

Algemene richtlijnen
voor de detectie van
carbapenemases bij multi-resistente
*Pseudomonas aeruginosa** en
Acinetobacter spp.
in Belgische laboratoria

- Andere *Pseudomonas* spp. (bv: *P. putida*, *P. monteilii*, *P. pseudoalcaligenes*,...) mogen ook opgestuurd worden indien multi-resistenten

Multi-resistente (MDR)

P. aeruginosa en *Acinetobacter* spp.

- De natuurlijke resistentie tegen beta-lactams die weinig of niet actief zijn tegen *Pseudomonas/Acinetobacter* (ampi, amox+clav, cefalos 1, cefalos 2, ceftriax/cefotax, temocilline, ertapenem) moeten buiten beschouwing gelaten worden als criteria van multi-resistentie

Ertapenem, gebruikt als carbapenem-molecule voor CPE-screening, kan niet gebruikt worden bij de screening voor carbapenemases bij *P. aeruginosa* of *Acinetobacter* spp. (geen- of zwakke intrinsieke activiteit)

P. aeruginosa en *Acinetobacter* spp. zijn intrinsiek resistent tegen temocilline. Deze molecule, die gebruikt wordt bij screening voor bepaalde CPE types (bij voorbeeld OXA-48) is niet geschikt voor detectie van carbapenemases bij *P. aeruginosa* of *Acinetobacter* spp.

- Afwezigheid van standaard criteria voor de definitie van multi-resistente *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter* spp.

1) *P. aeruginosa*:

Resistent (I of R) voor minstens 3 van de volgende antibioticaklassen (EUCAST- of CLSI-criteria):

- 3^{de} of 4^{de} generatie cefalosporines (ceftazidime, cefepime)
- acylureïdopenicillines (breedspectrum) (piperacilline +/- tazobactam)
- carbapenems (meropenem, imipenem)
- fluorochinolonen (ciprofloxacin, levofloxacin),
- aminoglycosiden (gentamicine, tobramycine, amikacine)

2) *Acinetobacter* spp. (voornamelijk *A. baumannii*):

Resistent (I of R) tegen minstens 3 van de volgende antibioticaklassen (EUCAST- of CLSI criteria):

- carbapenems (meropenem, imipenem)
- fluorochinolonen (ciprofloxacin, levofloxacin),
- aminoglycosiden (gentamicine, tobramycine, amikacine)

NB: Doorgaans zijn multi-resistente *A. baumannii* stammen ook resistent tegen 3^{de} of 4^{de} generatie cefalosporines en tegen acylureïdopenicillines. Voor deze twee klassen heeft EUCAST geen breekpunt gedefinieerd.

Detectie van het type carbapenemase bij *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp. en bij Enterobacteriaceae (CPE)

Moleculaire klasse van Ambler	Carbapenemase types	Enterobacteriaceae	Non-fermenters
A (Serine)	KPC GES, IMI, NMC, SME	+++ +	-/+ -/+
B (Metallo βL)	VIM, IMP NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ (Pseudomonas) ++ (Acinetobacter) +
D (Serine)	OXA-48-like OXA-198 OXA-23, -24, -58, -143, -235	+++ - +/-	- -/+ (Pseudomonas) +++ (Acinetobacter)

P. aeruginosa (Metallo- β L klasse B): VIM > IMP > NDM (zeldzaam)

Acinetobacter spp. (Klasse D): OXA-23 > OXA-24 > OXA-58

(Klasse B): NDM alleen of in associatie met OXA-23 > IMP/VIM zeer zeldzaam in Europa bij *Acinetobacter*

NB: geen OXA-48 bij *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp.

KPC zeldzaam in Europa bij *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp. (Zuid-Amerika, China)

Screeningtesten voor carbapenemases bij *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp.

- **Carbapenem-resistentie:**

- Bij *P. aeruginosa*: test meropenem EN imipenem (enkel imipenem I/R met meropenem S is suggestief voor een resistentie door verminderde membraanpermeabiliteit (OprD porine deficiëntie).
- Geen breekpunt gedefinieerd voor screening voor carbapenemases (Imipenem/Meropenem)
- Test geen ertapenem ! (Intrinsieke resistentie bij *Acinetobacter* spp. en beperkte gevoeligheid bij *P. aeruginosa* (2/3 stammen zijn resistent)

- **EN profiel in overeenstemming met de criteria voor MDR** (zie dia 2)

- **Sneltesten gebaseerd op de hydrolyse van carbapenems** (een van volgende tests):

- RAPIDEC (BioMérieux) (gevalideerd voor *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp.)
- Rapid CARB Screen Kit (ROSCO), Rapid CARB Blue Kit (ROSCO) (enkel gevalideerd voor *P. aeruginosa*)

- **Synergietest imipenem + cloxacillin “High” (4000 µg) (ROSCO)**

- Synergie (IMI + CLOXA vs IMI: zone ≥ 5 mm) \rightarrow afwezigheid van carbapenemases (AmpC hyperproductie en verminderde membraanpermeabiliteit (OprD porine deficiëntie))
- Afwezigheid van Synergie (IMI + CLOXA vs IMI < 5 mm) \rightarrow carbapenemase mogelijk

Testen ter bevestiging van carbapenemases bij *P. aeruginosa* en *Acinetobacter* spp.

Voor de bevestiging van metallo-βL

- **Synergietesten met inhibitoren (EDTA/DPA):**

- Papieren schijfjes: IMI +/- EDTA
- ROSCO-tabletten: IMI +/- EDTA of IMI +/- DPA of MERO +/- DPA
- E-test: diffusie gradiënt-strips: IMI +/- EDTA of MERO +/- DPA...

NB: deze testen laten niet toe om het type metallo-βL (VIM, IMP, NDM,...) met precisie te identificeren

- **Moleculaire tests**

- PCR multiplex
- Biochip/DNA-microarray
- Loop-gemedieerde isothermische amplificatie [LAMP],
- In-house PCR
- ...

NB₁: **Gemodificeerde Hodge test niet gevalideerd voor detectie van carbapenemases bij non-fermenters (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter*)**

NB₂: **Commerciële fenotypische testen met inhibitoren (aminofenyl boorzuur) zijn niet gevalideerd voor de detectie van Klasse-A carbapenemases (type KPC);** geven vaak een “vals positief” resultaat bij *P. aeruginosa* ten gevolge van hyperproductie van AmpC-beta-lactamasen

NB₃: **Er is geen enkele fenotypische test met inhibitoren voor de detectie van Klasse-D carbapenemases bij *Acinetobacter* spp.** (synergie-resultaten met EDTA vals positief bij *Acinetobacter* spp met carbapenemase-productie van het type OXA (OXA-23, -24, -58)

-> karakterisering enkel aan de hand van moleculaire testen

Exclusiecriteria voor analyse en bevestiging van carbapenemases bij *Pseudomonas*/*Acinetobacter* door het NRC

- Isolaten zonder aanvraag formulier, zonder referentie ID of zonder kopie van het antibiogram
- Beschadigde stalen (beschadigde platen, gebroken glazen tubes,....)
- Mengculturen
- Isolaat behorend tot een ander species dan aangegeven in het aanvraagformulier
- Isolaat behorend tot een ander genus/species (non-fermenters) dan *P. aeruginosa* of *Acinetobacter* spp.
- Isolaat gevoelig voor alle carbapenems (dwz diameters of MIC-waarden binnen de zone van gevoeligheid)
- “dubbels” (isolaten: zelfde species, zelfde antibiogram, afkomstig uit meerdere staalafnames of van verschillende anatomische sites bij éénzelfde patiënt)