

Empfehlungen zur Detektion von Carbapenemasen bei Enterobakterien (Enterobacterales)

A. Hamprecht, M. Kresken, D. Mack, E. Molitor, S. Gatermann

Inhalt

Hintergrund der Carbapenemresistenz.....	2
Screeningtest/Eingangskriterien für die weitere Untersuchung auf Carbapenemasen	3
Bestätigungstests.....	4
Algorithmus zur Untersuchung auf Carbapenemasen	6
Relevanz der Befunde und Reihenfolge der Testverfahren	8
Hinweise zu einzelnen Testverfahren	8
Differenzierungstests	8
Immunochematographische Tests.....	8
Nukleinsäureamplifikationstechniken (NATs).....	9
Combination Disk Tests (Inhibitor-Tests).....	9
Aktivitätstests	10
Carbapenemase-Inaktivierungs-Methode (CIM).....	10
Colorimetrische Tests, z.B. CARBA-NP Test, β -CARBA, Carba Blue u.a.	10
MALDI-ToF	10
Modifizierter Hodge Test	10
Weitere Hinweise zu Carbapenemase-Testverfahren	11
Interpretation der Ergebnisse & Befundbericht	11
Carbapenemasen bei <i>Acinetobacter</i> spp. und <i>Pseudomonas</i> spp.	11
<i>Acinetobacter</i> spp.	11
<i>Pseudomonas</i> spp.	11
Interessenskonflikte.....	12
Literatur.....	14

Hintergrund der Carbapenemresistenz

Carbapenemresistenz bei Enterobakterien kann durch verschiedene Mechanismen verursacht sein, z.B. durch Enzyme, die Carbapeneme hydrolysieren (Carbapenemasen) oder durch die Kombination von anderen Resistenzmechanismen, z.B. ESBL- oder AmpC-Betalaktamasen in Kombination mit Porinveränderungen (v.a. bei *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*), Abb. 1.

Die Detektion von **Carbapenemasen** hat aus therapeutischen, hygienischen und epidemiologischen Gründen einen besonderen Stellenwert.

Mit heute verfügbaren Verfahren ist die Detektion fast aller Carbapenemasen auch in Laboren ohne molekularbiologische Testverfahren möglich. Zu beachten ist, dass in Deutschland auch Carbapenemasen endemisch sind (z.B. OXA-48-Gruppe, VIM), die nur zu geringfügig erhöhte Carbapenem-MHKs führen (MHKs 0,125-8 mg/L) und daher leicht übersehen werden können. Dies bedeutet, dass auch bei formal sensiblen Isolaten ein Algorithmus zum Screening auf Carbapenemasen angewandt werden sollte. Im positiven Fall sollte dann ein Bestätigungstest durchgeführt werden (Abb. 2).

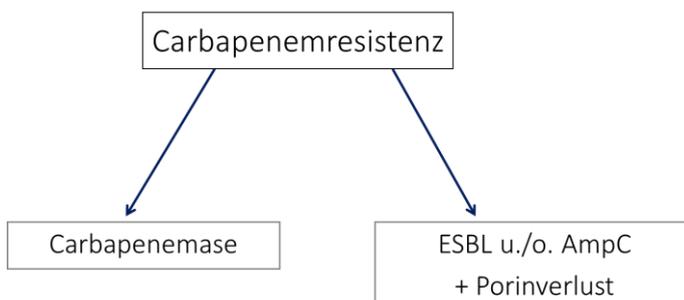


Abb. 1 Mechanismen der Carbapenem-Resistenz bei Enterobakterien

Die Testung auf Carbapenemasen beruht auf einem Screening-Test (MHK oder Hemmhofdurchmesser) und mindestens einem Bestätigungstest.

