

Diagnostic Stewardship – Resistenztestung und MRE Diagnostik

Axel Hamprecht

Institut für med. Mikrobiologie u. Virologie

Diagnostic Stewardship

„The right test for the right patient at the right time to prompt the right action“

Diagnostic stewardship refers to the appropriate use of diagnostic testing to guide clinical decisions, improve patient outcomes, and reduce antimicrobial resistance.

Inhalt

- Screeninguntersuchungen auf multiresistente Erreger
- Detektionsmethoden und ihre Grenzen
- Möglichkeiten von Diagnostic Stewardship

Multiresistente Erreger & Screening

Gram-positive Erreger

- Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA)
- Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)

Gram-negative Erreger

- Carbapenem-resistente Enterobacterales (CRE/4MRGN)
- ESBL-bildende Enterobacterales (2-/3MRGN)
- Andere multiresistente Gram-negative (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*)

Wer wird gescreent?

- Hochrisiko-Patienten (z.B. ITS, Hämatologie) oder nach definierten Risikofaktoren (Aufenthalt in Hochprävalenzländern)

Was wollen wir mit Screening auf (multiresistente) Erreger erreichen

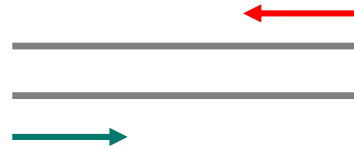
- Detektion von (meist) symptomlosen Trägern
 - Reduzierung des individuellen Infektionsrisikos (z.B. *S. aureus* Screening vor Operationen mit anschließender Dekolonisierung)
 - Grundlage für empirische Therapie (z.B. für MRGN-kolonisierte Pat. und Neutropenie)
 - Schutz vor Übertragung/Ausbrüchen in Einrichtungen (z.B. MRSA-/VRE-/MRGN-Screening)
 - Medico-legale und subjektiv empfundene Sicherheitsaspekte

Methoden der Detektion von multiresistenten Erregern

Kultur-basiert



Molekularbiolog.
Verfahren/NAAT

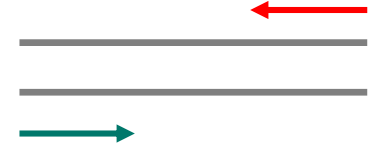


kombiniert



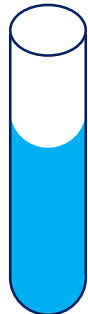
Anreicherungs-
bouillon

+



PCR

Ggf. +



Anreicherungs-
bouillon

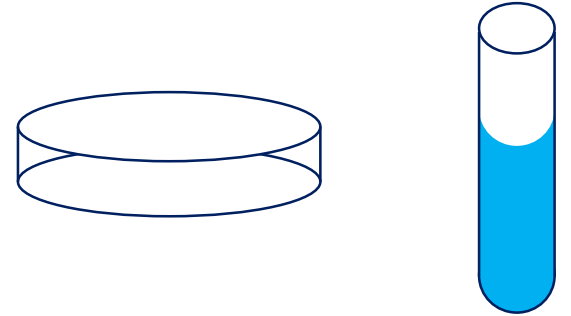
Kulturbasierte Verfahren



Kulturbasierte Verfahren

Prinzip:

- Selektion auf „Selektiv“-Agar
- Identifizierung, Resistenztestung, ggf. anschließend Testung auf Resistenzmechanismus d. Zusatztests
- Zusätzliches Anreicherungsverfahren kann Sensitivität erhöhen



Vor-/Nachteile von kulturbasierten Verfahren

Vorteile

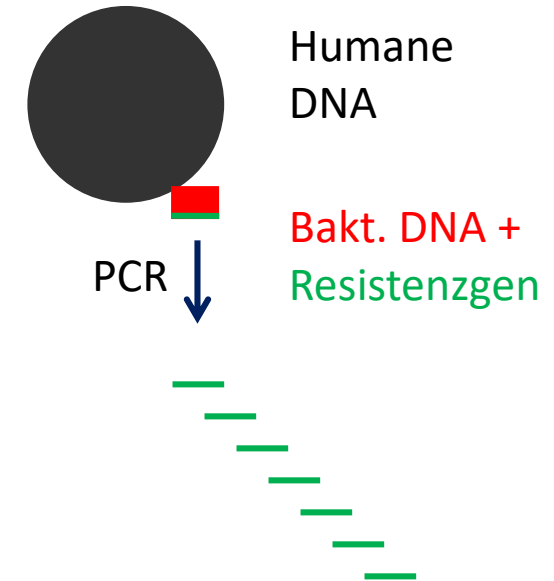
- „breites“ Verfahren – resistente Erreger mit vielen verschiedene Resistenzmechanismen können detektiert werden (Vorteil bei MRGN)
- Isolate können für Ausbruchsuntersuchungen/Typisierung verwendet werden
- z.T. günstiger als PCR

Nachteile

- Turn-around Time länger (i.d.R. 24-72h)
- Nicht alle Erreger wachsen gleich gut auf Selektivmedien (vanB VRE, einige Carbapenemase-bildende Enterobakterien)
- Expertise/Erfahrung notwendig; Sensitivität/Spezifität v. Inkubation abhängig

Molekularbiologische Verfahren

- Nachweis von DNA von Bakterien
- Gesamt-DNA aus einer klinischen Probe wird isoliert (humane DNA+Pathogen-DNA)
- NAAT (meist PCR) für Pathogen + Resistenzgen
 - Real-time PCR



Vor-/Nachteile von molekularbiolog. Verfahren

Vorteile

- Kurze Turn-around Time <1h bis mehrere Stunden
- Benutzerfreundliche Kartuscentests erhältlich
- Viele Verfahren haben hohe Spezifität (CPE/MRGN; MRSA), weniger „Nacharbeit“ notwendig



GeneXpert

Vor-/Nachteile von molekularbiolog. Verfahren

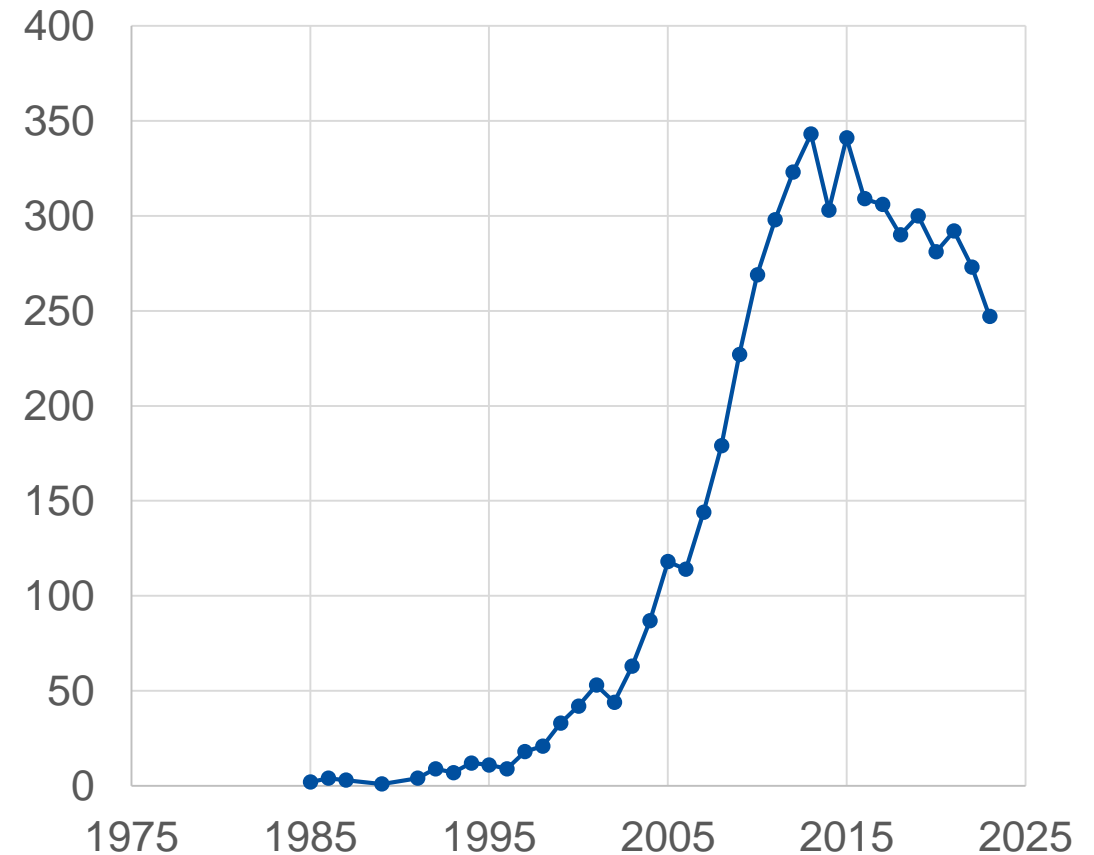
Nachteile

- „schmales“ Verfahren – man findet nur, wonach man sucht (Resistenzgen)
- Oft noch teuer, insbesondere Kartuschentests
- Falsch-positive, wenn Resistenzgenen auch in Kommensalen vorhanden (z.B. VRE-PCR)
- Expertise/Erfahrung notwendig
- DNA-Nachweis \neq vermehrungsfähiger/ansteckungsfähiger Erreger!

