 (R)	egal	Keine weitere Bearbeitung
	>0,25	egal	egal	Carbapenemase-Testung (Immunchromat.) + Merlin Pyo

# Vorgehen bei V.a. verminderte Carbapenem-Empfindlichkeit

Basis: Vitek II incl. MEM, ERT u. IPM

Primär:

- „Merlin Pyo“ = Merlin Pseudomonas  
MIC M/E1-221-040
  - Bestätigung Carbapenem-Resistenz
  - Reserveantibiotika (Colistin, Fosfomycin, Ceftolozan-Tazobactam, Ceftazidim-Avibactam)
- Immunchromatographie Carbapenemasen (Coris O.K.N.V.I RESIST-5)
  - Schnelle Detektion häufiger Carbapenemasen

Weitere Bearbeitung

- mCIM/zCIM
  - Carbapenemase-Screening
- Rosco KPC, KPC, MBL and OXA-48 Confirm Kit
  - phänotypische Charakterisierung

## Vorgehen nach NAK <sup>1</sup>

- ✓ Substanzauswahl
- ✓ Zweites Testsystem
- ✓ Differenzierung (+Geschwindigkeit)
- ✓ Aktivitäts-Test
- ✓ Differenzierung Inhibitorbasiert

1) Empfehlungen zur Detektion von Carbapenemasen bei Enterobakterien

# Endstrecke: Interpretation der Resultate

## 1. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Raoultella spp.* sowie andere Enterobacterales mit sensiblen Wildtypen

(*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Leclercia spp.*, *Pantoea spp.*, *Lelliottia amnigena*, und andere, nicht AmpC-bildende Enterobacterales)

Die genannten Spezies und Genera weisen keine chromosomal codierten AmpC-β-Lactamasen auf. In Abwesenheit von Carbapenemasen und (!) ESBL-Produktion mit ggf. kombiniertem Porinverlust ist regelhaft von einer vollständigen Carbapenem-Empfindlichkeit auszugehen.

Ergebnis Merlin	Ergebnis RESIST 5	Weiteres Vorgehen		
MEM ≤ 0,25	Positiv, z.B. OXA-48			Klassifikation als 4MRGN Meldung GA Befundung: Typ der Carbapenemase
			Carbapenemase	Klassifikation als 4MRGN Meldung GA Befundung: Typ der Carbapenemase Versand an NRZ
	Negativ: ROSCO Confirm Kit mCIM/zCIM	ROSCO: Mechanismus bestimmbar:	AmpC + Porinverlust	IPM-R: Klassifikation als 4MRGN nach KRINKO+ Meldung GA IPM-I: Meldung GA Befundung: AmpC+Porinverlust
			mCIM/zCIM positiv	Klassifikation als 4MRGN Versand NRZ Befundung: weitere Abklärung
		ROSCO: kein Mechanismus bestimmbar:	mCIM/zCIM negativ	IPM > 1: Versand NRZ Befundung als ?4MR+weitere Abklärung
				IPM ≤ 1 und ERT > 0,5 > ERT-E-Test ERT-R: Meldung GA ERT-S: nichts
MEM > 0,5	Positiv			Klassifikation als 4MRGN, Meldung GA Befundung: Typ der Carbapenemase
			Carbapenemase	Klassifikation als 4MRGN Meldung GA Befundung: Typ der Carbapenemase Versand an NRZ
	negativ ROSCO Confirm Kit mCIM/zCIM	ROSCO: Mechanismus bestimmbar:	AmpC + Porinverlust	MEM-R: Klassifikation als 4MRGN nach KRINKO + Meldung GA MEM-I: Meldung GA Befundung: AmpC+Porinverlust
			mCIM/zCIM positiv	Klassifikation als 4MRGN Versand NRZ Befundung: weitere Abklärung
		ROSCO: kein Mechanismus bestimmbar:	mCIM/zCIM negativ	MEM-R oder IPM-R: Klassifikation als 4MR; Versand NRZ; Meldung GA Befundung: weitere Abklärung
				MEM-I oder IPM-I: Versand NRZ; Meldung GA Befundung als ?4MR+weitere Abklärung MEM-S und IPM-S und ERT-R ERT-E-Test, wenn R: Meldung GA; Versand NRZ Befundung als ?4MR+weitere Abklärung

# Endstrecke: Interpretation der Resultate

Weitere Keimgruppen:

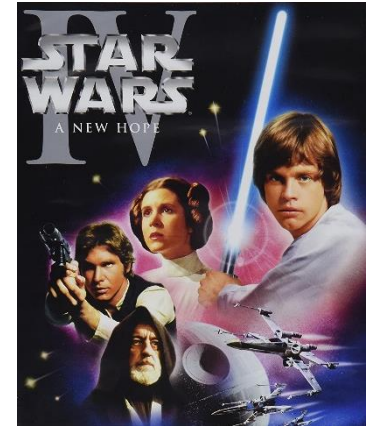
## **2. *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella aerogenes*, (*H. alvei*)**

Für die genannten Spezies ist aufgrund chromosomal kodierter AmpC- $\beta$ -Lactamasen bei vorliegenden Permeabilitätsstörungen der äußeren Zellmembran (Porinverlust) eine verminderte Aktivität von Ertapenem häufig. In Abwesenheit anderer Zeichen für Carbapenem-Resistenz sind entsprechende Stämme weder als 4MRGN zu klassifizieren noch unterliegen sie einer Meldepflicht.

