

NRZ RATGEBER CPE 2.0

Erkennen – Kontrollieren – Therapieren

16.4.2014



Hintergrund

Weltweit häufen sich Berichte über Enterobakterien (EB), die aufgrund von Carbapenemaseproduktion resistent gegen Carbapeneme sind. Als Konsequenz dieser Entwicklung empfiehlt das Bundesministerium für Gesundheit seit Sommer 2010 allen mikrobiologischen Labors, ‚verdächtige‘ Isolate an das Nationale Referenzzentrum für nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz am Ordensklinikum Linz – Elisabethinen (www.referenzzentrum.at) weiterzuleiten. Durch eine akkordierte Vorgehensweise soll die lokale Epidemiologie in Österreich möglichst gut eingeschätzt werden können.

Wohin mit verdächtigen Enterobakterien?

Das vorliegende Dokument versteht sich als Ratgeber, soll und kann die aktuelle Literatur nicht ersetzen und wurde nach Erscheinen und in Anlehnung an die „*EUCAST guideline for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance*“ überarbeitet.

Ziel ist es trotz unterschiedlicher diagnostischer Möglichkeiten allen Labors eine Anleitung anzubieten, um Carbapenemase produzierende Enterobakterien (CPE) leicht erkennen zu können. Darüber hinaus nimmt das NRZ verdächtige Isolate zur vollständigen Abklärung (inkl. phänotypischer und molekularbiologischer Zuordnung) entgegen. Den aktuellen Begleitschein finden Sie bitte unter www.referenzzentrum.at. Auf Wunsch kann auch eine Infektkettenabklärung durchgeführt werden. Labors, die sämtliche diagnostische Schritte selber durchführen, werden gebeten ihre Ergebnisse zu dokumentieren, die Isolate zu asservieren und gegebenenfalls dem NRZ zur Verfügung zu stellen.

Nationales Referenzzentrum für nosokomiale Infektionen und Antibiotikaresistenz
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Tropenmedizin
Ordensklinikum Linz - Elisabethinen
Fadingerstraße 1, 4020 Linz
+43 (0)732 7676-3654
office@referenzzentrum.at
www.referenzzentrum.at

Müssen CPE gemeldet werden?

Für Resistenzmechanismen per se besteht in Österreich keine Meldepflicht. Die im NRZ erhobenen Daten können daher nur eine grobe Einschätzung der lokalen Epidemiologie wiedergeben. In etwa der Hälfte der zugewiesenen Isolate der letzten Jahre lagen andere Resistenzmechanismen als Carbapenemaseproduktion vor, was die Sinnhaftigkeit einer Filterstelle vor der Weiterleitung der Daten an die Behörde belegt. In Österreich konnten mit April 2014 Carbapenemasen vom Typ VIM, KPC, NDM-1, und OXA-48 bei Enterobakterien verschiedener Spezies nachgewiesen/bestätigt werden. Dies entspricht zumindest Stufe 2b in der aktuell angewandten Skalen-Einteilung zur epidemiologischen Situation eines Landes.

Warum sind CPE gefährlich?

Invasive CPE Infektionen haben eine deutlich höhere Mortalität vor allem durch eingeschränkte Therapiemöglichkeiten. Die Erreger sind häufig neben Betalaktamantibiotika auch gegen Chinolone, Aminoglykoside und Co-Trimoxazol resistent. Therapeutische Alternativen können Tigecyclin, Fosfomycin und Colistin sein. Gefährlich ist neben einer klonalen Streuung die Verbreitung der Carbapenemasegene über Plasmide, da diese zwischen Bakterien(arten) ausgetauscht werden können.

Carbapenemasen können grob in drei Klassen eingeteilt werden. Die derzeit wichtigsten und am häufigsten auftretenden Enzyme sind fett gedruckt.

Carbapenemaseklasse	Familie
Ambler Klasse A mit 9 Familien (Serin Carbapenemasen)	KPC: Vorkommen weltweit mit besonders hoher Prävalenz in den USA, Israel, Griechenland; häufig mit Ausbrüchen assoziiert; meist <i>K. pneumoniae</i> , aber auch andere EB; Ausbreitung über Plasmide und klonal. Weitere: SME, NMC-A, IMI, PER, GES, SFO, SFC, IBC
Ambler Klasse B mit 6 Familien (Metallo-Carbapenemasen, MBL)	VIM: häufig in Österreich mit globalem Vorkommen, endemisch in Griechenland und Italien; meist <i>K. pneumoniae</i> ; Ausbreitung v.a. über Plasmide. NDM: Weltweites Vorkommen mit besonders hoher Prävalenz am indischen Subkontinent; Importierte Fälle assoziiert mit Reisen, Krankenhausaufenthalten und Dialysebehandlungen in o.a. Gebieten; viele EB Species; Ausbreitung meist über Plasmide (weniger häufig klonal). IMP: globales Vorkommen; v.a. Ausbreitung über Plasmide. Weitere: GIM, SIM, SPM, FIM
Ambler Klasse D mit 2 Familien (OXA Carbapenemasen)	OXA-48 und deren Varianten: europaweites Vorkommen mit besonders hoher Prävalenz in der Türkei, dem mittleren Osten und Nordafrika; Ausbreitung über Plasmide und klonal; Isolate können auf Cephalosporine empfindlich sein! Weitere: PSE

Worin liegt die diagnostische Herausforderung?