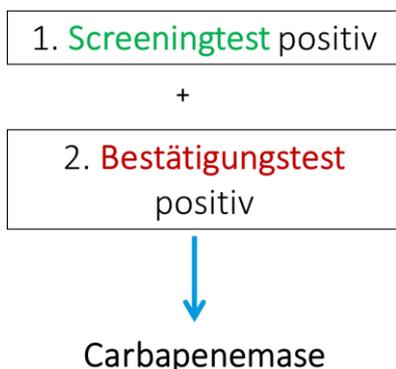


Abb. 2 Vorgehen beim Nachweis von Carbapenemasen

Screeningtest/Eingangskriterien für die weitere Untersuchung auf Carbapenemasen

1. Es sollte eine Testung (MHK oder Hemmhofdurchmesser) von Ertapenem sowie Meropenem ± Imipenem erfolgen. Ertapenem besitzt die höchste Sensitivität, aber eine vergleichsweise geringe Spezifität zur Detektion einer Carbapenemase.
2. Idealerweise sollten die eingesetzten Testsysteme bei Enterobakterien auch MHK-Werte unterhalb des Screening Cut-off von EUCAST bestimmen können (0,125 mg/L für Meropenem und Ertapenem sowie 1 mg/L für Imipenem).
3. Bei einer MHK > 0,125 mg/L für Ertapenem oder Meropenem bzw. > 1mg/L für Imipenem erfolgt dann in Abhängigkeit der Spezies eine weitere Abklärung (s. **Tab. 1, Tab. 2**).
 Sofern die niedrigste MHK, die mittels des eingesetzten Systems gemessen werden kann, oberhalb des Screening Cut-off liegt (z.B. 0,25 mg/L in einigen automatisierten Testsystemen), muss die nächst höhere Dilutionsstufe (0,5 mg/L) als Eingangskriterium für eine weitere Untersuchung auf Carbapenemasen verwendet werden. Dieses Vorgehen aber mit einem Sensitivitätsverlust behaftet.
4. Es ist sinnvoll, erhöhte Carbapenem-MHKs (über dem jeweiligen Screening-Cut-Off), die mittels eines automatisierten Testsystems bestimmt wurden, durch ein zweites Testverfahren zu überprüfen (z.B. Mikrodilution, ggf. Agardiffusion) sowie die Speziesidentität und Reinheit der Kultur zu verifizieren. Dies darf jedoch nicht zu einer Verzögerung der Carbapenemase-Detektion/des Befundes führen.
5. Die MHK-Werte von Ampicillin-Sulbactam und/oder Amoxicillin-Clavulansäure für Carbapenemase-produzierende Isolate sind immer im resistenten Bereich. Bei Isolaten mit erhöhten Carbapenem-MHKs aber niedriger MHK für Ampicillin-Sulbactam oder Amoxicillin-Clavulansäure (< 16 mg/L) muss daher keine weitere Abklärung der Carbapenemresistenz erfolgen. Hier sollte eine Verunreinigung ausgeschlossen werden, ggf. liegt ein Messfehler vor. Bei den meisten Carbapenemase-produzierenden Isolaten liegen ferner hohe MHK-Werte (> 64 mg/L) für Piperacillin-Tazobactam vor (ca. 99%).
6. Je nach Spezies und Testsystem ist die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Carbapenemase unterschiedlich hoch. Während bei *K. pneumoniae* oder *E. coli* mit einer Erhöhung der Carbapenem-MHKs häufig eine Carbapenemase ursächlich ist, ist die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Carbapenemase bei Carbapenemresistenz von *K. aerogenes* sehr niedrig. Dementsprechend sind die Screening-Kriterien je nach Spezies unterschiedlich (**Tab. 1**).
7. Die bei verschiedenen Carbapenemasen typischerweise auftretenden Empfindlichkeiten sind in **Tab. 3** aufgeführt.

Tab. 1 Eingangskriterien für eine weitere Untersuchung auf Carbapenemasen bei Enterobakterien

	Cut-off (MHK)	Cut-off (HHD)	Bemerkung
Gruppe I (Morganellaceae) <i>Proteus</i> spp. <i>Serratia</i> spp., <i>M. morgani</i> , <i>Providencia</i> spp.	Ertapenem > 0,125 mg/L u./o. Meropenem > 0,125 mg/L Bei <i>Proteus</i> spp. zusätzlich Ampicillin-Sulbactam >16 mg/L	Ertapenem < 25 mm u./o. Meropenem < 28 mm UND Ampicillin-Sulbactam < 12 mm	Eine isolierte Imipenem-Resistenz ist nicht weiter abklärungsbedürftig.
Gruppe II (AmpC-Bildner) <i>Enterobacter</i> spp., <i>K. aerogenes</i> , <i>C. freundii</i> Komplex <i>Hafnia</i> spp.	Meropenem > 0,125 mg/L u./o. Imipenem > 1 mg/L	Meropenem < 28 mm u./o. Imipenem < 23 mm	AmpC ± ESBL und Porinveränderung häufig! Keine Berücksichtigung von Ertapenem
Gruppe III <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (außer <i>K. aerogenes</i>)	Ertapenem > 0,125 mg/L u./o. Meropenem > 0,125 mg/L u./o. Imipenem > 1 mg/L UND Ampicillin-Sulbactam > 16 mg/L	Ertapenem < 25 mm u./o. Meropenem < 28 mm u./o. Imipenem < 23 mm UND Ampicillin-Sulbactam < 12 mm	Bei Erfüllung der Kriterien häufig Vorliegen einer Carbapenemase.
Gruppe IV (andere Spezies)	Ertapenem > 0,125 mg/L u./o. Meropenem > 0,125 mg/L u./o. Imipenem > 1 mg/L UND Ampicillin-Sulbactam > 16 mg/L	Ertapenem < 25 mm u./o. Meropenem < 28 mm u./o. Imipenem < 23 mm UND Ampicillin-Sulbactam < 12 mm	

MHK, minimale Hemm-Konzentration; HHD, Hemmhofdurchmesser

Bestätigungstests

Es müssen Bestätigungstests durchgeführt werden, mit denen die in Deutschland häufig vorkommenden Carbapenemasen sicher detektiert werden können. Die Bestätigungstests sollen für Isolate aus Deutschland validiert sein.

Es wird empfohlen, zwei verschiedene Bestätigungstests zu etablieren

- 1) Test, der eine **Differenzierung** der wichtigsten Carbapenemase-Familien erlaubt
→ zur Therapiesteuerung wichtig. Ceftazidim-Avibactam ist bei Infektionen durch Enterobakterien mit einer KPC oder Carbapenemase der OXA-48-Gruppe meist wirksam, nicht jedoch bei Metallo-Betalaktamase-produzierenden Isolaten (MBLs: VIM, NDM, IMP, GIM etc.).
- 2) Test auf Carbapenemase-**Aktivität** (unabhängig vom Genotyp)
→ Detektion auch seltener Carbapenemasen, die mit Differenzierungstests nicht ausreichend erfasst werden

Mittels der **Differenzierungstests** sollten zumindest die drei in Deutschland häufigsten Carbapenemase-Klassen (nach Ambler) unterschieden werden können:

- Klasse A Carbapenemasen (v.a. KPC)
- Klasse B Carbapenemasen (MBLs, v.a. VIM, NDM)
- Klasse D Carbapenemasen (Oxacillinasen, v.a. OXA-48-Gruppe)

Mögliche Differenzierungstests sind

- a) Nukleinsäureamplifikationsverfahren (NATs), z.B. PCR, LAMP.
- b) Immunochromatographische Tests (z.B. Carba-5 [NG Biotech], RESIST-4/5 [Coris] o.ä.)
- c) Inhibitor-basierte Tests (Disks bestehend aus Carbapenem + Inhibitoren für Klasse A, Klasse B sowie Temocillin für Klasse D), „in house“ oder z.B. Plättchensets von MAST, ROSCO oder Liofilchem.

