

## Enterobacteriaceae resistentsusmehhanismide skriining ja kinnitamine

Resistentsusmehhanismide määramine eeldab mikroobide samastamist liigi tasemel. Vajadusel kasutada selleks täpsema samastamise (MALDI-TOF, sekveneerimine) võimalusi omavate laborite teenust.

### S1

AmpC skriining. Kasutada kas esmase skriininguna või siis kui 3pk tsefalosporiinide suhtes mittetundlikkus.

Tsefoksiitin resistentsus on iseloomulik tunnus derepresseeritud kromosomaalsele ja plasmiidsele AmpC-le. Positiivne kui MIC >8 või tsoon <19 mm (30 mkg disk).

### S2

ESBL skriining. Tsefotaksiim ja tseftasidiim diskid. Alternatiivina Tsefpodoksiim, mis on madalama spetsiifilisusega.

ESBL kahtlus kui üks või mõlemad 3.pk. tsefalosporiinid mittetundlikud (MT või R).

### S3

Karbapenemaaside skriining, soovitavalt esmases antibiogrammis. Hinnatakse meropenemi järgi. Kui esmases antibiogrammis on ertapeneem ja selle suhtes mittetundlikus, testitakse ja hinnatakse täiendavalt meropenem. Imipenemi eristusvõime on madalam ja selle kasutamist esmases skriiningus ei soovitata. Kui esmases antibiogrammis puudub karbapeneem, siis testitakse tüve kindlasti karbapeneemi suhtes kui esineb mittetundlikkus 3.pk tsefalosporiini suhtes. **NB OXA-48 tüüpi karbapenemaaside puhul võib tüvi olla tundlik 3pk. tsefalosporiinidele mistõttu esmase karbapenem-skriiningu puudumisel võivad need tüved jääda avastamata.**

Hinnatakse EUCASTi skriiningkriteeriumite alusel (vt tabel)

Carbapenem	MIC (mg/L)		Disk diffusion zone diameter (mm) with 10 µg disks	
	S/I breakpoint	Screening cut-off	S/I breakpoint	Screening cut-off
Meropenem <sup>1</sup>	≤2	>0.12	≥22	<25 <sup>2</sup>
Imipenem <sup>3</sup>	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem <sup>4</sup>	≤0.5	>0.12	≥25	<25

<sup>1</sup>Best balance of sensitivity and specificity

<sup>2</sup>In some cases zone diameters for OXA-48-producers are up to 26 mm, so <27 mm may be used as a screening cut-off in countries where OXA-48 is endemic, but at the expense of lower specificity.

<sup>3</sup>With imipenem, the separation between the wild-type and carbapenemase-producers is relatively poor. Imipenem is therefore not recommended for use as a stand-alone screening test compound.

<sup>4</sup>High sensitivity but low specificity, and therefore not recommended for routine use.

## Kinnitav test

### T1

AmpC kinnitav test (tsefsalosporiinid +/-kloksatsilliin).

### T2

ESBL test. Tseftasidiimi ja tsefotaksiimi klavulaanhappe sünergismi test. Kui selle põhjal mittemääratav tulemus, siis teha tsefepiimi sünergismi test. Negatiivse või mittemääratava ESBL tulemuse korral, teha kinnitav AmpC test T1. Kui nimetatud testide tulemus jääb ikka mittemääratavaks soovitatakse geneetilist uuringut resistentsusmehhanismi kindlakstegemiseks

### T3

ESBL test. Kromosomaalse AmpC produtseerijatel teha ESBL kindlakstegemiseks tsefepiimi ja klavulaanhappe sünergismi test. Kui tulemus jääb mittemääratavaks soovitatakse geneetilist uuringut resistentsusmehhanismi kindlakstegemiseks

### T4

Karbapenemaaside määramise testid vastavalt EUCASTi soovitudele (vt tabel).

β-lactamase	Synergy observed as increase in zone diameter (mm) with 10 µg meropenem disk/tablet				Temocillin MIC >32 mg/L or zone diameter <11 mm
	DPA/EDTA	APBA/PBA	DPA+APBA	CLX	
<b>MBL</b>	+	-	-	-	Variable <sup>1</sup>
<b>KPC</b>	-	+	-	-	Variable <sup>1</sup>
<b>MBL + KPC<sup>2</sup></b>	Variable	Variable	+	-	Variable <sup>1</sup>
<b>OXA-48-like</b>	-	-	-	-	Yes
<b>AmpC + porin loss</b>	-	+	-	+	Variable <sup>1</sup>
<b>ESBL + porin loss</b>	-	-	-	-	No

Abbreviations: MBL=metallo-β-lactamase, KPC=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, DPA=dipicolinic acid, EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid, APBA= aminophenyl boronic acid, PBA= phenyl boronic acid, CLX=cloxacillin.

<sup>1</sup>Temocillin susceptibility test is recommended only in cases where no synergy is detected, in order to differentiate between ESBL + porin loss and OXA-48-like enzymes (12, 17, 18). When other enzymes are present the susceptibility is variable and does not provide any further indication of the β-lactamase present.

<sup>2</sup>There is one report supporting the use of commercial tablets containing double inhibitors (DPA or EDTA plus APBA or PBA) (26), but multi-centre studies or multiple single centre studies are lacking. This combination confers high-level resistance to carbapenems and is rare outside Greece.

