

CAT
Critically Appraised Topic

**Optimalisatie van de CPE confirmatie flowchart op basis van de huidige epidemiologie
inclusief evaluatie van de herintroductie van de CarbaNP test**

Auteur: Apr. Justine Maes
Supervisor: Prof. apr. klin. biol. Stefanie Desmet
Datum: 3 september 2024

SAMENVATTING

Deze "Critically Appraised Topic" (CAT) richt zich op het optimaliseren van de huidige methode voor de confirmatie van carbapenemase-producerende *Enterobacterales* (CPE) in UZ Leuven, rekening houdend met de huidige epidemiologie. Het detecteren en identificeren van CPE is essentieel om verspreiding van deze multiresistente kiemen te voorkomen en belangrijk voor de keuze van antibiotische behandeling in geval van infecties.

In deze CAT wordt de actuele epidemiologie van CPE in Europa, België, en specifiek in UZ Leuven, besproken. De resultaten tonen aan dat de detectie van CPE de afgelopen jaren is toegenomen, waarbij OXA-48-like het meest voorkomende carbapenemase blijft in België en UZ Leuven. Daarnaast is er echter een stijging te zien in het voorkomen van NDM, VIM, en combinaties van NDM en OXA-48 carbapenemases. Wat betreft fenotypische testen, blijken immuunchromatografische testen interessant vanwege hun zeer goede performantie bij het detecteren van OXA-48-like carbapenemases in vergelijking met andere beschikbare fenotypische testen.

Op basis van eigen retrospectieve data is de huidige CPE confirmatie flowchart op enkele punten aangepast om beter aan te sluiten bij de huidige epidemiologische situatie, met oog voor kosteneffectiviteit. De noodzaak voor de opname van een brede fenotypische screeningstest, zoals de CarbaNP test, werd geëvalueerd om de detectie te verbreden naar carbapenemases die niet opgenomen zijn in de andere bevestigingstesten. Na het testen van de CarbaNP-kit, werd besloten deze test (voorlopig) niet op te nemen in de flowchart. De reagenskosten voor de uitwerking van voor CPE verdachte kiemen werden berekend voor 2023, en met de herziene flowchart is een kostenverlaging mogelijk.

KLINISCH EN DIAGNOSTISCH SCENARIO

Antimicrobiële resistentie is een grote zorg, die een uitdaging vormt voor de behandeling van patiënten vandaag de dag en een steeds grotere bedreiging vormt voor de wereldwijde volksgezondheid. Carbapenem-resistente *Enterobacterales* (CRE) zijn bijzonder zorgwekkend vanwege hun hoge mate van antimicrobiële resistentie, beperkte behandelingsopties en het potentieel voor snelle overdracht via mobiele genetische elementen. Carbapenemresistentie kan optreden door de productie van een carbapenemase of door een combinatie van een β -lactamase met porinmutaties. Carbapenemresistentie door carbapenemases is verontrustend omdat de genen die deze β -lactamases coderen vaak aanwezig zijn op mobiele genetische elementen die verdere horizontale transmissie vergemakkelijken. Sinds hun eerste identificatie hebben carbapenemase-producerende *Enterobacterales* (CPE) zich in de afgelopen 25 jaar snel wereldwijd verspreid (1). Het detecteren van een CPE en de bepaling van de klasse van het carbapenemase dat geproduceerd wordt, heeft een mogelijke invloed op de behandeling, omdat sommige middelen bij voorkeur werken tegen specifieke carbapenemases. Bèta-lactamases worden onderverdeeld in vier klassen volgens de Ambler classificatie, klasse A tot en met D (2). De carbapenemases bevinden zich in klasse A, B en D. In tabel 1 wordt deze indeling weergegeven samen met de activiteit van de beschikbare β -lactamase inhibitoren. Onder de verschillende CPE, is de detectie van een metallo- β -lactamase (MBL; klasse B carbapenemase) van groot belang omdat de behandelingsopties tegen deze isolaten zeer beperkt zijn. Klinisch belangrijke MBL's omvatten de New-Delhi (NDM), Verona integron-gecodeerde (VIM),