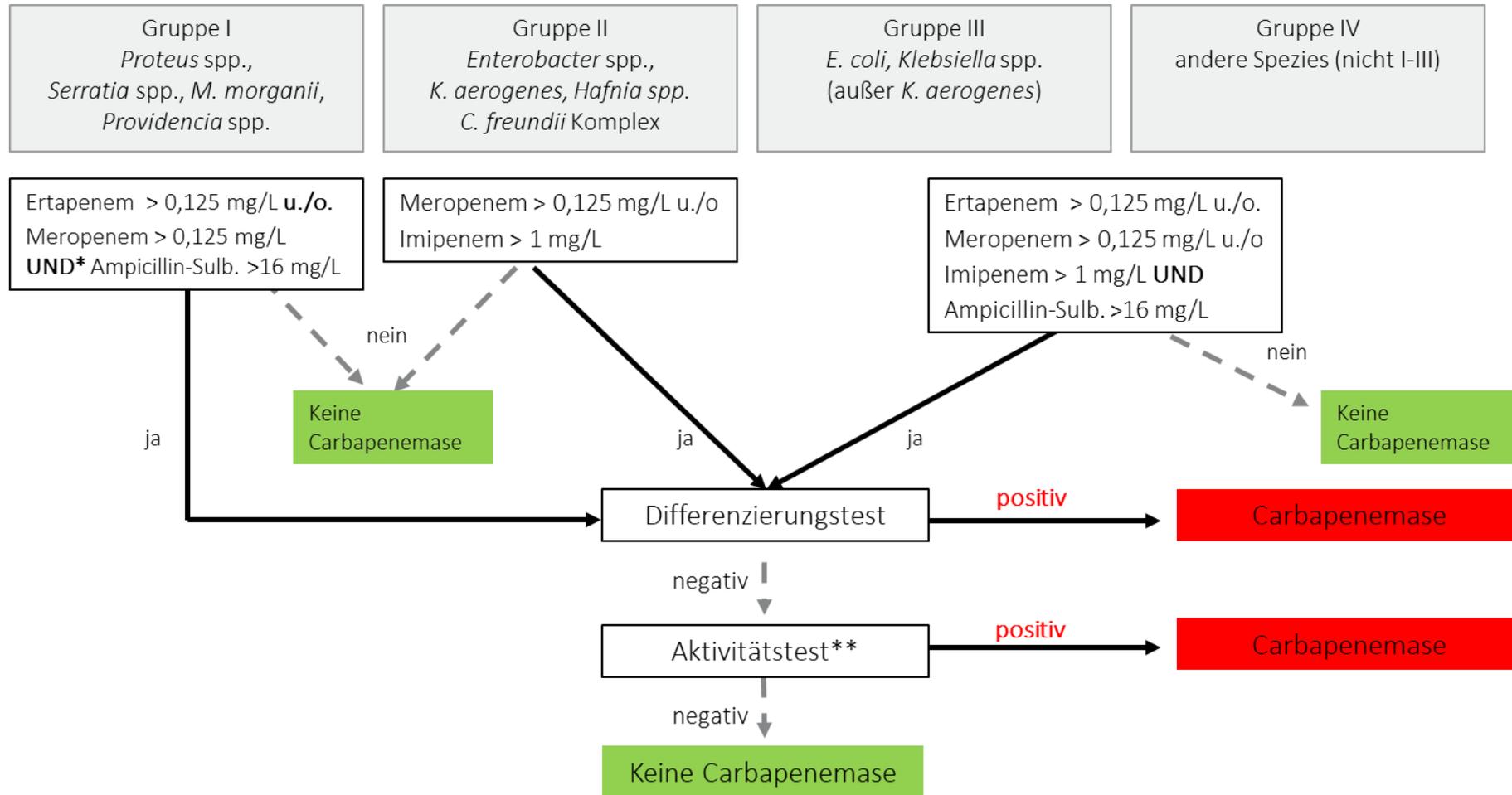
Aktivitätstests: Es sollte ein Test verwendet werden, der eine Carbapenemase-Aktivität anzeigt, unabhängig vom Genotyp und somit auch seltenere Carbapenemasen detektieren kann, die mit den üblichen Differenzierungstests (meist) nicht nachgewiesen werden können (z.B. GIM, IMI, GES, IMP).

Beispiele hierfür sind

- a) Carbapenemase-Inaktivierungs-Methode (CIM), in verschiedenen Variationen (z.B. mCIM/zCIM u.a.).
- b) Colorimetrische Tests wie CARBA-NP Test, β -CARBA, Carba Blue u.a.
- c) Hydrolysenachweis mittels MALDI-ToF

Mittels der Kombination von Differenzierungstest und Aktivitätstest können fast alle in Deutschland vorkommenden Carbapenemasen sicher nachgewiesen werden. Je nach Verdacht, Dringlichkeit/klinischer Relevanz können die Tests in unterschiedlicher Reihenfolge eingesetzt werden. Ein möglicher Algorithmus ist in **Abb.3** aufgeführt.

Algorithmus zur Untersuchung auf Carbapenemasen



*gilt nur für *Proteus* spp.