Eine herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber Carbapenemen muss nicht zwangsläufig auf der Produktion von Carbapenemase beruhen. So können zum Beispiel CTX-M ESBL produzierende Stämme in Kombination mit Porinveränderung oder Efflux-Pumpen eine eingeschränkte Sensibilität gegenüber Carbapenemen aufweisen. Gleiches gilt für AmpC Betalactamase produzierende Stämme. Porinveränderungen sind oft instabil und gehen mit einer herabgesetzten Fitness des Erregers einher, weswegen diese Isolate eher selten Ausbreitung finden. Ertapenem ist von diesen Resistenzmechanismen am stärksten betroffen.

Konstellationen, die NICHT weiter bzgl. Carbapenemase untersucht werden müssen:

- Bakterien der Genera *Proteus*, *Morganella* und *Providencia*, die NUR Imipenem resistent sind. Diese weisen gegenüber Imipenem intrinsisch eine niedrige Empfindlichkeit auf.
- *Enterobacter* spp. mit Cephalosporin- und low-level Ertapenem Resistenz sofern diese voll empfindlich (MHK Wert innerhalb der Wildtypverteilung) für Imipenem und Meropenem sind. Hierbei handelt es sich in der Regel um Kombinationen aus AmpC und Porinveränderungen

Wann sind Enterobakterien verdächtig? - CPE Erkennen

WICHTIG: Trotz nach klinischen EUCAST breakpoints als für Therapiezwecke sensibel eingestufte Stämme (z.B. Meropenem $\leq 2\text{mg/L}$) können ein Carbapenemasegen tragen. Meropenem ist aus mehreren Gründen zum Screening auf CPE anderen Carbapenemen überlegen und wird daher auch von der ÖGACH als erste Wahl im Routineantibiogramm für Enterobakterien empfohlen (www.oegach.at).

Im Folgenden wird ein routinetaugliches Verfahren bestehend aus 2 Schritten vorgeschlagen, das bitte vor einer möglichen Weiterleitung des Isolates an das NRZ durchgeführt werden sollte. Falls Sie den EUCAST Blättchendiffusionstest anwenden halten Sie sich bitte grundsätzlich streng an die Vorgaben zur qualitätskontrollierten Testdurchführung sowie an die EUCAST Grenzwerte in ihrer aktuellen Version (www.eucast.org).

Ausgehend vom Routine-Antibiogramm, das ein 10 μg Meropenem Blättchen enthalten sollte, erfolgt die Testung in zwei Schritten. Dabei wird an den Schritt 1 = CPE-Screening ein Schritt 2 = CPE-Bestätigung angeschlossen. Schritt 2 kann primär phänotypisch sowie in weiterer Folge molekularbiologisch erfolgen. Das Schema auf Seite 6 veranschaulicht die diagnostischen Details des 2 stufigen Verfahrens.

Schritt 1: CPE-Screening

Bei positivem Screeningergebnis (= Ergebnis aus Blättchendiffusion oder MHK; siehe Schema S.6) im Routineantibiogramm wird dieses mittels Meropenem MHK Bestimmung wiederholt. Lassen sich die Ergebnisse oberhalb der Wildtypverteilung reproduzieren, wird Schritt 2 angeschlossen. Werden im Labor Methoden zur Empfindlichkeitstestung eingesetzt, die MHK Werte unter 0,5 mg/L nicht detektieren, muss ≥ 0.5 mg/L verwendet werden. Liegen beim Patienten Risikofaktoren für das Vorliegen einer Ambler Klasse D Carbapenemase vor (Aufenthalt in einem Hochendemiegebiet, Kontakt mit bestätigtem Träger) wird im Blättchendiffusionstest ein strengerer Screeningbreakpoint und dessen Bestätigung unabhängig von der MHK empfohlen.