en imipenemase (IMP) MBL's. Momenteel goedgekeurde nieuwe β -lactamase inhibitoren zoals avibactam, vaborbactam en relebactam hebben onvoldoende remmende activiteit tegen MBL om hun bijbehorende β -lactams te beschermen. Cefiderocol en aztreonam-avibactam zijn de weinige middelen met nog enige activiteit tegen MBL-producerende *Enterobacterales*. Avibactam is wel in staat om carbapenemase van klasse A (oa. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase of KPC) en van klasse D (oxacillinase-carbapenemase met OXA-48 als de belangrijkste) te inhiberen (3). CPE vereisen bovendien intensievere infectiepreventiemaatregelen zoals isolatie van patiënten en zo nodig screening van contacten. Het identificeren van het type carbapenemase draagt bovendien bij aan epidemiologische surveillance en is een hulp voor de detectie van een mogelijke uitbraak of nosocomiale overdracht.

Tabel 1: Klasse-indeling van de carbapenemase en activiteit van de β -lactamase inhibitoren

	Clavulaanzuur	Tazobactam	Avibactam	Relebactam	Vaborbactam
Klasse A					
KPC	Neen	Neen	Ja	Ja	Ja
Klasse B (MBL)					
NDM, VIM, IMP	Neen	Neen	Neen	Neen	Neen
Klasse D					
OXA	Neen	Neen	Ja	Neen	Neen

Fenotypische testen die momenteel worden gebruikt om CPE te detecteren omvatten: (I) Groei-gebaseerde testen die carbapenemresistentie meten op basis van de groei van het organisme in aanwezigheid van een carbapenem-antibioticum (bijv. gemodificeerde Hodge-test, gemodificeerde carbapenem-inactivatiemethode), (II) hydrolyse-gebaseerde technieken die carbapenem-afbraakproducten detecteren (bijv. CarbaNP test en matrix-geassisteerde laserdesorptie-ionisatie time-of-flight massaspectrometrie), (III) inhibitor-gebaseerde testen met dipicolinezuur en boorzuur, en (IV) laterale flow-immunoassays die carbapenemase detecteren door het gebruik van specifieke antilichamen. Genotypische testen voor het opsporen van CPE zijn bijvoorbeeld (multiplex) PCR waarbij detectie van carbapenemase-genen gebeurt. Met behulp van Whole Genome Sequencing (WGS) kan ook het volledige bacteriële genoom inclusief aanwezige resistentiegenen geïdentificeerd worden, waardoor gedetailleerde en uitgebreide informatie bekomen wordt. Dit laatste is vooral interessant in het kader van uitbraken waarbij men wenst te weten of één en hetzelfde resistentie gen of één en dezelfde kiem verspreid worden. Op dit moment is WGS nog duur en vereist het gespecialiseerde apparatuur en expertise. Hoewel er geen enkele test is die aan alle specificaties van de ideale test voldoet, zijn er verschillende testen die gebruiksvriendelijk, betaalbaar, nauwkeurig en uitvoerbaar zijn voor implementatie in klinische microbiologische laboratoria (4).

In UZ Leuven wordt al een aantal jaren een flowchart gebruikt voor de confirmatie van CPE. Deze flowchart is gebaseerd op de epidemiologie van een aantal jaren terug. De epidemiologie is echter geëvolueerd en de flowchart dient daarom geherevalueerd te worden. Bovendien omvat de huidige flowchart enkel testen die specifieke carbapenemase opsporen en geen carbapenemase screeningstest. Hierdoor kunnen onbekende, nieuwere types van carbapenemase, die op een gegeven moment kunnen opduiken, gemist worden. In deze CAT wordt de huidige epidemiologie van CPE kiemen in Europa, België en UZ Leuven beschreven. Vervolgens worden de belangrijkste fenotypische testen die op de markt zijn in België beschreven. Nadien wordt de flowchart kritisch geanalyseerd aan de hand van retrospectieve gegevens om zo tot een kosten-effectieve aanpak voor de confirmatie van CPE kiemen te komen.