**Bei positivem Aktivitätstests aber negativem/unklarem Differenzierungstest weitere Abklärung empfohlen (NRZ, WGS)

Abb. 3 Möglicher Algorithmus zur Detektion von Carbapenemasen

Tab. 2 Übersicht über Carbapenemase-Bestätigungstests

Testverfahren	Beispiele	Carbapenemasen	Vorteile	Nachteile	TAT	Referenz
<i>Differenzierungstests</i>						
Immuno-chromatograph. Tests	CARBA 5 (NG biotech) RESIST-4/5 (Coris)	OXA-48-Gruppe, NDM, KPC, VIM z.T. IMP	Hohe Sensitivität u. Spezifität Einfach durchzuführen	Performance abhängig von Kulturmedium Preis	15-20 min.	[1-5]
Nukleinsäureamplifikationsverfahren						
a) Multiplex-PCRs			I.d.R. hohe Sensitivität u. Spezifität	Molekularbiologisches Labor erforderlich	1-5 h	[6-9]
b) PCR/LAMP im Kartuschenformat	Carba R (GenXpert, Cepheid) CARBA (GenePOC, Meridian) Eazyplex Superbug CRE, (Amplex Diagnostics)	OXA-48-Gruppe, NDM, KPC, VIM, z.T. IMP	Hohe Sensitivität u. Spezifität Einfache Handhabung auch für einzelne Proben (Kartusche)	Molekulare Plattform erforderlich Preis	15-70 min.	[10-12] [12-14]
c) Whole Genome sequencing	Illumina Oxford Nanopore PacBio	Bekannte/ publizierte	Ausführliche Charakterisierung der Isolate, Nachweis seltener Carbapenemasen	Auswertung aufwendig, von Datenbank abhängig Derzeit noch teuer (Equipment, Reagenzien), lange TAT	>2 d	[15] [16]
Combination Disk Tests mit Inhibitoren	Mastdiscs Combi Carba plus (Mast), KPC/MBL OXA-48 Confirm Kit (Rosco, Dänemark), KPC&MBL&OXA-48 disc kit (Liofilchem, Italien)	Ambler Class A, B und D (keine Differenzierung innerhalb einer Klasse möglich)	Seltenere Carbapenemasen können detektiert werden Rel. einfach durchzuführen	Interpretation z.T. schwierig, insbesondere wenn mehrere Resistenzmechanismen vorliegen	16-18 h	[7, 17, 18]
<i>Aktivitätstests</i>						
CIM-basierte Tests	mCIM zCIM	Alle	Hohe Sensitivität u. Spezifität Relativ einfache Ablesung Günstiger Preis	Aufwendig	16-18 h	[10, 19-22]
Colorimetrische Tests	Carba NP, Carba Blue, β-CARBA (BioRad); RAPIDEC Carba NP (bioMérieux), NeoRapid Carb (Rosco), CARBA PACe (MAST) u.a.	Alle	Sensitivität u. Spezifität variabel, je nach Carbapenemase u. Kulturmedium	Kommerzielle Tests teuer Subjektive Ablesung	15 min-2 h	[10, 22-31]
Modifizierter Hodge Test	Sensitivität u. Spezifität mäßig, erfordert viel Erfahrung	Alle	Günstiger Preis	Subjektive Ablesung Nicht mehr empfohlen	24 h	[22, 32]
Hydrolysenachweis mittels MALDI-ToF		Alle	Hohe Sensitivität und Spezifität	Aufwendig		[33-35]

TAT=Turn-Around Time; CIM=Carbapenem-Inaktivierungs-Methode

Relevanz der Befunde und Reihenfolge der Testverfahren

Bei **klinisch hoher Relevanz** (v.a. CPE in Blutkultur, BAL oder anderen hochwertigen klinischen Materialien): Zuerst Durchführung eines schnellen Verfahrens, idealerweise eines Tests, der die Differenzierung der wichtigsten Klassen ermöglicht (z.B. immunochromatographische Tests, PCR, s. **Abb. 1**). Dies erlaubt eine frühzeitige Therapieanpassung (z.B. Einsatz von Ceftazidim-Avibactam bei KPC/OXA-48-Nachweis). Sofern der Differenzierungstest negativ ausfällt, folgt ein Aktivitätstest (z.B. mCIM/zCIM) zum Ausschluss seltener Carbapenemasen.

Bei **klinisch weniger dringlichen Fragestellungen** und niedriger Prätest-Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Carbapenemase (z.B. bei *K. aerogenes*) kann zuerst ein Aktivitätstest mit hoher Sensitivität zur Anwendung kommen (z.B. zCIM/mCIM). Sofern das Ergebnis positiv ist, kann dann ggf. eine weitere Differenzierung erfolgen.

Wenn die durchgeführten Tests zu keinem schlüssigen Ergebnis führen, sollten die Isolate mit anderen Verfahren weiter untersucht werden. Dies können weitere molekularbiologische Untersuchungen sein (z.B. weitere PCRs oder Ganzgenomsequenzierung). Alternativ können entsprechende Isolate zwecks weitergehender Untersuchungen an das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für gramnegative Krankenhauserreger geschickt werden. Zur Surveillance der Situation in Deutschland wird die Einsendung an das NRZ auch für alle Erstdiagnosen empfohlen, sofern nicht eine Sequenzierung des Isolats mit genauer Bestimmung der Carbapenemase-Variante erfolgt ist. Der nachgewiesene Genotyp soll an das Gesundheitsamt gemeldet werden (ggf. Nachmeldung erforderlich).

Hinweise zu einzelnen Testverfahren

Differenzierungstests

Immunochromatographische Tests

Bei immunochromatographischen Tests wird das zu prüfende Isolat mit einem Lysepuffer versetzt und anschließend auf eine „lateral flow“ Kassette aufgetragen. Die Testergebnisse liegen in der Regel nach 15-20 min. vor. Sind neben der Kontroll-Bande weitere Banden sichtbar, zeigen diese eine Carbapenemase an. Je nach Test können verschiedene Carbapenemasen voneinander unterschieden werden.