Das Beispiel MRSA

- Methicillin-resistenter *S. aureus*
- Seit 60er Jahre bekannt
- „Search and Destroy“ Strategie aus NL in vielen Ländern übernommen
- Resistenzmechanismus *mecA* (selten *mecC*, *mecB*)
- 1 Spezies, 1 wesentlicher Resistenzmechanismus
- Vielzahl an kommerziellen Verfahren für den kulturellen und PCR-basierten Nachweis

Artikel zu Verfahren d. MRSA Screenings (Pubmed)

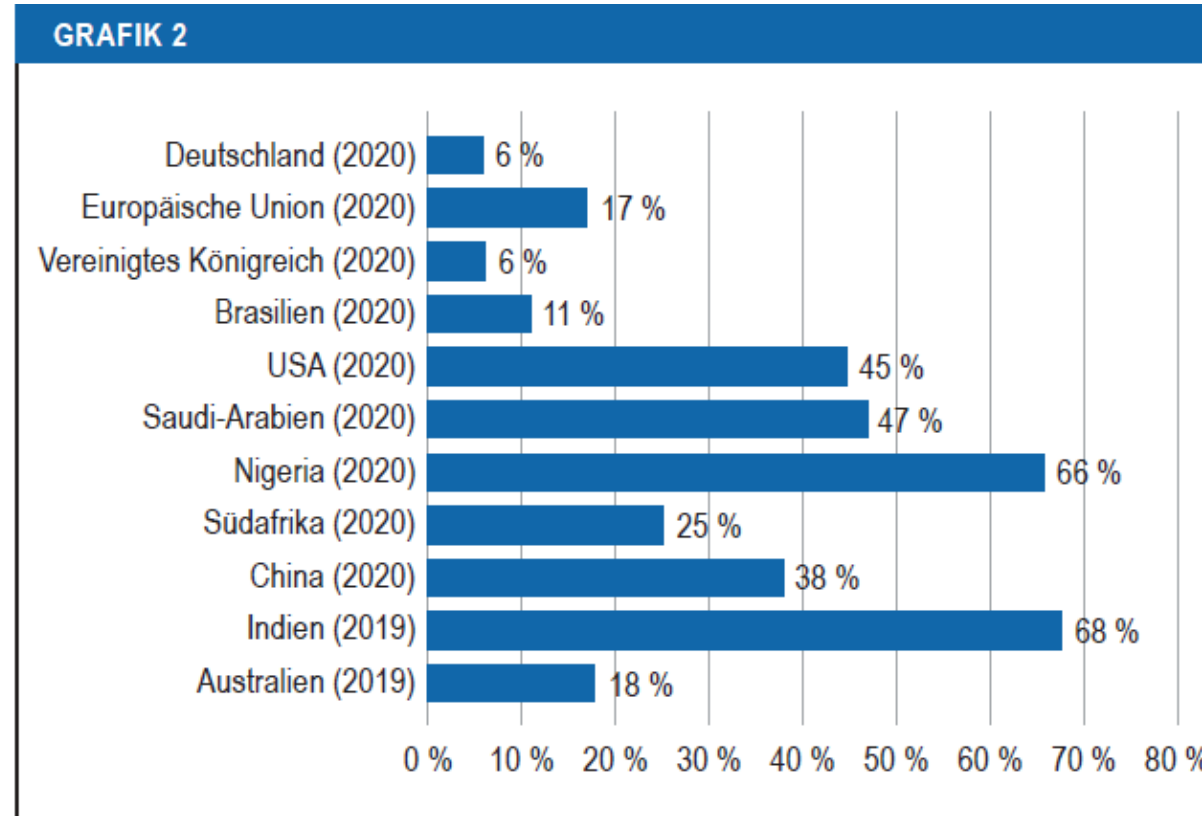


Metaanalyse MRSA-Nachweismethoden

TABLE 2. Pooled estimates of sensitivity and specificity with 95% confidence intervals