CAT-VRAGEN

- 1) *Wat is de huidige epidemiologie van CPE in Europa, in België en UZ Leuven?*
- 2) *Welke fenotypische confirmatietesten voor CPE zijn beschikbaar in België en zijn relevant in de context van de huidige epidemiologie?*
- 3) *Is er nood aan een brede fenotypische CPE screeningstest type CarbaNP in UZ Leuven?*
- 4) *Waar kan de huidige uitwerking van isolaten van Enterobacterales verdacht voor carbapenemaseproductie geoptimaliseerd worden in UZ Leuven?*
- 5) *Wat kost de uitwerking van voor CPE-verdachte kiemen op jaarbasis?*

REFERENTIES

1. Boutzoukas AE, Komarow L, Chen L, Hanson B, Kanj SS, Liu Z, et al. International Epidemiology of Carbapenemase-Producing Escherichia coli on behalf of the Antibacterial Resistance Leadership Group and Multi-Drug Resistant Organism Network Investigators. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jun 19];77. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciad288>
2. Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of multidrug-resistant enterobacterales—from esbls to carbapenemases. *Antibiotics*. 2021;10(9):1–27.
3. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clinical Microbiology and Infection*. 2022;28(4):521–47.
4. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates [Internet]. 2018. Available from: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
5. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis*. 2017 Feb 1;17(2):153–63.
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Increase in OXA-244-producing *Escherichia coli* in the European Union/European Economic Area and the UK since 2013—first update. 2021.
7. Lindemann PC, Pedersen T, Oma DH, Janice J, Grøvan F, Chedid GM, et al. Intraregional hospital outbreak of OXA-244-producing *Escherichia coli* ST38 in Norway, 2020. *Eurosurveillance*. 2023 Jul 6;28(27).
8. Masseron A, Poirel L, Falgenhauer L, Imirzalioglu C, Kessler J, Chakraborty T, et al. Ongoing dissemination of OXA-244 carbapenemase-producing *Escherichia coli* in Switzerland and their detection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020 Jul 1;97(3).
9. Desmet S, Nepal S, van Dijl JM, Van Ranst M, Chlebowicz MA, Rossen JW, et al. Antibiotic Resistance Plasmids Cointegrated into a Megaplasmid Harboring the blaOXA-427 Carbapenemase Gene. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Aug 18];62(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29311088/>
10. Bogaerts P, Naas T, Saegeman V, Bonnin RA, Schuermans A, Evrard S, et al. OXA-427, a new plasmid-borne carbapenem-hydrolysing class D β -lactamase in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Aug 18];72(9):2469–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28859446/>
11. Hoge Gezondheidsraad. ADVISORY REPORT OF THE SUPERIOR HEALTH COUNCIL no. 9554 Guidelines for laboratory detection of MDRO from clinical samples and screening specimens Enterobacterales [Internet]. Available from: www.shc-belgium.be

12. Martinez-Martinez L, Cantón Spain R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, Nordmann P, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. 2017;
13. Deckers C, Bélik F, Denis O, Montesinos I, Bogaerts P, Boelens J, et al. Multicenter interlaboratory study of routine systems for the susceptibility testing of temocillin using a challenge panel of multidrug-resistant strains. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2023 Dec 1;42(12):1477–83.
14. Garg A, Garg J, Upadhyay GC, Agarwal A, Bhattacharjee A. Evaluation of the Rapidec Carba NP Test Kit for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. 2015 [cited 2024 Feb 27]; Available from: www.biomerieux-diagnostics.com/sites
15. Lee YL, Chen HM, Hii IM, Hsueh PR. Carbapenemase-producing Enterobacterales infections: recent advances in diagnosis and treatment. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 28];59:106528. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106528>
16. Elawady B, Ghobashy M, Balbaa A. Rapidec Carba NP for Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Isolates: A Cross-Sectional Study. [cited 2024 Feb 28]; Available from: www.liebertpub.com
17. Bayraktar B, Xe Baris A, Ls Xah Malkoç G, Erdemir D, Kına N. Comparison of Carba NP-Direct, Carbapenem Inactivation Method, and b-CARBA Tests for Detection of Carbapenemase Production in Enterobacteriaceae. [cited 2024 Feb 28]; Available from: www.liebertpub.com
18. Bir R, Mohapatra S, Kumar A, Tyagi S, Sood S, Das BK, et al. Comparative evaluation of in-house Carba NP test with other phenotypic tests for rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *J Clin Lab Anal*. 2019 Jan 1;33(1).
19. Poirel L, Nordmann P. Rapidec Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase Producers. 2015 [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
20. Abdelghani S, Thomson GK, Snyder JW, Thomson KS. Comparison of the Carba NP, Modified Carba NP, and Updated Rosco Neo-Rapid Carb Kit Tests for Carbapenemase Detection. 2015 [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
21. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(12):6437–40.
22. Dortet L, Lie Agathine A, Naas T, Lle Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the RAPIDEC w CARBA NP, the Rapid CARB Screen w and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/70/11/3014/2363692>
23. Eltahlawi RA, Jiman-Fatani A, Gad NM, Ahmed SH, Al-Rabia MW, Zakai S, et al. Detection of Carbapenem-resistance in CRE by Comparative Assessment of RAPIDEC® CARBA NP and Xpert™Carba-R Assay. 2023 [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://doi.org/10.2147/IDR.S393739>
24. McMullen AR, Wallace MA, Labombardi V, Hindler J, Campeau S, Humphries R, et al. Multicenter evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP assay for the detection of carbapenemase production in clinical isolates of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa*. [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03937-1>
25. Hombach M, Von Gunten B, Castelberg C, Bloemberg G V. Evaluation of the Rapidec Carba NP Test for Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae. 2015 [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
26. Kansak N, Eyma Çalik S., Arıcı N, Adaleti R, Aksaray S, G€ Onüllü N. Performance of the Rapidec®Carba NP assay for the detection of different carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains. Original Research Article [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2022.08.004>
27. Yusuf E, Van Der Meeren S, Schallier A, Piérard D. Comparison of the Carba NP test with the Rapid CARB Screen Kit for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*.