Sensitivität und Spezifität der Tests sind bei Enterobakterien sehr hoch (Sensitivität >95%, Spezifität ~100%), allerdings sollten hier die Kultivierungsbedingungen beachtet werden (bessere Sensitivität bei Anzucht auf Medien mit höherem Zinkgehalt (z.B. Schafblutagar) oder bei Entnahme aus dem Hemmhofrand eines Carbapenem-Testplättchens) [3, 5].

Nukleinsäureamplifikationstechniken (NATs)

Mittels PCR oder isothermaler Amplifikation können Carbapenemase-Gene nachgewiesen werden. Der Nachweis erfolgt meist mittels klassischer PCR (meist als Multiplex-PCR) oder Real-Time PCR, hierzu ist eine entsprechende apparative Ausrüstung erforderlich. Sofern zusätzlich eine Sequenzierung des Amplifikats durchgeführt wird, kann ggf. auch der Subtyp bestimmt werden (z.B. OXA-181 oder NDM-5).

Es sind verschiedene PCRs auf unterschiedlichen Plattformen verfügbar (frei verfügbare publizierte Verfahren oder als kommerzielle Kits). Carbapenemase-PCRs sind inzwischen auch in Formaten erhältlich, mit denen Carbapenemase-Gene bei einzelnen Isolaten einfach und schnell identifiziert werden können, z.B. Carba R (Cepheid), Carba (GenePOC), Eazyplex Superbug CRE (AmplexDiagnostics GmbH) [6-8, 10, 15].

Sensitivität und Spezifität sind i.d.R. hoch, auch mehrere Carbapenemasen in einem Isolat werden zuverlässig nachgewiesen. Zu beachten ist, dass Assays ausgewählt werden, die an die deutsche Epidemiologie angepasst sind und auch neuere Carbapenemase-Subtypen detektieren können.

Zusätzlich ist die Untersuchung mittels Ganzgenomsequenzierung möglich (Whole Genome Sequencing, WGS). WGS ist derzeit noch relativ teuer und der Aufwand für Durchführung und Auswertung vergleichsweise sehr hoch. WGS wird daher derzeit überwiegend in großen universitären Laboren eingesetzt. Dafür erlaubt das WGS neben der Detektion der Carbapenemase-Gene inkl. des Subtyps weitere Analysen, z.B. zu anderen Resistenzmechanismen, zum Sequenztyp (ST), zur Klonalität u.a.[16].

Combination Disk Tests (Inhibitor-Tests)

Bei den Inhibitor-basierten Tests wird die Hemmung von Carbapenemasen durch bestimmte Inhibitoren untersucht, i.d.R. in Form von Antibiotika-Plättchen. Es sind auch Tests in Mikrotiterplatten erhältlich. Derzeit sind Inhibitoren für Metallo-Betalaktamasen (z.B. EDTA), Klasse A Carbapenemasen (Borsäure) und für AmpC Betalaktamasen (Cloxacillin) verfügbar. Für Oxacillinasen gibt es derzeit keine Hemmsubstanzen [17]. Der Nachweis von Oxacillinasen erfolgt meist über die hohe Temocillin-MHK. Zusätzlich zeigen OXA-48-Gruppe Isolate häufig einen doppelten Hemmhof im Faropenem-Plättchentest, was diagnostisch verwendet werden kann [18].

Inhibitor-basierte Tests sind vergleichsweise einfach durchzuführen, günstig und erlauben die Differenzierungen der verschiedenen Carbapenemase-Klassen (nicht aber der einzelnen Carbapenemase-Familien). Die Ablesung ist jedoch z.T. schwierig, insbesondere wenn mehrere Resistenzmechanismen in einem Isolat vorliegen [18]. Sensitivität und Spezifität lagen bei den häufigen Carbapenemasen in verschiedenen Studien unter der von immunochromatographischen Tests, PCR oder CIM-Tests [7, 10, 18, 22]. Daher sollten Inhibitor-basierte Tests nur von Laboren eingesetzt werden, die über ausreichende Erfahrung mit diesen Verfahren verfügen.

Aktivitätstests

Carbapenemase-Inaktivierungs-Methode (CIM)

Bei der Carbapenemase-Inaktivierungs-Methode wird ein Carbapenem (i.d.R. Meropenem) als Disk in einer Suspension des zu untersuchenden Stamms in einer Bouillon für 2-4 h inkubiert. Nach der Inkubation wird das Plättchen entfernt und auf eine Mueller-Hinton-Agarplatte gelegt, die mit dem sensiblen *E. coli* ATCC 25922 inokuliert wurde. Sofern eine Carbapenemase vorliegt, wird das Carbapenem inaktiviert und es resultiert nach weiterer Inkubation für 16-20h kein oder nur ein kleiner Hemmhof. Die Ablesung der CIM-Tests ist einfach, da lediglich der Hemmhof ausgemessen wird. Liegt der Hemmhofdurchmesser unter dem *Cut-off*, liegt eine Carbapenemase vor. Vom CIM-Test gibt es verschiedene Variationen. Empfehlenswert für Deutschland sind mCIM und der Zink-supplementierte zCIM aufgrund des besseren Nachweises von VIM-Carbapenemasen [10, 20]. In Studien zu CIM-Tests fanden sich eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität (97-100%). Falsch-negative Ergebnisse wurden auch nur selten für Isolate mit sehr niedrig exprimierten Carbapenemasen berichtet (v.a. VIM) [10, 18, 20, 22].

Colorimetrische Tests, z.B. CARBA-NP Test, β -CARBA, Carba Blue u.a.