## **3. *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Serratia spp.*, *Moellerella spp.***

Die Spezies dieser Gruppe weisen gfs. erhöhte, auch R zu bewertende MHK-Werte für Imipenem auf. In Abwesenheit anderer Zeichen für Carbapenem-Resistenz sind entsprechende Stämme weder als 4MRGN zu klassifizieren noch unterliegen sie einer Meldepflicht.

# (Ständige) Aufgabe: Erprobung neuer Verfahren



## > Eine neue Hoffnung: zCIM?

Erprobung parallel zur Austestung  
Merlin Micronaut-S Carbapenemase

Im Vgl. zu mod Hodge und mCIM

Ergebnis nach 10 Stämmen, NRZ bestätigt, 7x Carbapenemase pos., 3 x neg.

	Carbapenemase	
	nachgewiesen	nicht nachgewiesen
zCIM	7/7	0/3
mCIM	6/7, 1/7 grenzw.	0/3; 2/3 grenzw.
mod Hodge	2/7; 3/7 fragl.	2/3

Sattler J, A Brunke, A Hamprecht. 2021. Systematic comparison of three commercially available combination disc tests and the zinc-supplemented carbapenem inactivation method (zCIM) for carbapenemase detection in Enterobacterales isolates. J Clin Microbiol 59:e03140-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.03140-2>



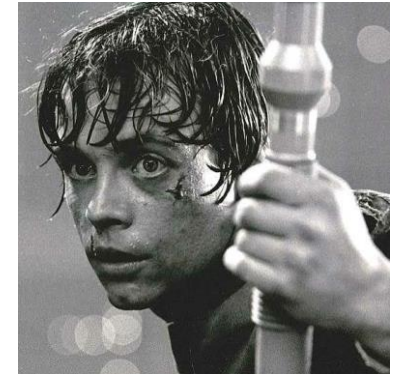
# Fortsetzung – jetzt 30 Stämme:

## Die neue Hoffnung – erschüttert?

Im Vgl. zu mCIM

Ergebnis nach 30 Stämmen,

- 18 x Carbapenemasen,
- 12 x andere Mechanismen



		Carbapenemase			
		nachgewiesen	ohne	Sensitivität	Spezifität
<b>zCIM</b>	zCIM pos.	14	0	77,8	100
	zCIM neg.	4	12		
<b>mCIM</b>	mCIM pos.	16	0		
	mCIM grenzw	1	5		
	mCIM neg.	1	7		
(alle grenzwertigen: HH 1mm kleiner als BP zu negativ)					
bei Bewertung grenzwertig als negativ:				Sensitivität	Spezifität
	mCIM pos.	16	0	88,9	100
	mCIM neg.	2	12		

# Fortsetzung – jetzt 30 Stämme:

## Die neue Hoffnung – erschüttert?



### Ergebnisse nach Carbapenemase-Typ

zCIM	MBL	OXA-Type	KPC	AmpC + Porinverlust
Anzahl ges.	10	<b>6</b>	2	7
davon zCIM pos.	10	<b>2</b>	2	0

### MEM-MHK Range OXA-Type:

zCIM pos:  $\leq 0,125$  (1x) – 8 (1x)

zCIM neg:  $\leq 0,125$  (2x) – 0,5 (1x) - 1 (1x)

Literaturdaten zu zCIM: Sensitivität für Class D OXA-Type: 100%

L. Lucena Baeza et al. 2019. Clin Microbiol Infect. 25:1286.e9e1286.e15

Sattler J. et al. 2021. J Clin Microbiol 59:e03140-20

# Zusammenfassung

- Das NAK-Papier „Empfehlungen zur Detektion von Carbapenemasen bei Enterobakterien“
  - strukturiert die Abarbeitung im Labor und
  - trifft sich mit dem über die Zeit gewachsenen Umgang mit der Fragestellung
  - Kann nicht alle Fälle in der Praxis auflösen
- Verfügbare (und bei uns eingesetzte) Testsysteme bieten weiterhin keine ausreichende Sensitivität und Spezifität
- Besonderes Problem: sichere Identifikation von Mechanismen der verminderten Carbapenem-Empfindlichkeit in Abwesenheit von Carbapenemasen
- Werden wir demnächst für alle Stämme, die nicht einfach zu charakterisieren sind, auf NGS setzen?
- Im Ringversuch Bakteriologie: Darf die Charakterisierung der verminderten Carbapenem-Empfindlichkeit als Zielwert gefordert werden?