28. Humaun Kabir M, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC w CARBA NP for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. [cited 2024 Feb 28]; Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/71/5/1213/1750477>
29. Kour I, Vasesi D, Singhal L, Gupta V. Comparative Evaluation of Three Phenotypic Tests—Carba NP, Modified Carba NP and Rapidec Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenem Resistance in Blood Culture Isolates of *Escherichia coli* in an ICU Setting. *Malays J Med Sci* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 28];29(6):60. Available from: </pmc/articles/PMC9910379/>
30. Yaşar-Duman M, Çilli F, Tekintaş Y, Polat F, Hoşgör-Limoncu M. Carbapenemase investigation with rapid phenotypic test (RESIST-4 O.K.N.V) and comparison with PCR in carbapenem-resistant Enterobacterales strains. *Iran J Microbiol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 26];14(3):328. Available from: </pmc/articles/PMC10132333/>
31. Song W, Park MJ, Jeong S, Shin DH, Kim JS, Kim HS, et al. Rapid Identification of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae from Culture: Evaluation of the RESIST-4 O.K.N.V. Multiplex lateral flow assay. *Ann Lab Med* [Internet]. 2020 [cited 2024 Feb 26];40(3):259–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6933055/>
32. Kettani A El, Maaloum F, Nzoyikorera N, Khalis M, Katfy K, Belabbes H, et al. Evaluation of the Performances of the Rapid Test RESIST-5 O.O.K.N.V Used for the Detection of Carbapenemases-Producing Enterobacterales. 2021 [cited 2024 Feb 27]; Available from: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080953>
33. Hong J, Kang D, Kim D. Performance Evaluation of the Newly Developed In Vitro Rapid Diagnostic Test for Detecting OXA-48-Like, KPC-, NDM-, VIM- and IMP-Type Carbapenemases: The RESIST-5 O.K.N.V.I. Multiplex Lateral Flow Assay. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2021 [cited 2024 Feb 27];10(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33921669/>
34. Bogaerts P, Berger AS, Evrard S, Huang TD. Comparison of two multiplex immunochromatographic assays for the rapid detection of major carbapenemases in Enterobacterales. [cited 2024 Feb 27]; Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/>
35. Han R, Guo Y, Peng M, Shi Q, Wu S, Yang Y, et al. Evaluation of the Immunochromatographic NG-Test Carba 5, RESIST-5 O.O.K.N.V., and IMP K-SeT for Rapid Detection of KPC-, NDM-, IMP-, VIM-type, and OXA-48-like Carbapenemase Among Enterobacterales. *Front Microbiol*. 2021 Jan 15;11.
36. Josa D, Leal R, Rojas J, Torres I, Cortés-Muñoz F, Esparza G, et al. Comparative Evaluation of Phenotypic Synergy Tests versus Immunoassays for the Detection and Differentiation of *aeruginosa*. *Microbiol Spectr*. 2022;10(1):1–8.
37. MacDonald JW, Chibabhai V. Evaluation of the RESIST-4 O.K.N.V immunochromatographic lateral flow assay for the rapid detection of OXA-48, KPC, NDM and VIM carbapenemases from cultured isolates. *Access Microbiol*. 2019 Jul 1;1(5).
38. Bodendoerfer E, Keller PM, Mancini S. Rapid identification of NDM-, KPC-, IMP-, VIM- And OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacterales from blood cultures by a multiplex lateral flow immunoassay. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(6):1749–51.
39. Baeza LL, Pfennigwerth N, Greissl C, Göttig S, Saleh A, Stelzer Y, et al. Comparison of five methods for detection of carbapenemases in Enterobacterales with proposal of a new algorithm. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25(10):1286.e9-1286.e15.
40. Kon H, Abramov S, Frenk S, Schwartz D, Shalom O, Adler A, et al. Multiplex lateral flow immunochromatographic assay is an effective method to detect carbapenemases without risk of OXA-48-like cross reactivity. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* [Internet]. 2021;20(1):1–7. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00469-0>
41. Greissl C, Saleh A, Hamprecht A. Rapid detection of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM carbapenemases in Enterobacterales by a new multiplex immunochromatographic test. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;38(2):331–5.