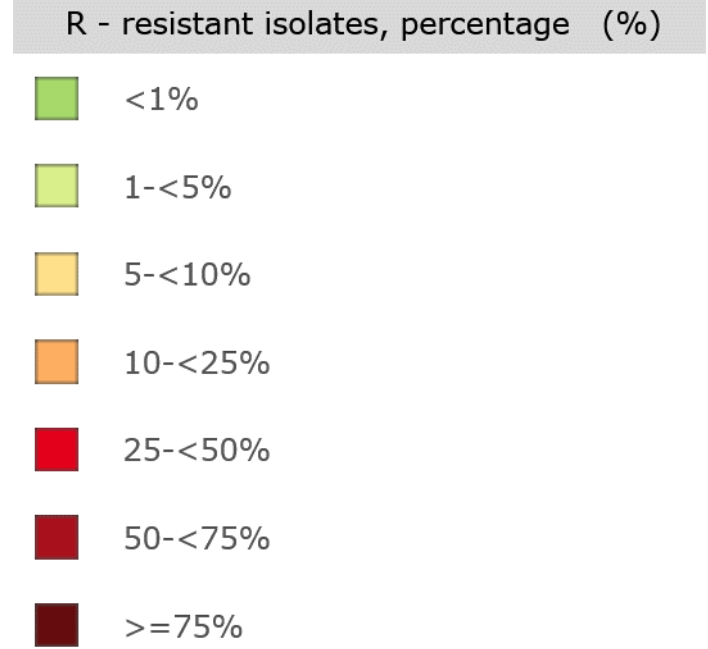
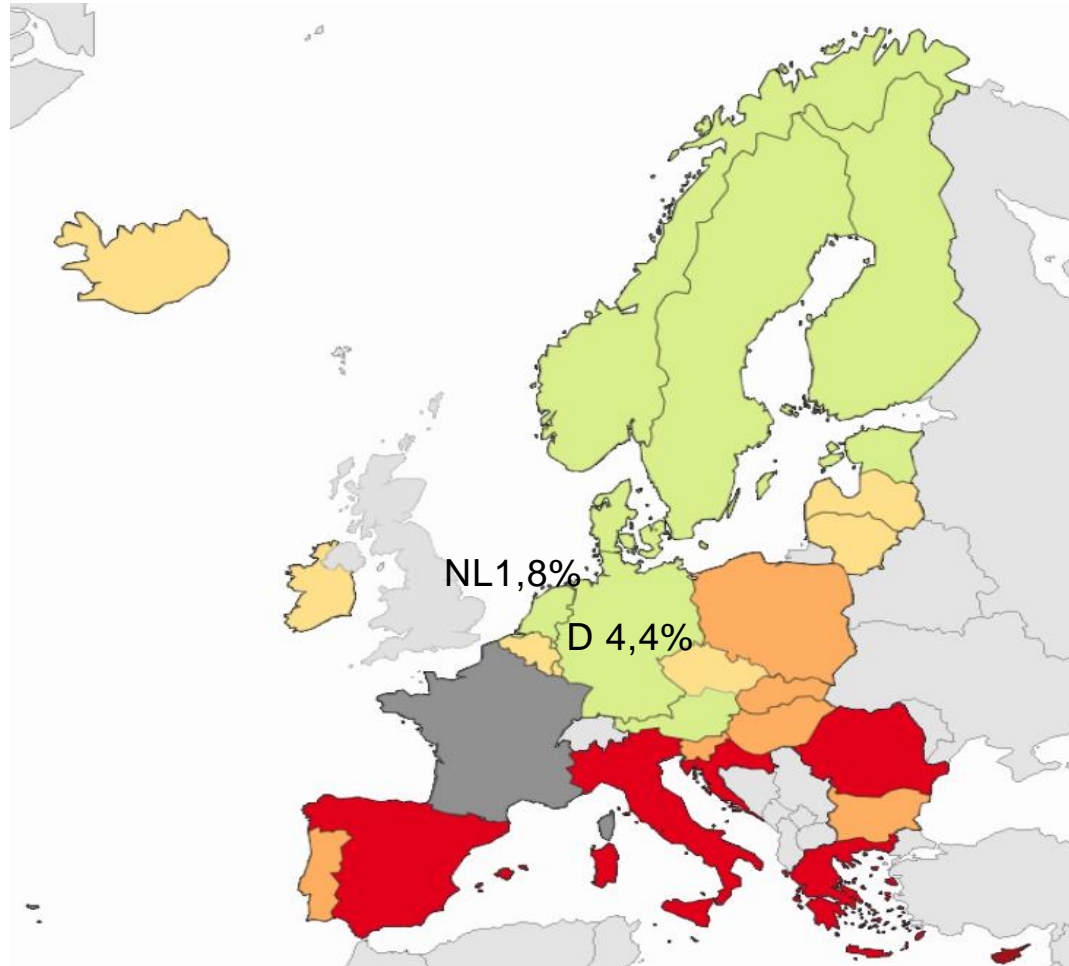
Screening strategy	Number of studies	Effective sample size regression test (p value)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
PCR	15	–	92.5% (87.4–95.9)	97.0% (94.5–98.4)
Genotype MRSA	2	NA	83.8% (53.9–95.8)	97.7% (88.3–99.6)
IDI-MRSA	13	0.36	93.8% (88.7–96.6)	96.9% (94.2–98.4)^a
IDI-MRSA <i>Nasal</i>	11	0.37	94.8% (90.0–97.4)	96.7% (92.9–98.5)
Chromogenic, 18–24 h	28	–	78.3% (71.0–84.1) ^{b,c}	98.6% (97.7–99.1)
CHROMagar	6	0.10	80.3% (64.5–90.2)^{d,e}	99.0% (97.2–99.7)
CHROMagar <i>Nasal</i>	4	0.21	86.4% (71.4–94.2)	99.1% (96.5–99.8)
Chromogenic MRSA Medium	3	0.90	89.3% (72.8–96.3)	98.5% (94.4–99.6)
MRSA ID	4	0.11	65.1% (41.3–83.2)^{d,e,f,g,h}	98.2% (93.4–99.5)
MRSA Select	9	0.13	83.2% (71.7–90.6)^d	99.4% (98.6–99.7)
MRSA Select <i>Nasal</i>	3	0.18	88.4% (73.7–96.1)	99.5% (97.2–99.9)
ORSAB	6	0.47	67.4% (48.3–82.0)^{d,e,f,g,h}	95.0% (87.9–98.1)^{a,i}
Chromogenic, 48 h	24	–	87.6% (82.1–91.6)	94.7% (91.6–96.8) ^l
CHROMagar	7	0.10	88.1% (77.4–94.1)	96.4% (91.3–98.5)^a
CHROMagar <i>Nasal</i>	4	0.27	93.8% (84.8–97.6)	96.0% (85.6–99.0)
MRSA ID	4	0.10	83.1% (64.5–93.0)	92.9% (80.1–97.7)^{a,i}
MRSA Select	6	0.10	93.2% (83.5–97.0)	96.2% (90.4–98.5)^a
MRSA Select <i>Nasal</i>	3	0.15	94.1% (82.5–98.2)	93.8% (76.3–98.6)
ORSAB	7	0.43	82.9% (69.5–91.2)^d	91.8% (82.4–96.4)^{a,f,i}
Culture, 48 h	7	–	86.9% (74.7–93.7)	89.7% (77.7–95.6) ^{b,j}
MSA-Cefoxitin	2	NA	95.5% (81.4–99.0)	81.4% (46.6–95.6)^{a,d,f,i,k}
MSA-Oxacillin	5	0.24	81.7% (64.3–91.8)^d	92.1% (80.4–97.1)^{f,i,a}

MRSA-Rate in verschiedenen Ländern



MRSA-Rate (in Prozent) bei *S.-aureus*-Isolaten aus klinischem Material (Blut oder Liquor) in verschiedenen Ländern beziehungsweise Regionen weltweit. Die Daten stammen aus den Jahren 2019–2020 (6, 16, 17).

MRSA-Rate in Europa 2023 (% d. getesteten Isolate)



MRSA-Screening

Jährliche MRSA-Prävalenz bei Aufnahme, nosokomiale MRSA-Inzidenz und MRSA-Screeninghäufigkeit (Nasenabstriche) in deutschen Krankenhäusern im Zeitraum von 2006–2021 (MRSA-KISS-Modul)

 MRSA, Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*; Pat., Patientinnen und Patienten

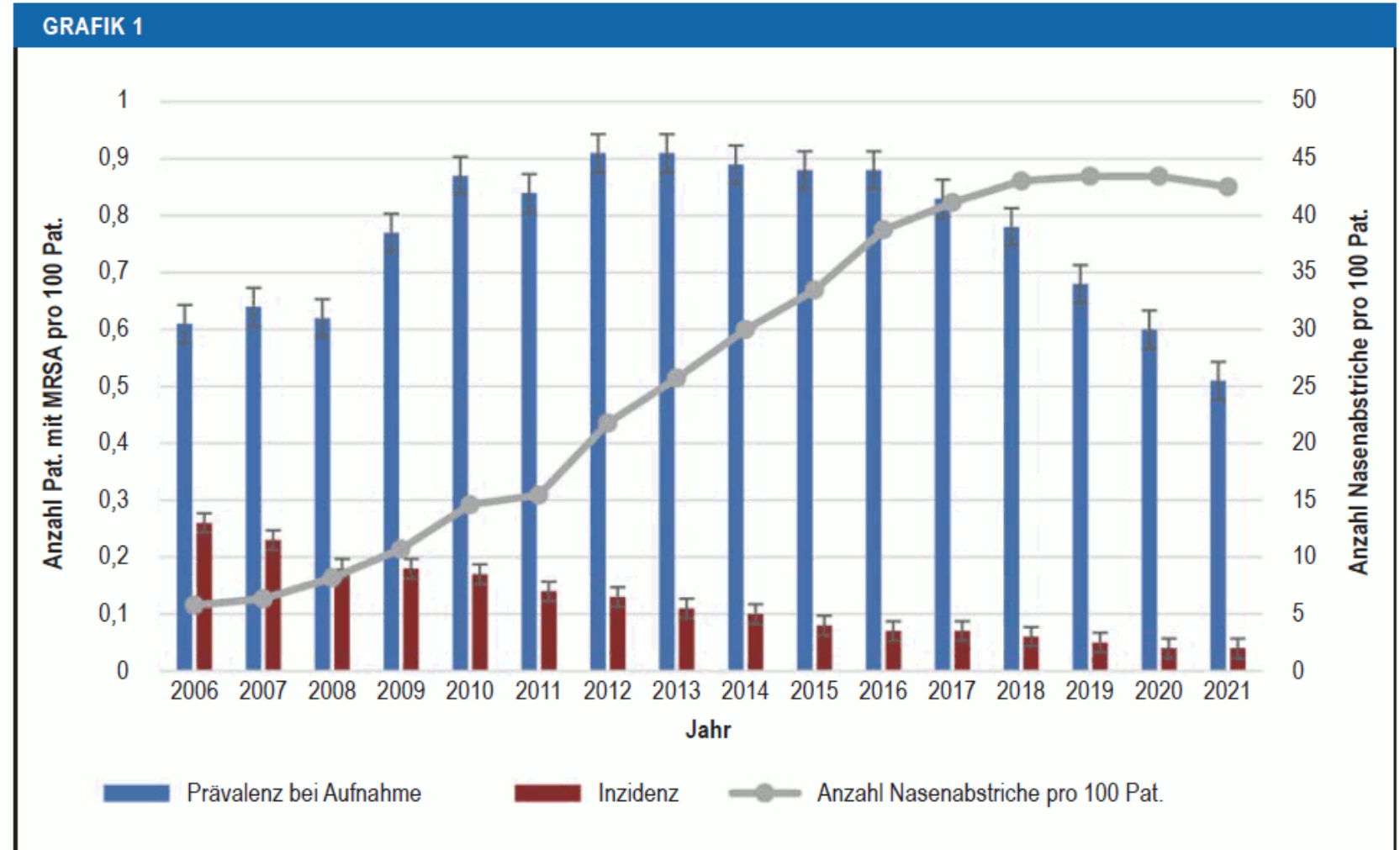


TABELLE 3

Verteilung der MRSA-Raten nach der Screeninghäufigkeit der Krankenhäuser im Jahr 2021 und im Zeitraum 2013–2021