Diese zeigen eine Carbapenemase-Aktivität durch Hydrolyse eines Carbapenems mit anschließendem Farbumschlag an. Die Ablesung ist subjektiv und kann schwierig sein. Einige Carbapenemasen sind mit colorimetrischen Tests oft nicht gut nachzuweisen (v.a. IMI, GES, OXA-48-Gruppe) [10, 26, 27, 30]. Die Tests können entweder „in house“ produziert (z.B. Carba NP) oder kommerziell erworben werden (**Tab. 2**; [10, 22-31]). Es ist darauf zu achten, dass die für den Test notwendige Anzucht der Bakterien auf einem Nährmedium mit ausreichendem Zinkgehalt und/oder von einem Carbapenem-haltigen Medium oder aus der Nähe eines Carbapenem-Testplättchens erfolgt [5].

MALDI-ToF

Mittels Maldi-ToF kann die Hydrolyse eines Carbapenems nachgewiesen werden. Hierfür wird das zu prüfende Isolat mit dem Carbapenem inkubiert und anschließend das hydrolysierte Carbapenem massenspektrometrisch nachgewiesen [35, 36]. Es sind inzwischen kommerzielle Testsysteme verfügbar, die die Auswertung erleichtern [33, 34].

Modifizierter Hodge Test

Der modifizierte Hodge Test ist ein älteres Verfahren zum Nachweis der Hydrolyseaktivität. Insgesamt ist die Ablesung subjektiv und das gesamte Verfahren nur schwierig zu standardisieren. Insbesondere bei Metallo- β -Laktamasen ist die Sensitivität unbefriedigend [22, 32]. Der Test wird inzwischen weder von EUCAST noch CLSI empfohlen. Wir halten diesen Test für die Routinediagnostik für ungeeignet. Mit dem CIM-Test liegt ein

ähnlich preisgünstiges Verfahren vor, welches eine höhere Sensitivität und Spezifität aufweist und auch bei seltener Anwendung zu standardisierten Ergebnissen führt.

Weitere Hinweise zu Carbapenemase-Testverfahren

Zum Vergleich verschiedener Verfahren zum Carbapenemasenachweis sind verschiedene Studien [10, 22] und Reviews verfügbar [37, 38]. Die Auswahl von Verfahren sollte u.a. aufgrund ihrer Leistungsfähigkeit, der lokalen Epidemiologie, Turn-around Time und Verfügbarkeit der verschiedenen Techniken im Labor erfolgen.

Interpretation der Ergebnisse & Befundbericht

Zur Interpretation der Ergebnisse bei Carbapenemase-Nachweis wird auf die NAK-Befundkommentare verwiesen

<https://www.nak-deutschland.org/Befundkommentare.html>

Carbapenemasen bei *Acinetobacter* spp. und *Pseudomonas* spp.

Die in diesem Dokument beschriebenen Verfahren beziehen sich primär auf die Detektion von Carbapenemasen in Enterobakterien. Bei Nonfermentern liegen z.T. andere Carbapenemasen vor, die mit den o.g. Tests häufig nicht oder nicht zuverlässig detektiert werden können.

***Acinetobacter* spp.**

Bei *Acinetobacter* spp. ist eine Carbapenemase typischerweise mit einer in der Empfindlichkeitstestung detektierbaren Resistenz gegenüber mindestens einem Carbapenem (hier nur Imipenem oder Meropenem) vergesellschaftet. Obwohl Modifikationen der Aktivitätstests beschrieben wurden, die auch bei *Acinetobacter* spp. funktionieren, sind solche Zusatztests angesichts des beschriebenen Eingangskriteriums derzeit in Deutschland verzichtbar. Resistenz bei mindestens einem Carbapenem (Imipenem oder Meropenem) legt also den Verdacht auf Carbapenemase nahe und das Isolat soll an das Referenzzentrum gesandt werden.

***Pseudomonas* spp.**

Die Ursache der Carbapenem-Resistenz ist bei den in Deutschland nachgewiesenen Isolaten meist keine Carbapenemase, sondern wird durch andere Mechanismen verursacht (Überproduktion von AmpC, Porinverlust, Überexpression von Effluxpumpen). Eine weitergehende Charakterisierung ist daher nicht regelhaft erforderlich. Der Nachweis der Carbapenemasedeterminate ist bei *Pseudomonas* weniger relevant für die richtige Auswahl der Therapie. Die bei *Pseudomonas* vorkommenden Carbapenemasen sind

überwiegend vom Typ Metallo- β -Laktamasen (v.a. VIM). Wenn eine Carbapenemase vorliegt, sind die MHKs für Carbapeneme und Ceftazidim i.d.R. sehr hoch. Demgegenüber kann bei Nachweis von Empfindlichkeit gegenüber Ceftolozan-Tazobactam eine Carbapenemase weitgehend ausgeschlossen werden. Eine Meldepflicht für Carbapenem-resistente Pseudomonaden in der endemischen Situation besteht derzeit nicht.

Fragen können an das Nationale Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK) gerichtet werden:

<http://www.nak-deutschland.org/>

nak@p-e-g.org

Interessenskonflikte

AH hat Forschungsprojekte durchgeführt, die von Coris oder GenePOC gefördert wurden sowie Vortragshonorare von Cepheid erhalten.

EM hat Vortragshonorare von Astra Zeneca, BectonDickinson, Hoffmann-LaRoche, MSD Sharp&Dohme GmbH, Novartis, Pfizer, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Shionogi erhalten sowie Forschungsprojekte mit Pfizer durchgeführt.

SG hat Vortragshonorare von bioMérieux und BeckmanCoulter erhalten.