42. Boutal H, Vogel A, Bernabeu S, Devilliers K, Creton E, Cotellon G, et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;73(4):909–15.
43. Hopkins KL, Meunier D, Naas T, Volland H, Woodford N. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;73(12):3523–6.
44. Miltgen G, Smith A, Hibon V, Mangata E, Bencimon C, Ramiandrisoa M, et al. Évaluation de deux kits immuno-chromatographiques pour la détection des souches d'Entérobactéries Productrices de Carbapénèmase Introduction-Objectif.
45. Saito K, Mizuno S, Nakano R, Tanouchi A, Mizuno T, Nakano A, et al. Evaluation of NG-Test CARBA 5 for the detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *J Med Microbiol* [Internet]. 2022 Jun 7 [cited 2024 Aug 29];71(6):001557. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001557>

1) *Wat is de huidige epidemiologie van CPE in Europa, in België en UZ Leuven?*

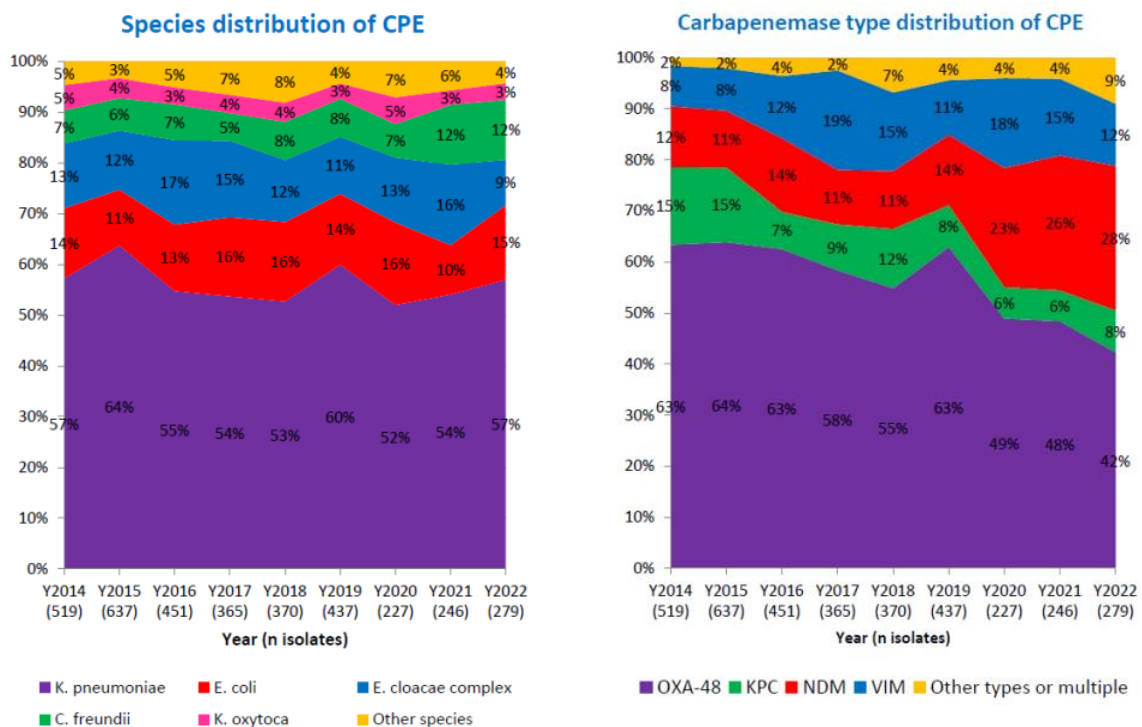
Tekortkomingen in diagnostische capaciteit en variabiliteit in nationale surveillance- en rapportagestandaarden bemoeilijken het opvolgen van de epidemiologie van CPE in Europa. In de European Survey on CPE (EuSCAPE) werden Europese ziekenhuizen gevraagd om de eerste tien carbapenem niet-gevoelige isolaten van *K. pneumoniae* of *E. coli*, evenals evenveel carbapenem-gevoelige isolaten van hetzelfde species uit klinische stalen, te verzamelen (5). Tussen 1 november 2013 en 30 april 2014 leverden 455 ziekenhuizen uit 36 landen 2703 klinische isolaten (2301 (85%) *K. pneumoniae* en 402 (15%) *E. coli*). 850 (37%) van de 2301 *K. pneumoniae* en 77 (19%) van de 402 *E. coli* produceerden een carbapenemase (KPC, NDM, OXA-48-like of VIM). De prevalentie varieerde sterk, met de hoogste percentages in Mediterrane en Balkanlanden zoals Griekenland, Spanje, Italië, Montenegro en