Screeningkategorie (Nasenabstriche pro 100 Pat.)	Anzahl Krankenhäuser	Screeningfrequenz (Nasenabstriche pro 100 Pat..)	Aufnahmeprävalenz (mitgebrachte MRSA-Fälle/100 Pat..)	nosokomiale Inzidenzdichte (nosokomiale MRSA-Fälle/ 1 000 Patiententage)
2021				
≤ 24	119	14,33 (9,87–20,32)	0,28 (0,19–0,41)	0,04 (0,01–0,07)
24 bis ≤ 40	102	32,36 (27,98–37,59)	0,38 (0,27–0,53)	0,04 (0,02–0,07)
40 bis ≤ 64	112	48,89 (44,31–54,16)	0,53 (0,38–0,76)	0,04 (0,02–0,08)
> 64	115	85,67 (73,67–97,80)	0,61 (0,45–0,89)	0,04 (0,01–0,06)
keine Angabe	77	keine Angabe	0,40 (0,26–0,72)	0,03 (0,00–0,07)
alle Krankenhäuser in 2021	525	40,36 (23,49–64,39)	0,43 (0,29–0,66)	0,04 (0,01–0,07)
2013–2021				
≤ 19	1 062	9,88 (4,92–14,35)	0,43 (0,27–0,71)	0,06 (0,02–0,11)
19 bis ≤ 37	1 081	28,23 (23,31–32,48)	0,60 (0,41–0,89)	0,06 (0,03–0,11)
37 bis ≤ 58	1 051	46,00 (41,26–51,34)	0,77 (0,53–1,14)	0,06 (0,03–0,12)
> 58	1 071	81,70 (67,25–96,70)	0,93 (0,68–1,38)	0,07 (0,03–0,13)
keine Angabe	725	keine Angabe	0,66 (0,40–1,03)	0,07 (0,02–0,13)
alle Krankenhäuser in 2013–2021	4 990	36,76 (19,03–58,18)	0,68 (0,43–1,04)	0,06 (0,03–0,12)

Angegeben sind der Median und der Interquartilsbereich (unteres und oberes Quartil). MRSA-KISS-Modul, Deutschland. Pat., Patientinnen und Patienten

Fazit MRSA-Screening

- Vergleichsweise einfache Detektion d. PCR u./o. Kultur
- Dekolonisierung möglich
- Prävalenz bei Aufnahme seit Jahren sinkend (2021 0,5%)
- Plateau bei Screening-Untersuchungen
- Macht universelles Screening noch Sinn?

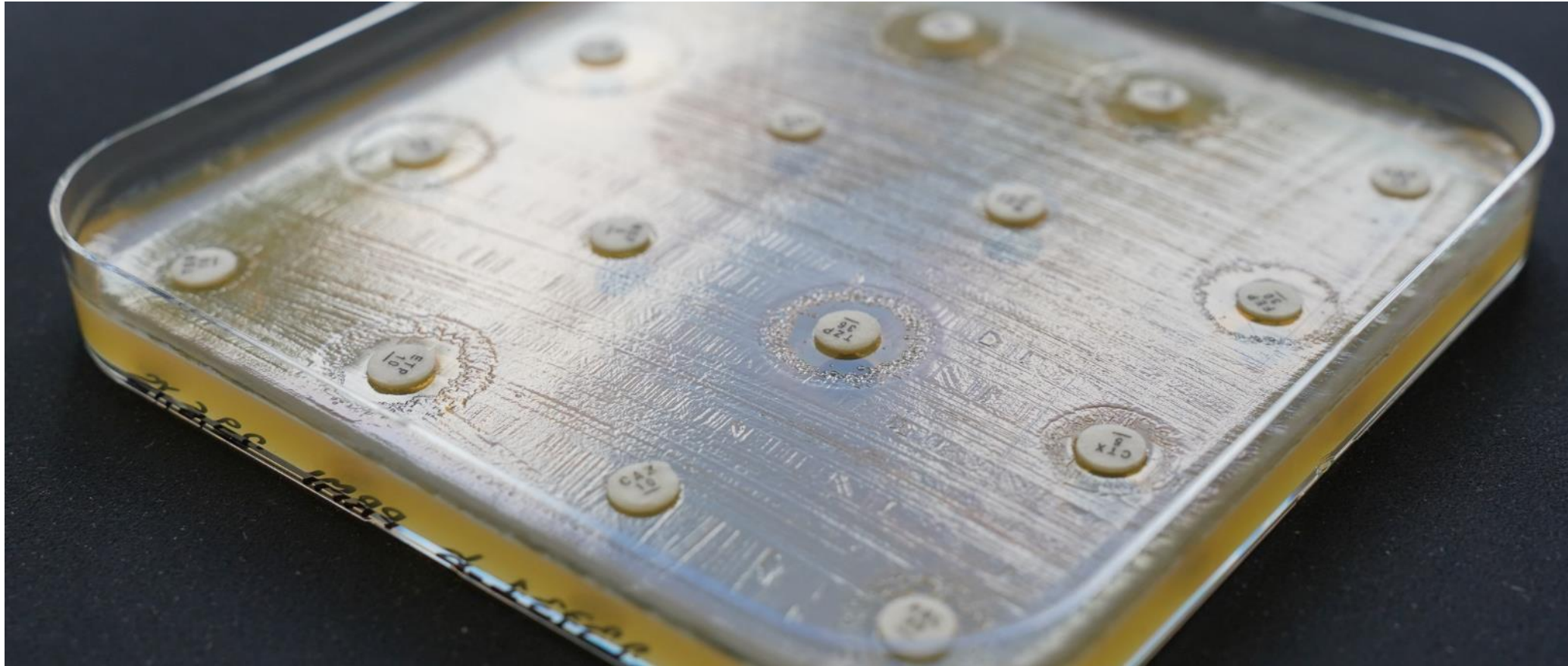
WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024

Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance

Fig. 1. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024 update



Multiresistente Gram-negative/MRGN



MRGN

- KRINKO-Empfehlung 2012
- Enterobacterales/
A. baumannii vs. *P. aeruginosa*
- Klassifikation anhand
phänotypischer Resistenz
gegen 4 Leitantibiotika (2-/3-/4-
MRGN)
- Keine Eingruppierung auf Basis
der Resistenzmechanismen
(Ausnahme Carbapenemase)

Bekanntmachung

Bundesgesundheitsbl 2012 · 55:1311–1354
DOI 10.1007/s00103-012-1549-5
© Springer-Verlag 2012

Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen

Epidemiologisches Bulletin

26. Mai 2014 / Nr. 21

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
(KRINKO)

Ergänzung zu den "Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder
Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen"
(2012) im Rahmen der Anpassung an die epidemiologische
Situation

Diese Woche 21/2014

KRINKO
Hygienemaßnahmen bei Infekti-
onen oder Besiedlung mit MRGN

Epidemiologisches Bulletin

28. Februar 2019 / Nr. 9

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

Präambel
EUCAST definiert die Kategorie „I“ im Rahmen der Antibiotika-
Resistenzbestimmung neu

Diese Woche 9/2019

Screening auf MRGN

2-/3-/4MRGN

- Definition je nach Gruppe verschieden
(Enterobakterien, Acinetobacter, P. aeruginosa)
- Leitresistenzen nicht einheitlich
- Sehr viele verschiedene Resistenzmechanismen
- Deutscher Sonderweg, der Resistenzmechanismen nicht bzw. nur wenig berücksichtigt

KRINKO-Klassifizierung

Enterobakterien/A. baumannii complex

AB-Gruppe	Leitsubstanz	2MRGN	3MRGN	4MRGN
Acylureido-Penicilline	Piperacillin	R	R	R
Ceph. 3G/4G	Cefotaxim/ Ceftazidim	R	R	R
Carbapeneme	Imi-/ Meropenem	S/I*	S/I*	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	S	R	R

*Carbapenemasen müssen ausgeschlossen werden

KRINKO-Klassifizierung

P. aeruginosa

AB-Gruppe	Leitsubstanz	3MRGN	4MRGN
Acylureido-Penicilline	Piperacillin	3 von 4 Gruppen R	R
Ceph. 3G/4G	Ceftazidim/ Cefepim		R
Carbapeneme	Imi-/ Meropenem		R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin		R

