

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 $\geq 0,5\text{mg/l}$. **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 ≤ 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 ¹

- ✓ 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 IPM <= 1 und ERT <=0,5: 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- β -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
zCIM	zCIM pos.	14	0	77,8	100
	zCIM neg.	4	12		
mCIM	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	6	2	7
davon zCIM pos.	10	2	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?