Servië. Bij *K. pneumoniae* waren de meest gedetecteerde carbapenemasen KPC-enzymen, bij *E. coli* waren dit OXA-48-like enzymen. Hoge aantallen KPC-positieve *K. pneumoniae* werden aangetroffen in Italië, Griekenland en Portugal. OXA-48-like enzymen waren prominent aanwezig in Turkije (117/146 [80%]), gevolgd door Roemenië. OXA-48-like was ook frequent in Spanje (81/116 [70%]), België (18/48 [38%]), Frankrijk (10/27 [37%]) en Duitsland (12/36 [33%]). NDM was het meest voorkomende carbapenemase in Servië (33/67 [49%]) en in Montenegro, waar alle tien ingediende carbapenem-niet-gevoelige *K. pneumoniae* isolaten NDM-positief waren. VIM-carbapenemasen, die alleen in *K. pneumoniae* werden gevonden, waren het minst frequent, maar vertegenwoordigden de meeste carbapenemase-producerende isolaten in Hongarije (26/36 [72%]) en Kroatië (5/48 [10%]). Voor *K. pneumoniae* varieerde het percentage isolaten dat resistent was tegen alle laatstelijnsantibiotica (colistine, tigecycline en fosfomycine) tussen 0% en 29% (gemiddeld 9%). Colistineresistentie werd gerapporteerd in 28% van de *K. pneumoniae*-isolaten, fosfomycineresistentie in 54%, en tigecyclineresistentie in slechts 5%. Landen met een hoge incidentie van CPE rapporteerden meer resistentie tegen deze laatstelijnsantibiotica, wat mogelijk wijst op een hoger antibioticaverbruik en selectiedruk. Bovendien hadden 29% van de *K. pneumoniae*-isolaten en 60% van de *E. coli*-isolaten geen van de vier belangrijkste carbapenemasen (KPC, NDM, OXA-48-like en VIM). Dit kan het gevolg zijn van alternatieve resistentiemechanismen zoals verminderde permeabiliteit of een carbapenemase die niet in het testpanel was opgenomen. Bijlage 1 toont de kaart met het voorkomen van CPE per type in 38 Europese landen op basis van deze survey in maart 2013.