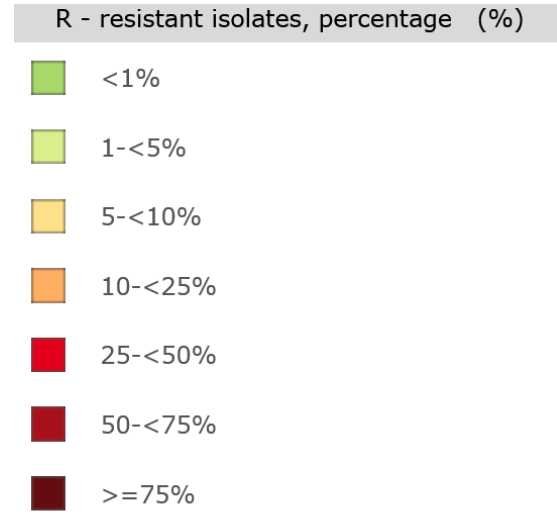
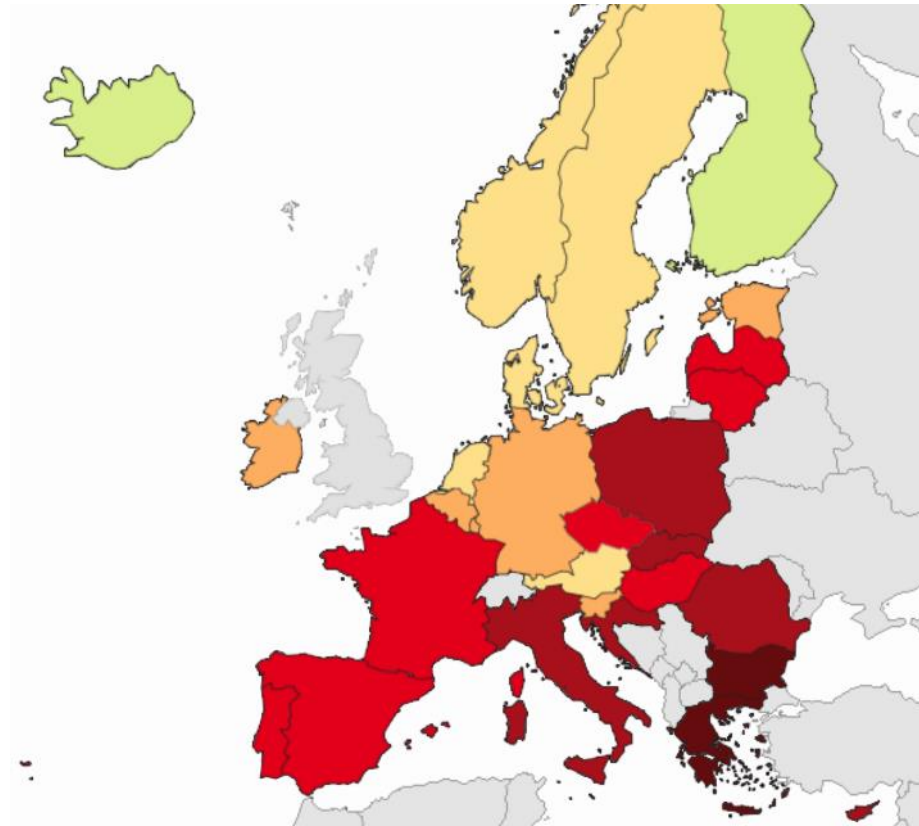
Screening auf 2/3MRGN Enterobakterien

Technisch

- Kulturell (Resistenz gegenüber Cephalosporinen d. 3. Generation (meist ESBL), dann Resistenztestung (Ciprofloxacin?))
- PCR-basierte Verfahren können Vielzahl d. ESBL Gene nicht detektieren
-> in D kaum eingesetzt
- Keine kommerziellen molekularen Tests zur Detektion von Ciprofloxacin-Resistenz bei Enterobakterien

Resistenz bei *K. pneumoniae* 2022

Cephalosporine 3. Generation



Hygienische Konsequenzen bei MRGN n. KRINKO 2012

	Erreger	Reproduktion im KH	Mortalit. erhöht	Maßnahmen (über Standard-Hyg)
4MRGN	Alle	UD, <1 bis >1	Ja	Ja, alle Bereiche

UD: ungenügende Daten

*nach individueller Risikoabwägung, z.B. ITS, Neonatologie, Hämatologie-Onkologie

Carbapenemase-bildende Enterobakterien (CPE)

CRE= Carbapenem-resistente Enterobakterien

CPE= Carbapenemase-bildende Enterobakterien

Alle CPE werden als 4MRGN klassifiziert

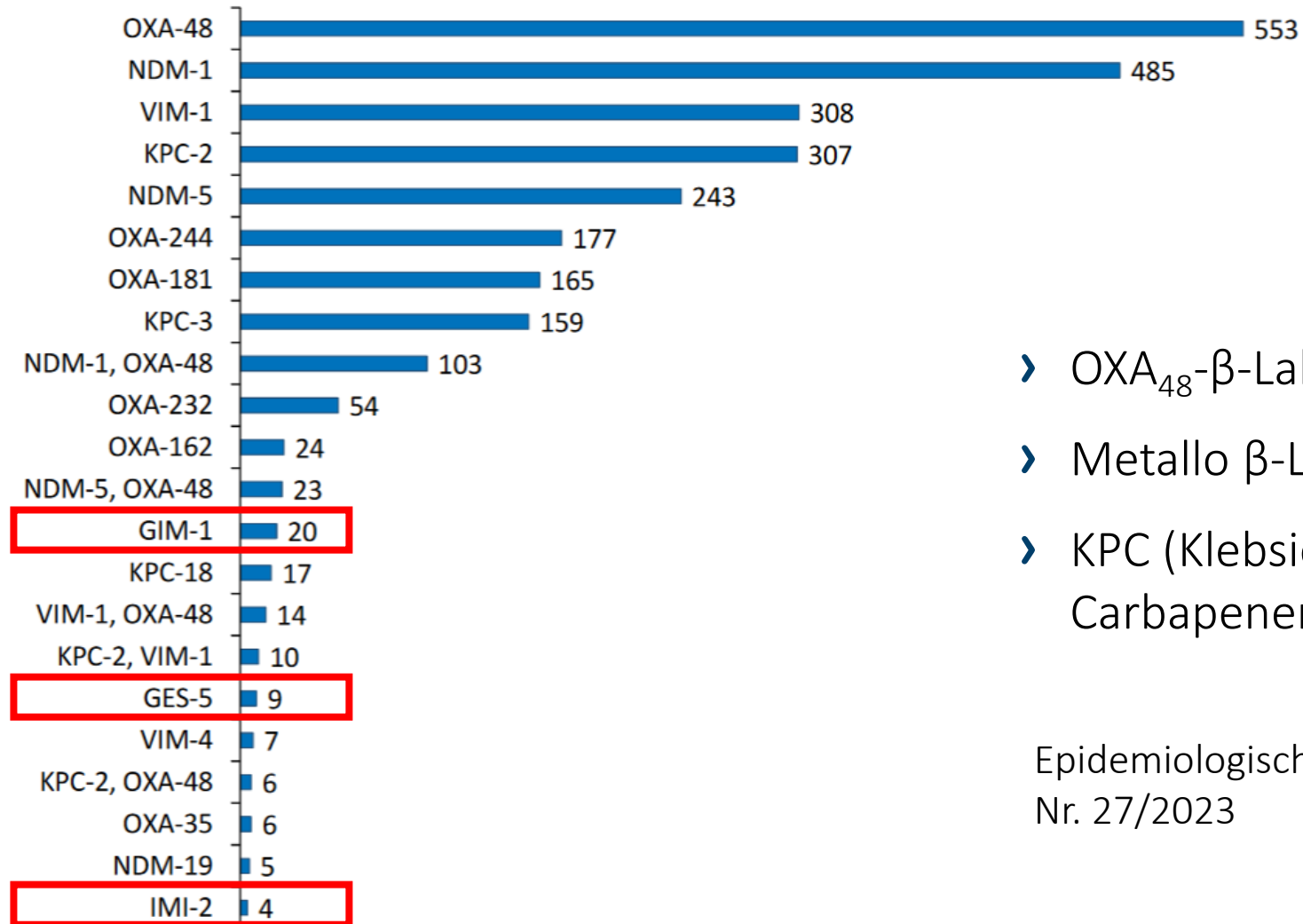
In D überwiegend durch 4 Familien verursacht:

- OXA-48-like
- NDM
- VIM
- KPC

Weltweit sehr unterschiedliche Epidemiologie

Carbapenemase 2022 NRZ Bochum

Nachgewiesene Carbapenemase



- › OXA₄₈-β-Laktamase (und OXA-48-like)
- › Metallo β-Laktamasen: VIM, NDM
- › KPC (Klebsiella pneumoniae Carbapenemase)

Epidemiologisches Bulletin
 Nr. 27/2023

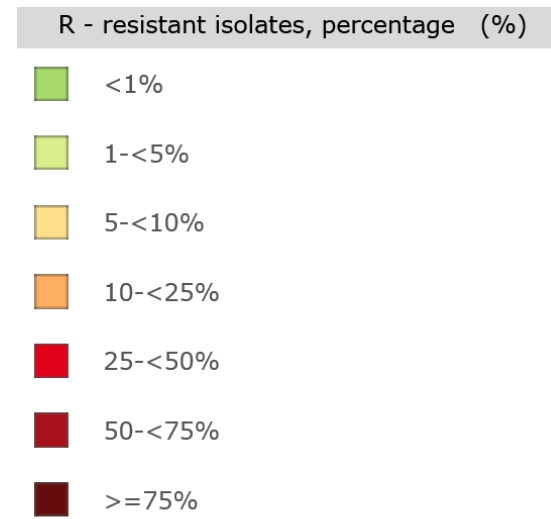
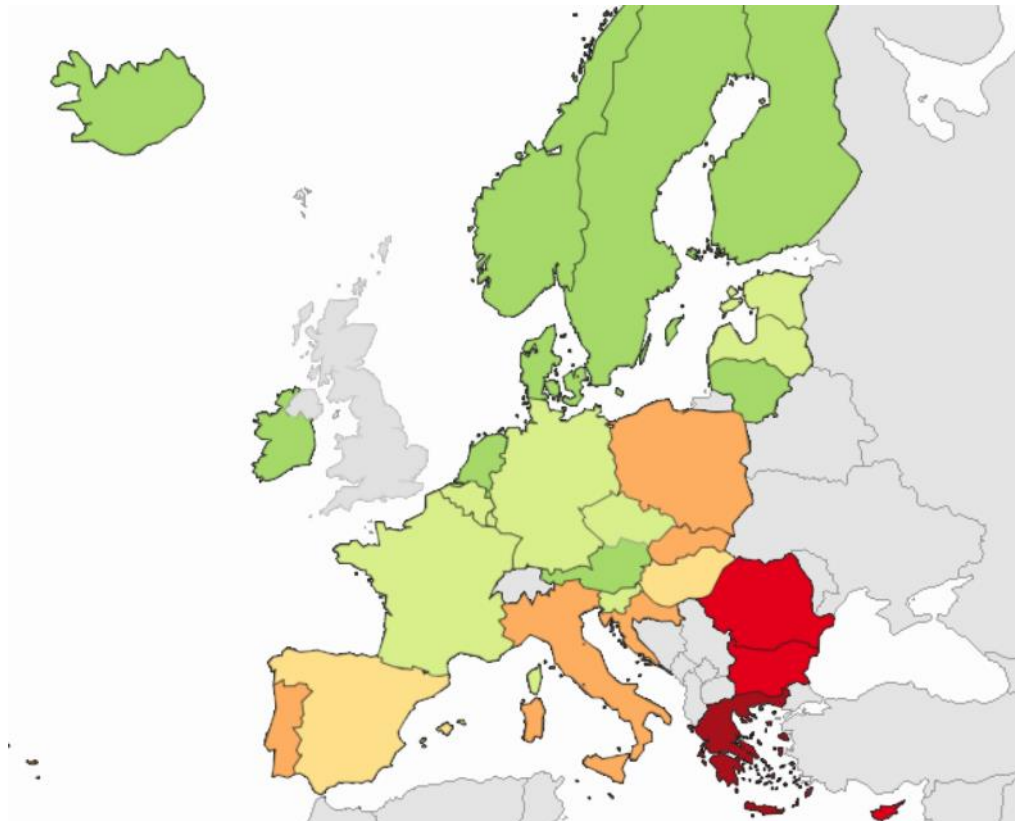
Wie häufig hat eine Spezies eine Carbapenemase?

	Anzahl der getesteten Isolate	davon Carbapenemase-positiv	prozentualer Anteil
<i>Enterobacterales</i>	4.998	2.796	55,9%
<i>E. coli</i>	927	635	68,5%
<i>K. pneumoniae</i>	2.019	1.288	63,8%
<i>E. cloacae</i> -Komplex	606	276	45,5%
<i>K. aerogenes</i>	458	16	3,5%
<i>C. freundii</i> -Komplex	331	296	89,4%
andere <i>Enterobacterales</i>	657	285	43,4%
<i>P. aeruginosa</i>	1.853	527	28,4%
<i>A. baumannii</i>	519	507	97,7%