Tab. 3 Typische Empfindlichkeit von Enterobakterien gegenüber Betalaktam-Antibiotika bei verschiedenen Carbapenemasen

	AMS	TZP	CAZ	FEP	TEM	AZT	MEM	IPM	CZA	FDC	Bemerkung
KPC	Rot	Rot	Rot	Rot	Gelb	Rot	Rot	Rot	Grün	Grün	Typischerweise hohe Carbapenem-MHKs; Selten CZA-Resistenz
MBLs (NDM, VIM, GIM, IMP u.a.)	Rot	Rot	Rot	Rot	Gelb	Gelb	Gelb	Gelb	Rot	Grün	Niedrige MHKs z.T. bei VIM, NDM; AZT S, sofern nicht ESBL oder AmpC zusätzlich; CZA-Resistenz
OXA-48-Gruppe	Rot	Rot	Grün	Grün	Rot	Grün	Gelb	Gelb	Grün	Grün	Niedrige Cephalosporin-MHKs, MEM z.T. <2 mg/L, TZP meist > 64 mg/L; TEM-Resistenz
OXA-48-Gruppe + ESBL	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Gelb	Gelb	Grün	Grün	Carbapeneme z.T. < 2 mg/L; TZP meist > 64 mg/L
IMI	Rot	Gelb	Gelb	Gelb	Gelb	Gelb	Rot	Rot	Grün	Grün	Oft in <i>E. cloacae</i> Komplex

Grün=typischerweise empfindlich

Gelb= variable Empfindlichkeit

Rot= typischerweise liegt eine Resistenz vor

AMS= Ampicillin-Sulbactam; TZP=Piperacillin-Tazobactam; CAZ=Ceftazidim; FEP=Cefepim; TEM=Temocillin; AZT=Aztreonam; MEM=Meropenem; IPM=Imipenem; CZA=Ceftazidim-Avibactam; FDC=Cefiderocol; S=sensibel

Literatur

1. Boutal, H., A. Vogel, S. Bernabeu, K. Devilliers, E. Creton, G. Cotellon, M. Plaisance, S. Oueslati, L. Dortet, A. Jousset, S. Simon, T. Naas und H. Volland, *A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother, 2018. **73**(4): p. 909-915.
2. Glupczynski, Y., A. Jousset, S. Evrard, R.A. Bonnin, T.D. Huang, L. Dortet, P. Bogaerts und T. Naas, *Prospective evaluation of the OKN K-SeT assay, a new multiplex immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-like, KPC and NDM carbapenemases*. J Antimicrob Chemother, 2017. **72**(7): p. 1955-1960.
3. Greissl, C., A. Saleh und A. Hamprecht, *Rapid detection of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM carbapenemases in Enterobacteriales by a new multiplex immunochromatographic test*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019. **38**(2): p. 331-335.
4. Koroska, F., S. Gottig, M. Kaase, J. Steinmann, S. Gatermann, J. Sommer, T. Wille, G. Plum und A. Hamprecht, *Comparison of Phenotypic Tests and an Immunochromatographic Assay and Development of a New Algorithm for Detection of OXA-48-like Carbapenemases*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(3): p. 877-883.
5. Saleh, A., S. Gottig und A.G. Hamprecht, *Multiplex Immunochromatographic Detection of OXA-48, KPC, and NDM Carbapenemases: Impact of Inoculum, Antibiotics, and Agar*. J Clin Microbiol, 2018. **56**(5).
6. Dalenne, C., A. Da Costa, D. Decre, C. Favier und G. Arlet, *Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother, 2010. **65**(3): p. 490-5.
7. Doyle, D., G. Peirano, C. Lascols, T. Lloyd, D.L. Church und J.D. Pitout, *Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases*. J Clin Microbiol, 2012. **50**(12): p. 3877-80.
8. Probst, K., S. Boutin, M. Bandilla, K. Heeg und A.H. Dalpke, *Fast and automated detection of common carbapenemase genes using multiplex real-time PCR on the BD MAX system*. J Microbiol Methods, 2021. **185**: p. 106224.
9. Huang, T.D., P. Bogaerts, E. Ghilani, A. Heinrichs, P. Gavage, S. Roisin, E. Willems, A.M. Verbruggen, H. Francart, O. Denis, J.M. Senterre und Y. Glupczynski, *Multicentre evaluation of the Check-Direct CPE(R) assay for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs*. J Antimicrob Chemother, 2015. **70**(6): p. 1669-73.
10. Baeza, L.L., N. Pfennigwerth, C. Greissl, S. Göttig, A. Saleh, Y. Stelzer, S.G. Gatermann und A. Hamprecht, *Comparison of five methods for detection of carbapenemases in Enterobacteriales with proposal of a new algorithm*. Clin Microbiol Infect, 2019. **25**(10): p. 1286.e9-1286.e15.
11. Dortet, L., M. Fusaro und T. Naas, *Improvement of the Xpert Carba-R Kit for the Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother, 2016. **60**(6): p. 3832-7.
12. Lucena Baeza, L., N. Pfennigwerth und A. Hamprecht, *Rapid and Easy Detection of Carbapenemases in Enterobacteriales in the Routine Laboratory Using the New GenePOC Carba/Revogene Carba C Assay*. J Clin Microbiol, 2019. **57**(9).
13. Girlich, D., M. Laguide, L. Dortet und T. Naas, *Evaluation of the Revogene Carba C Assay for Detection and Differentiation of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(4).
14. Lucena Baeza, L. und A. Hamprecht, *A profile of the GenePOC Carba C assay for the detection and differentiation of gene sequences associated with carbapenem-non-susceptibility*. Expert Rev Mol Diagn, 2020. **20**(8): p. 757-769.
15. Garcia-Fernandez, S., M.I. Morosini, F. Marco, D. Gijon, A. Vergara, J. Vila, P. Ruiz-Garbajosa und R. Canton, *Evaluation of the eazyplex(R) SuperBug CRE system for rapid detection of carbapenemases and ESBLs in clinical Enterobacteriaceae isolates recovered at two Spanish hospitals*. J Antimicrob Chemother, 2015. **70**(4): p. 1047-50.
16. Tagini, F. und G. Greub, *Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: a pathogen-oriented review*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017. **36**(11): p. 2007-2020.
17. Pantel, A., D. Souzy, A. Sotto und J.P. Lavigne, *Evaluation of Two Phenotypic Screening Tests for Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2015. **53**(10): p. 3359-62.
18. Sattler, J., A. Brunke und A. Hamprecht, *Systematic comparison of three commercially available combination disc tests and zCIM for carbapenemase detection in Enterobacteriales isolates*. J Clin Microbiol, 2021: p. JCM0314020.
19. Crowe, A., L. Brenton, M. Kingston, D. Jardine und M.J. Waters, *Comparison of the carbapenem inactivation method (CIM) and modified carbapenem inactivation method (mCIM) for the detection of carbapenemase-producing organisms*. Pathology, 2018.
20. Pierce, V.M., P.J. Simner, D.R. Lonsway, D.E. Roe-Carpenter, J.K. Johnson, W.B. Brasso, A.M. Bobenchik, Z.C. Lockett, A. Charnot-Katsikas, M.J. Ferraro, R.B. Thomson, Jr., S.G. Jenkins, B.M. Limbago und S. Das, *Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(8): p. 2321-2333.
21. van der Zwaluw, K., A. de Haan, G.N. Pluister, H.J. Bootsma, A.J. de Neeling und L.M. Schouls, *The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods*. PLoS One, 2015. **10**(3): p. e0123690.
22. Tamma, P.D., B.N. Opene, A. Gluck, K.K. Chambers, K.C. Carroll und P.J. Simner, *Comparison of 11 Phenotypic Assays for Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(4): p. 1046-1055.