Schritt 2: CPE-Bestätigung

2.1 Phänotypische Bestätigung

- **Betalaktamaseassays**
Weisen die hydrolytische Aktivität aller Carbapenemaseklassen nach und sind daher besonders zum Ausschluss einer Carbapenemaseproduktion geeignet. Verschiedene Testsysteme sind verfügbar (Carba NP Test, MALDI TOF etc.). Eine abschließende Aussage bezüglich Sensitivität und Spezifität ist noch ausständig.
- **Nachweis von Synergismen**
 - **Meropenem mit Dipikolinsäure, Borsäure und Cloxacillin**
Detektion und Unterscheidung von Carbapenemase der Ambler Klasse A und B sowie Abgrenzung zu AmpC Betalactamasen in Verbindung mit Porinverlust und/oder Effluxpumpen. Nachteil: Carbapenemase der Ambler Klasse D können nur indirekt in Zusammenschau mit der Empfindlichkeit gegenüber Temocillin nachgewiesen werden.
 - **Meropenem + EDTA**
Detektion von Carbapenemase der Ambler Klasse B. ACHTUNG: Imipenem + EDTA Synergismus sollte nur mehr bei *P.aeruginosa* und *Acinetobacter spp.* eingesetzt werden.

- Diagnostische Empfindlichkeit gegenüber Temocillin und Piperacillin / Tazobactam
- Eine High Level Temocillin Resistenz (MHK >32/64 mg/L oder Blättchendurchmesser bei 30 µg Disc Content < 11 mm) spricht NUR in Verbindung mit negativen Synergismustestungen für das Vorliegen einer Klasse D Carbapenemase. Eine molekularbiologische Bestätigung muss angeschlossen werden.
- Ein weiterer Ansatz zum Ausschluss von OXA-48 ist die Kombination von modifizierten Temocillin (Blättchen mit Disc Content 30µg; ≥ 12mm) und Piperacillin/Tazobactam (Blättchen mit Disc Content 100/10µg; ≥ 16mm) Breakpoints.
- Modifizierter Hodge Test („Cloverleaf Test“)
ACHTUNG: Häufig sehr schwierig abzulesen (subjektive Komponente in der Interpretation) und nicht selten falsch positive Ergebnisse (v.a bei Vorliegen von AmpC Betalactamasen in Verbindung mit Porinverlust und/oder Effluxpumpen).
Vorteil: Alle 3 bekannten Carbapenemaseklassen können detektiert werden (OXA-48 liefert meistens positive Ergebnisse). Nachteil: Ein negatives Ergebnis schließt das Vorliegen einer Carbapenemase nicht aus (insbesondere bei MBL häufig falsch negative Ergebnisse).
Aufgrund der angeführten Einschränkungen wird der modifizierte Hodge Test NICHT mehr als Bestätigungstest empfohlen.

2.2 Molekularbiologische Bestätigung

Bei Vorliegen mehrerer Resistenzgene kann es schwierig sein mittels phänotypischer Tests eine exakte Zuordnung zu treffen, da sich unterschiedliche Mechanismen auch maskieren können. Molekularbiologische Methoden ermöglichen die Zuordnung der wichtigsten und häufigsten AmpC-, ESBL- und Carbapenemasegene und können vom NRZ durchgeführt werden.

Wurde eine Carbapenemase nachgewiesen/bestätigt, empfiehlt EUCAST den Keim gemäß EUCAST breakpoints zu interpretieren, aber einen entsprechenden Kommentar am Befund für die Krankenhaushygiene zu vermerken. Diesbezügliche Maßnahmen entnehmen Sie bitte dem ‚Ratgeber Carbapenemasen Kontrollieren‘ unter www.referenzzentrum.at. Des Weiteren sollte eine Information an den behandelnden Arzt erfolgen.

Literatur

EUCAST guideline for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 1.0 December 2013

hpa.org.uk – Advice on Carbapenemase Producers: Recognition, Infection control and Treatment

Anschreiben des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG-III/1; BMG-21756/0068-III/1/2010 vom 18.8.2010) an alle Landessanitätsdirektionen. Betreff: Enterobakterien mit Carbapenemaseproduktion (NDM-1)

Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA, Dutch working party on detection of highly resistant microorganisms. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Sep; 36(3):205-10 (*).

Grundmann H et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill*. 2010 Nov 18;15(46). pii: 19711. Erratum in: *Euro Surveill*. 2011;16(5). pii: 19781. *Euro Surveill*. 2011;16(3). pii: 19766.

Kumurasamy KK et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2010; 10:597-602.

Pöpl W und H. Burgmann. Carbapeneme. *Antibiotikamonitor* 3/4/2010

Giske CG, Gezelius L, Samuelsen Ø, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-β-lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:552-6.

Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. *J Clin Microbiol*. 2012;50:3877-80.

van Dijk K, Voets G, Scharringa J, Voskuil S, Fluit A, Rottier W, Leverstein-Van Hall M, Cohen Stuart J. A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid, and temocillin. *Clin Microbiol Infect* 2013. In press

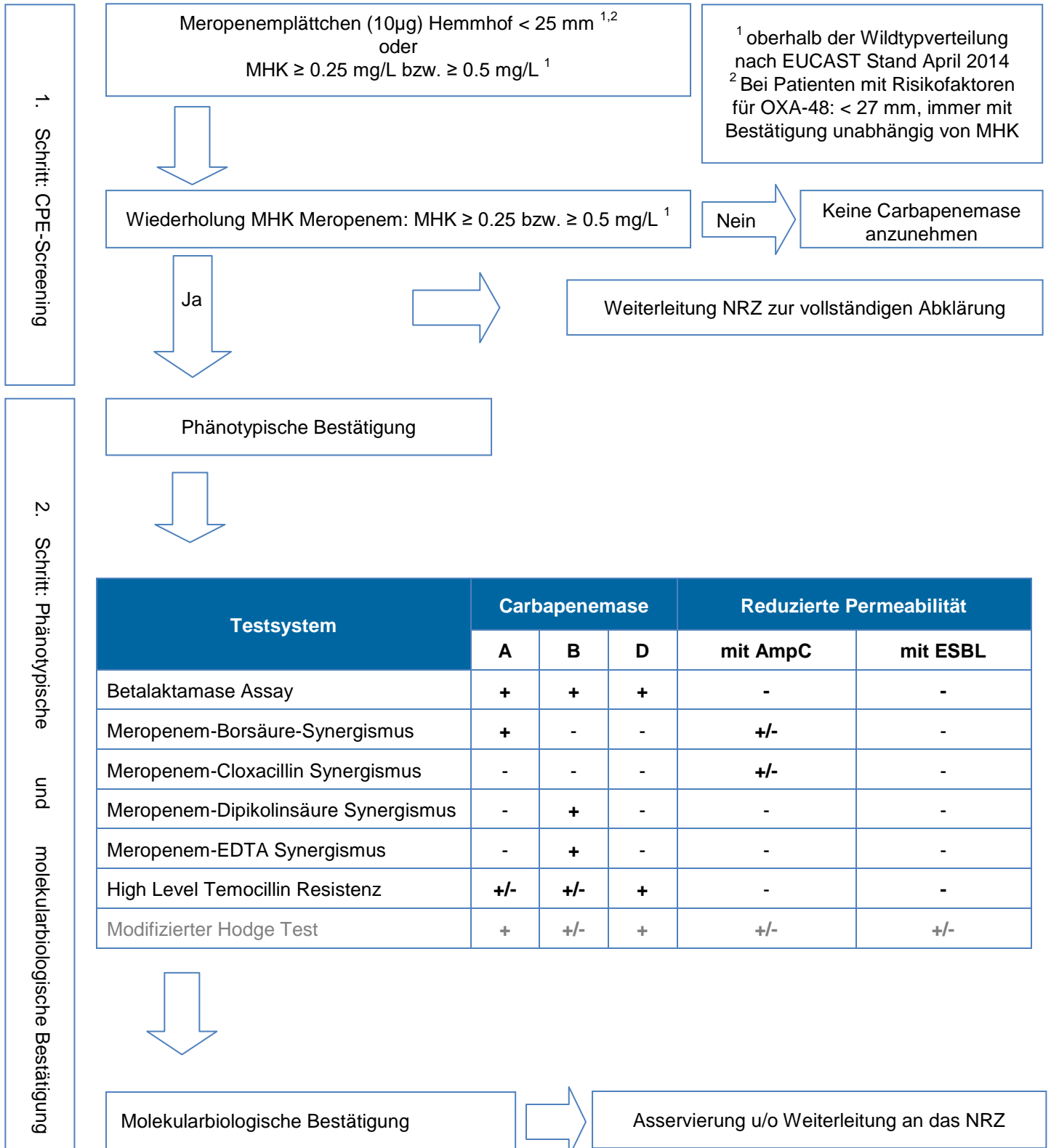
Hartl R, Widhalm S, Kerschner H, Apfalter P. Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E230-2.

Hrabák J, Studentová V, Walková R, Zemlicková H, Jakub V et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2441-3

Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:1503-7.

Te-Din Huang, Laurent Poirel, Pierre Bogaerts, Catherine Berhin, Patrice Nordmann, and Youri Glupczynski Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers J. *Antimicrob. Chemother*. 2014; 69: 445-50.

Schema für Carbapenemase-Screening bei Enterobakterien



¹ oberhalb der Wildtypverteilung nach EUCAST Stand April 2014
² Bei Patienten mit Risikofaktoren für OXA-48: < 27 mm, immer mit Bestätigung unabhängig von MHK