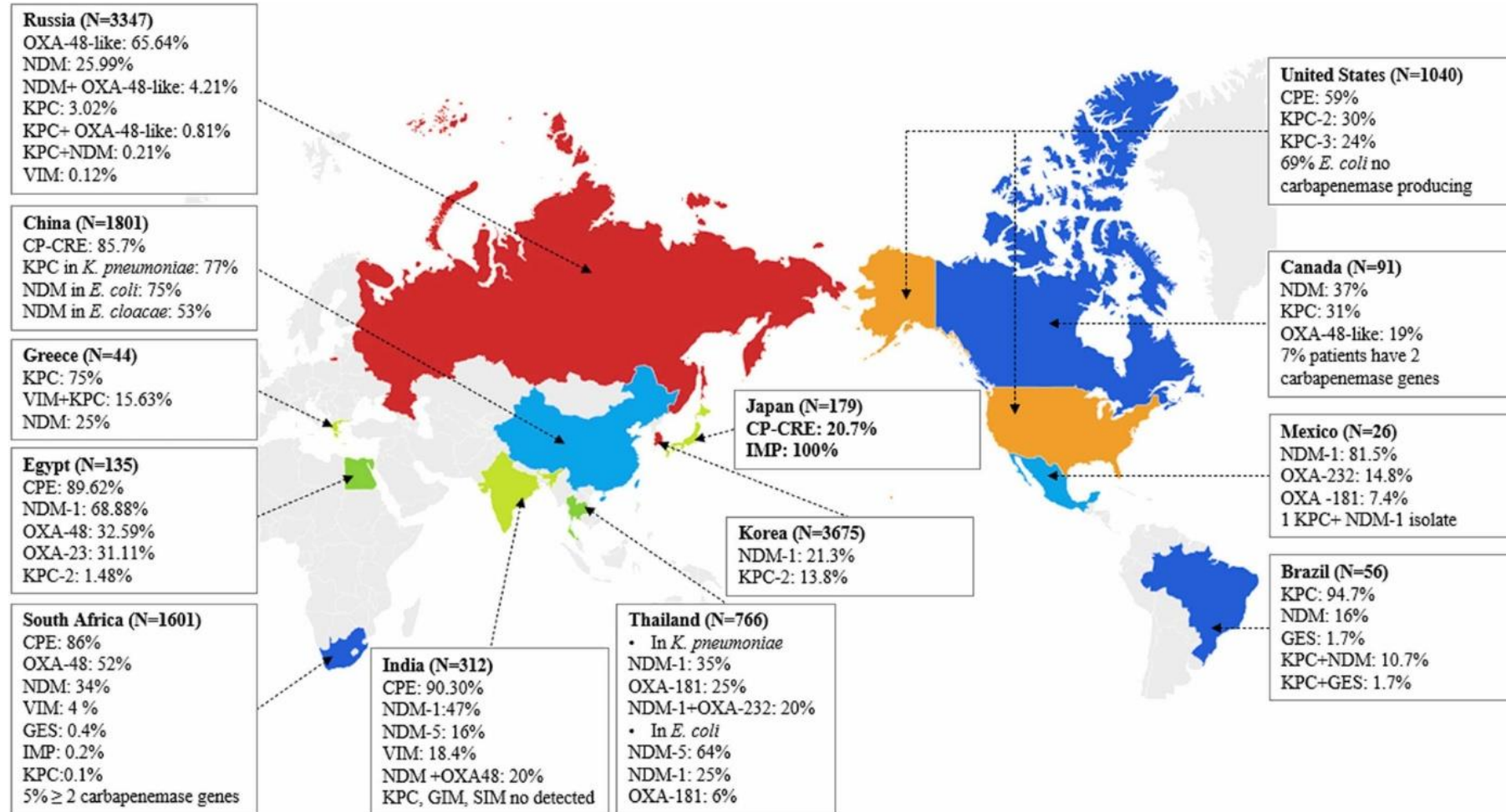
Epidemiologisches Bulletin Nr. 36/2021

Resistenz bei *K. pneumoniae* 2022

Carbapeneme



Epidemiologie von Carbapenemasen weltweit



Screening für Carbapenemase-bildende Enterobakterien

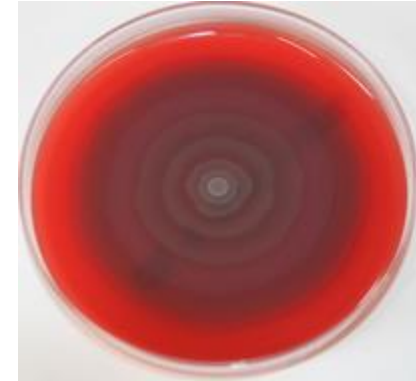
- Kultur: Sensitivität abhängig von Epidemiologie (Carbapenemase, Spezies)
- Einige CPE haben sehr niedrige minimale Hemmkonzentrationen und wachsen kaum/nicht auf Selektivagars.

Culture media	Detected CPE isolates	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Youden index
CRE agars				
chromID CARBA (bioMérieux)	59	85.5% (75.0–92.8%)	87.5% (73.2–95.8%)	0.73
chromID OXA-48 (bioMérieux) ¹	24	34.8% (23.7–47.2%) ¹	100% (91.2–100%)	0.35
Chromatic CRE (Liofilchem)	65	94.2% (85.8–98.4%)	60.0% (43.3–75.1%)	0.54
Brilliance CRE (Oxoid)	68	98.6% (92.2–100%)	60.0% (43.3–75.1%)	0.59
McCARB (in-house)	67	97.1% (89.9–99.7%)	72.5% (56.1–85.4%)	0.70
McCARB-T (in-house)	67	97.1% (89.9–99.7%)	77.5% (61.6–89.2%)	0.75
ESBL agars				
chromID ESBL (bioMérieux)	66	95.7% (87.8–99.1%)	32.5% (18.6–49.1%)	0.28
Chromatic ESBL (Liofilchem)	66	95.7% (87.8–99.1%)	57.5% (40.9–73.0%)	0.53
Brilliance ESBL (Oxoid)	66	95.7% (87.8–99.1%)	30.0% (16.6–46.5%)	0.26

¹ This medium was developed to specifically detect OXA-48 but has been assessed for the detection of also other carbapenemases in this study

Screening für Carbapenemase-bildende Enterobakterien

- MHKs in einigen Spezies besonders niedrig –
Sensitivität bei *P. mirabilis* deutlich niedriger als bei
anderen Spezies (70% für mSuperCarba)
- Selektivagars sollten an Isolaten aus dem jeweiligen
Land validiert worden sein!



Hamprecht et al., Clinical Microbiology and Infection 29 (2023) 1198.e1e1198.e6

Screening für Carbapenemase-bildende Enterobakterien

Molekularbiolog. Verfahren

- Kommerzielle Verfahren mit guter Sensitivität u. Spezifität verfügbar – direkt aus Patientenmaterial (Rektalabstrich) oder von Kulturoisolaten
- CAVE: Meiste Assays detektieren nur die „big four“: OXA-48-like, KPC, NDM, VIM (\pm einige IMP-Varianten)
- IMP-Nachweis per PCR problematisch (viele Varianten)
- „seltene“ Carbapenemasen (IMI, GES, GIM, OXA-23) werden meist nicht erfasst

Noster et al., Antibiotics 2021, 10, 1140

Wann ist ein CPE-positiver Patient als negativ zu werten?

- CPE-kolonisierte Pat. mit 3 negativen Abstrichen
- PCR als Folgeuntersuchung:
 - 1/3 PCR positiv
 - PCR positive konvertieren häufiger zu kulturpositiv (88%) vs. PCR-negative (42%)
- Risikofaktoren:
Alter, ZVK, E. coli

Journal of Hospital Infection 146 (2024) 93–101



Available online at www.sciencedirect.com

Journal of Hospital Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhin

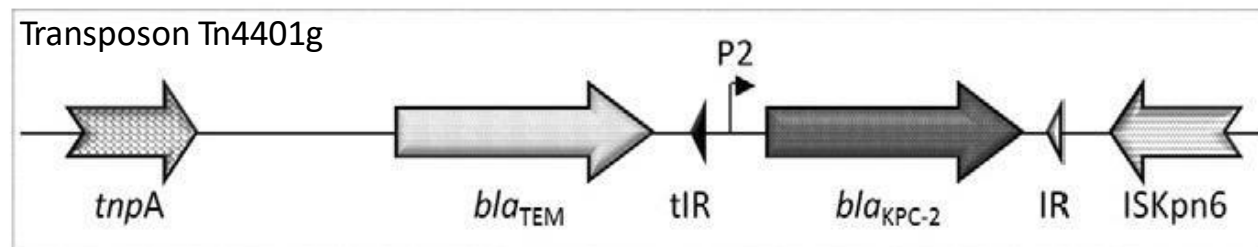


Comparison of clinical outcomes of patients with serial negative surveillance cultures according to a subsequent polymerase chain reaction test for carbapenemase-producing Enterobacterales

H. Seo^{a,†}, S. Kim^{b,†}, Y.W. Lee^a, H.S. Oh^a, H-S. Kim^c, Y.K. Kim^{a,*}

KPC-2 Ausbruch Südhessen

- 10/2013-09/2014
- Carbapenem-resistente Enterobacteriaceae in 133 Patienten
- KPC-2 Carbapenemase in verschiedenen Spezies
- WGS+PFGE: 54 kb IncN plasmid
- Multispezies Ausbruch durch KPC-2 horizontalen Gentransfer



KPC-2 Ausbruch Südhessen

Ausbruch?

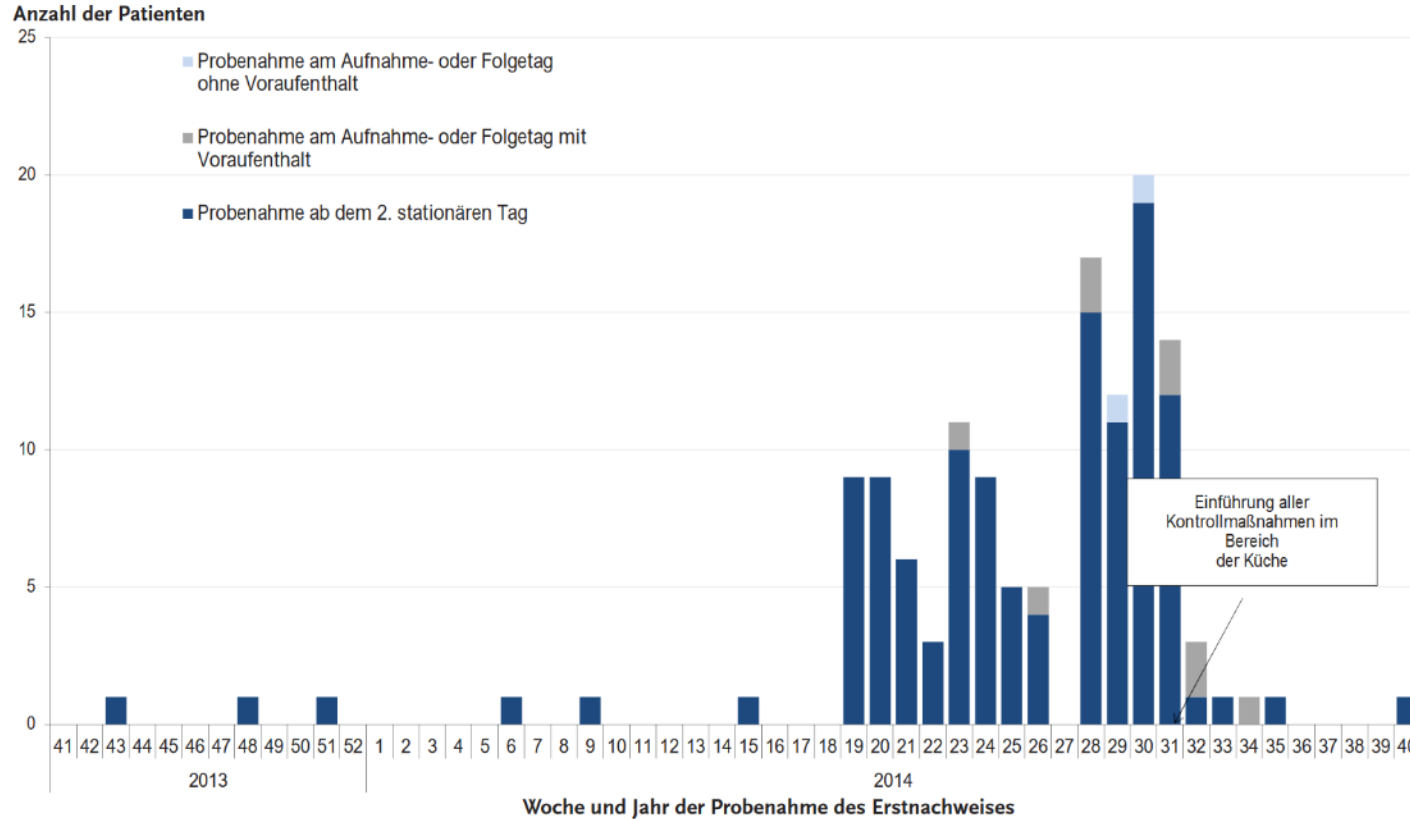
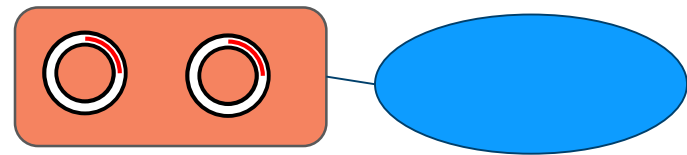