23. Bernabeu, S., L. Dortet und T. Naas, *Evaluation of the beta-CARBA test, a colorimetric test for the rapid detection of carbapenemase activity in Gram-negative bacilli*. J Antimicrob Chemother, 2017. **72**(6): p. 1646-1658.
24. Compain, F., S. Gallah, C. Eckert, G. Arlet, A. Ramahefasolo, D. Decre, M. Lavollay und I. Podglajen, *Assessment of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic beta Carba Test*. J Clin Microbiol, 2016. **54**(12): p. 3065-3068.
25. Mancini, S., N. Kieffer, L. Poirel und P. Nordmann, *Evaluation of the RAPIDEC(R)[®] CARBA NP and beta-CARBA(R)[®] tests for rapid detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017. **88**(4): p. 293-297.
26. Dortet, L., A. Agathine, T. Naas, G. Cuzon, L. Poirel und P. Nordmann, *Evaluation of the RAPIDEC(R) CARBA NP, the Rapid CARB Screen(R) and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother, 2015. **70**(11): p. 3014-22.
27. Dortet, L., L. Poirel und P. Nordmann, *Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by using a biochemical test*. Antimicrob Agents Chemother, 2012. **56**(12): p. 6437-40.
28. Mancini, S., N. Kieffer, L. Poirel und P. Nordmann, *Evaluation of the RAPIDEC(R) CARBA NP and beta-CARBA(R) tests for rapid detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017. **88**(4): p. 293-297.
29. Pires, J., A. Novais und L. Peixe, *Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures*. J Clin Microbiol, 2013. **51**(12): p. 4281-3.
30. Simon, M., K. Richert, N. Pfennigwerth, Y. Pfeifer, U. Reischl, S. Gatermann, A. Gessner und J. Jantsch, *Carbapenemase detection using the beta-CARBA test: Influence of test conditions on performance and comparison with the RAPIDEC CarbaNP assay*. J Microbiol Methods, 2018. **147**: p. 17-19.
31. Sattler, J., A. Brunke und A. Hamprecht, *Evaluation of CARBA PAcE, a novel rapid test for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriales*. J Med Microbiol, 2021. **70**(2).
32. Girlich, D., L. Poirel und P. Nordmann, *Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2012. **50**(2): p. 477-9.
33. Cordovana, M., M. Abdalla und S. Ambretti, *Evaluation of the MBT STAR-Carba Assay for the Detection of Carbapenemase Production in Enterobacteriaceae and Hafniaceae with a Large Collection of Routine Isolates from Plate Cultures and Patient-Derived Positive Blood Cultures*. Microb Drug Resist, 2020. **26**(11): p. 1298-1306.
34. Ota, Y., K. Furuhashi, N. Hirai, J. Ishikawa, O. Nagura, K. Yamanaka und M. Maekawa, *Evaluation of MBT STAR-Cepha and MBT STAR-Carba kits for the detection of extended-spectrum beta-lactamases and carbapenemase producing microorganisms using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*. J Microbiol Methods, 2021. **183**: p. 106166.
35. Wilhelm, C.M., G.R. Forni, M.D.S. Carneiro und A.L. Barth, *Establishing a quantitative index of meropenem hydrolysis for the detection of KPC- and NDM-producing bacteria by MALDI-TOF MS*. J Microbiol Methods, 2021. **187**: p. 106268.
36. Burckhardt, I. und S. Zimmermann, *Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours*. J Clin Microbiol, 2011. **49**(9): p. 3321-4.
37. Bonnin, R.A., Jousset, A.B., Emeraud, C., Oueslati, S., Dortet, L. und Naas, T. (2020). *Genetic Diversity, Biochemical Properties, and Detection Methods of Minor Carbapenemases in Enterobacteriales*. Front Med (Lausanne) 7, 616490.
38. Noster, J., Thelen, P. und Hamprecht, A. (2021). *Detection of Multidrug-Resistant Enterobacteriales—From ESBLs to Carbapenemases*. Antibiotics 10, 1140; <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091140>