## Loetelud

### **L1**

Vähenenud tundlikkus 3.pk. tsefalosporiinidele on sageli seotud ESBL-ga. Võib olla seotud ka plasmiidse või kromosomaalse AmpC-ga.

### **L2**

3.pk. tsefalosporiinide resistentsus on sageli seotud kromosomaalse beetalaktamaasi hüperproduktiooniga. Sellised tüved on reeglina tseftasidiim tundlikud (tsefotaksiim võib olla R/MT ja tsefotaksiim ESBL test ka pos.). Kui ESBL test tseftasidiimiga on positiivne, tegemist tõenäoliselt tõelise ESBL-ga. Kindlat vahet saab teha vaid molekulaarsete meetoditega.

### **L3**

Neil mikroobidel on alati kromosomaalne AmpC. Enamasti repressseeritud (tundlikud tsefalosporiinidele). Kui stabiilselt derepressseeritud, siis on resistentsed. AmpC ei välista ESBL olemasolu. Täiendava ESBL testi teostamise vajadus sõltub eelkõige infektsioonikontrolli kaalutlustest.

## Vastused

### **V1**

**Kromosomaalne või plasmiidne AmpC.** Käituda kui plasmiidse korral (kuna ilma PCR kasutamata ei saa eristada plasmiidset ja kromosomaalset AmpC-d).

Soovitav mitte ravida penitsilliinide ja 1.-2.pk. tsefalosporiinidega. Kui *in vitro* tundlikud 3.-4.pk. tsefalosporiinidele, siis kas (1) vastata vastavalt tulemusele ja lisada hoiatus: monoterapia on seotud resistentsuse selektsiooni riskiga või (2) mitte vastata. Piperatsilliin-tasobaktaam võib toimida teatud AmpC-de korral, T vastust väljastatakse MIKi alusel.

Teatada infektsioonikontrollile.

### **V2**

**Plasmiidne AmpC.** Nimetatud mikroobidel kromosomaalset AmpC-d ei esine ja positiivse testi korral on see alati plasmiidne.

Soovitav mitte ravida penitsilliinide ja 1.-2.pk. tsefalosporiinidega. Kui *in vitro* tundlikud 3.-4.pk. tsefalosporiinidele, siis kas (1) vastata vastavalt tulemusele ja lisada hoiatus: monoterapia on seotud resistentsuse selektsiooni riskiga või (2) mitte vastata. Piperatsilliin-tasobaktaam võib toimida teatud AmpC-de korral, T vastust väljastatakse MIKi alusel.

Teatada infektsioonikontrollile.

### **V3**

**Kromosomaalne AmpC.**

Nimetatud mikroobide grupil on alati kromosomaalne AmpC: repressseeritud – tundlik tsefalosporiinidele, derepressseeritud – resistentne. Võib vastata ilma kinnitava testita.

Soovitav mitte ravida penitsilliinide ja 1.-2.pk. tsefalosporiinidega. Kui *in vitro* tundlikud 3.-4.pk. tsefalosporiinidele, siis kas (1) vastata vastavalt tulemusele ja lisada hoiatus: monoterapia on seotud resistentsuse selektsiooni riskiga või (2) mitte vastata.

#### **V4**

##### **ESBL positiivne.**

Ravides 3.-4.pk. tsefalosporiinidega lähtuda MIK väärtusest. Kui tüvi on tundlik beetalaktaamide ja beetalaktamaasi inhibiitori kombinatsioonile, vastata vastavalt testi tulemusele, kuid lisada hoiatus: ebakindel ravi tulemus muude kui uroinfektsioonide ravi korral.

Teatada infektsioonikontrollile.

#### **V5**

##### **KR AmpC ja ESBL positiivne.**

Mitmete erinevate resistentsusmehhanismide koeksisteerimisel on fenotüüpiliste testide kasutamine ja tõlgendamine problemaatiline. Kuna nimetatud mikroobide grupil on alati kromosomaalne AmpC (represseeritud või derepresseeritud) võib ESBL test anda raskesti tõlgendatavaid ja valenegatiivseid tulemusi. Lõpliku vastuse annab sellistel juhtudel vaid molekulaarne uuring. Rutiinselt mitte vastata penitsilliinide ja tsefalosporiinide tundlikkust.

Teatada infektsioonikontrollile.

#### **V6**

##### **Metallobeetalaktamaas (MBL) positiivne.**

Ravis karbapeneemidega lähtuda MIK väärtusest.

Teatada infektsioonikontrollile.

#### **V7**

##### **A-grupi (KPC tüüpi) karbapenemaas positiivne.**

Ravis karbapeneemidega lähtuda MIK väärtusest .

Teatada infektsioonikontrollile.

#### **V8**

##### **OXA48 tüüpi karbapenemaas positiivne.**

Ravis karbapeneemidega lähtuda MIK väärtusest .

Teatada infektsioonikontrollile.

#### **V9**

##### **Karbapenemaas negatiivne.**

Tõenäoliselt muu mehhanism: AmpC/ESBL kombinatsioonis poriinide kadumisega. Interpreteerida tabeli alusel ja vastata AmpC ja ESBL leid esinemisel.