Abb. 1: Epidemische Kurve für 133 Patienten mit Kolonisation oder Infektion durch verschiedene Spezies Carbapenem-resistenter *Enterobacteriaceae*, nach Datum des Erstnachweises und Voraufenthalten, Süd Hessischer KPC-2-Ausbruch, 1. Oktober 2013 bis 30. September 2014.

Carstens et al, Epidem. Bulletin 47/2014

Horizontaler Gentransfer



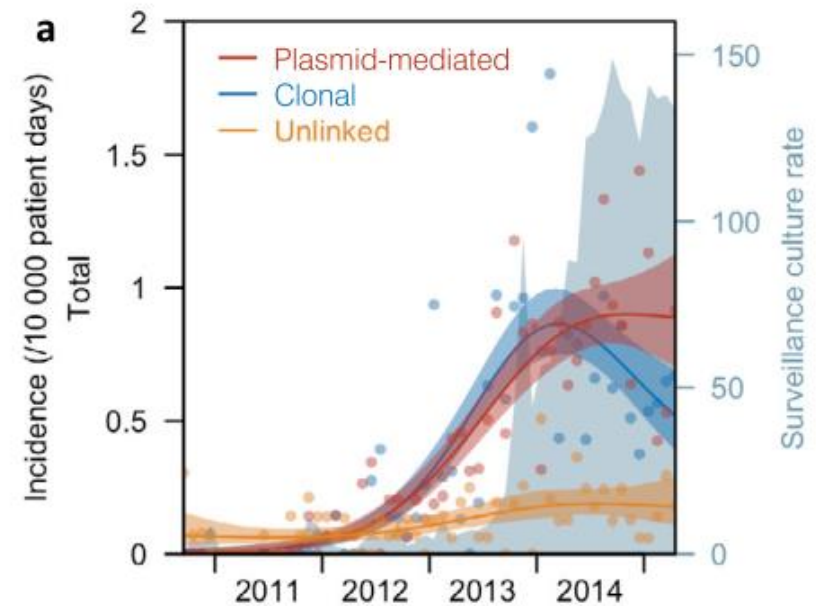
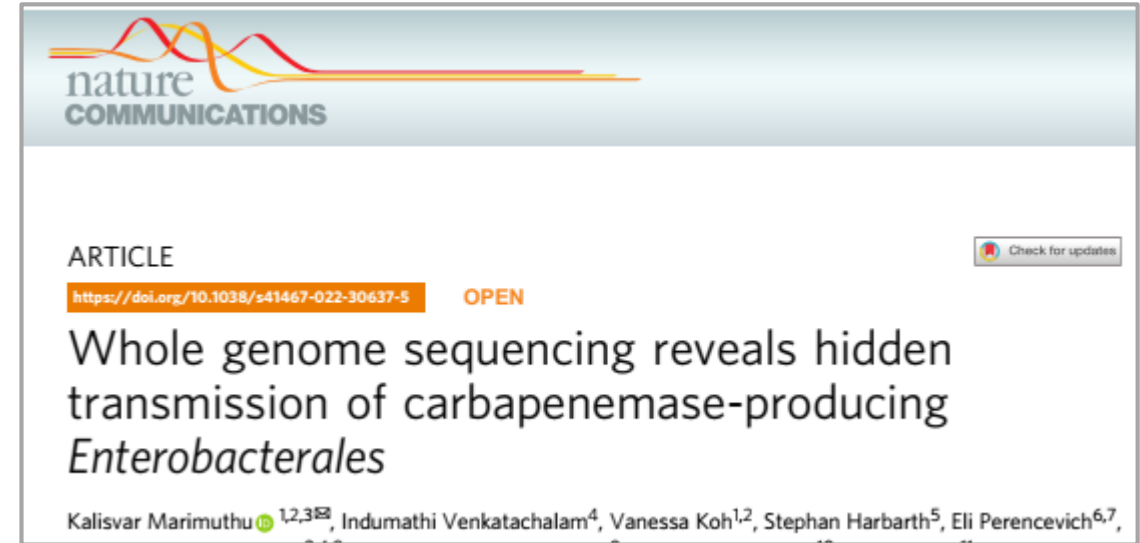
K.
pneumoniae

E. coli

Plasmide → auf andere Bakterien übertragbar

Verbreitung von Carbapenemasen d. horizontalen Gentransfer

- Retrospektive Kohortenstudie
Krankenhäuser Singapurs 2010-2015
- 779 Patient CPE/1215 CPE Isolate
- Wahrscheinliche Übertragung
 - 42.0% klonale
 - 44.8% plasmid-mediated
 - 13.2% unklar/ohne Verbindung



Marimuthu et al., Nat com 2022

Verbreitung von Carbapenemasen d. horizontalen Gentransfer

- *Klebsiella* und *Enterobacter* spp. höheres Risiko für klonale Verbreitung als *E. coli*
- Stämme mit NDM oder OXA-Carbapenemasen höheres Risiko als KPC
- Ausbrüche in KH durch gemeinsame Plasmide in verschiedenen Spezies
- Long read sequencing, welcher cut-off?
- Geschwindigkeit d. Analyse

Zusammenfassung Screening MRGN

2/3MRGN (ESBL)

- Kulturelles Screening
- Geeignete Patientengruppen auswählen
- Evidenzen für Hygienemaßnahmen & Benefit für Pat.?!

Zusammenfassung Screening MRGN

4MRGN/Carbapenemase-bildende Enterobakterien

- Kulturelles u./o. molekularbiolog. Verfahren möglich
- Ausbruch vs. allgem. Screening?
- CAVE – kein Verfahren erfasst alle CPE
- Lokale/nationale Epidemiologie, Patientenkollektiv beachten!
- Screeningzeitpunkt beachten – einmalige Testung ist kein Ausschluß!
- Neuere Verfahren (long read sequencing) zur Aufklärung von Ausbrüchen z.T. erforderlich!

Diagnostic Stewardship bei Screening-Untersuchungen

- Bisher wenig oder nur in speziellen Situationen (Ausbruch) untersucht
- Was macht in ihrem Setting Sinn (Patientenkollektiv/lokale Epidemiologie; Number Needed to Screen)?
- Wer soll wie untersucht werden?
- Auswirkungen auf Pat. bedenken (Isolation)
- Abwägung zw. Diagnostic Stewardship und Abläufen im KH/Patientenversorgung (universelles Screening?)

„The right test for the right patient at the right time to prompt the right action“