Voorzichtigheid is aangewezen voor verspreiding van nieuwe carbapenemasen die mogelijks niet met de huidige testmethoden worden opgepikt. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) waarschuwt bijvoorbeeld voor een toename in OXA-244 producerende *E. coli* in de EU en het VK. De moeilijkheid van laboratoriumdetectie wordt veroorzaakt door de zwakkere hydrolytische activiteit van OXA-244 voor carbapenems en temocilline in vergelijking met OXA-48. Ondanks dat OXA-244-producers een positief resultaat geven voor OXA-48-like carbapenemase met behulp van immunochromatografische testen (Coris Bioconcept OXA-48 en RESIST-5; NG Biotech CARBA-5 test) of moleculaire assays (bijv. Xpert™ Carba-R v2) als confirmatie testen, is gerapporteerd dat OXA-244-producers mogelijk niet groeien op screeningsmedia die hoge concentraties van temocilline bevatten, zoals ChromID™ CARBA SMART (BioMérieux). Zonder aanpassing van microbiologische methoden en surveillance, kan *E. coli* die OXA-244 produceert daarom onopgemerkt blijven verspreiden (6). Een recente studie over een uitbraak van OXA-244 *E. coli* in een ziekenhuis in Noorwegen toont 12 isolaten met meropenem MIC-waarden die variëren tussen $\leq 0,25$ -1 mg/L met Vitek en temocilline MIC-waarden tussen 32-128 mg/L. Geen enkel isolaat toonde high-level temocilline resistentie (MIC >128 mg/L) (7). Een andere studie toont bovendien 5/15 onderzochte OXA-244 *E. coli* met een temocilline MIC < 32 mg/L met E-test (8). Deze verminderde resistentie tegen temocilline beïnvloedt algoritmes die gebruik maken van (high-level) temocilline resistentie voor bevestiging van OXA-48-like productie.

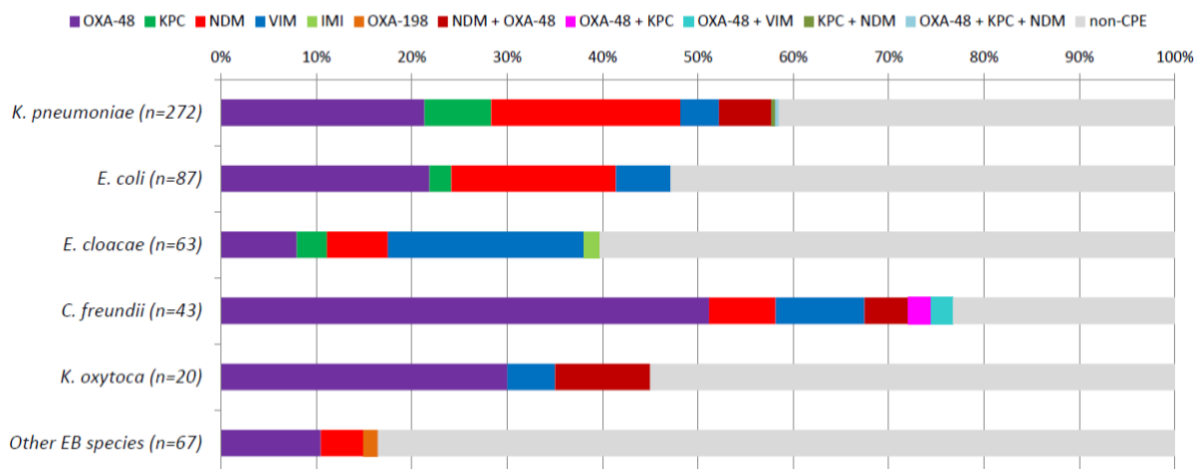
Een ander voorbeeld is OXA-427, een nieuwe klasse D carbapenemase dat resistentie genereert tegen penicillines, ceftazidime en aztreonam en in sommige gevallen ook tegen carbapenems (9,10). OXA-427, dat niet detecteerbaar is met klassieke fenotypische en moleculaire testen, werd frequent gedetecteerd in klinische

isolaten en isolaten uit screeningsstalen in UZ Leuven gedurende een periode van twee jaar. De gedetecteerde OXA-427 isolaten hadden een Vitek MIC meropenem die varieerde van 1 tot ≥ 16 mg/L. De Vitek MIC temocilline was steeds ≥ 32 mg/L behalve bij één stam waar de MIC 16 mg/L was. Na karakterisatie en identificatie van dit carbapenemase gen werd een OXA-427 specifieke PCR ontwikkeld en gebruikt in UZ Leuven.

Wat betreft de epidemiologie in België is er de data beschikbaar van het nationale referentiecentrum (NRC) voor multi-resistente gram-negatieve bacillen (CHU UCL Namen). De meest recente data zijn van 2022: OXA-48 blijft het meest gedetecteerde carbapenemase in België, maar neemt relatief toch af over de jaren met een duidelijke toename van NDM. In deze data is verder zichtbaar dat VIM het frequentst gedetecteerde carbapenemase is bij *Enterobacter cloacae complex* en dat KPC en OXA-48 + NDM het vaakst voorkomt bij *K. pneumoniae*, maar wel degelijk al bij andere *Enterobacterales* kan voorkomen.

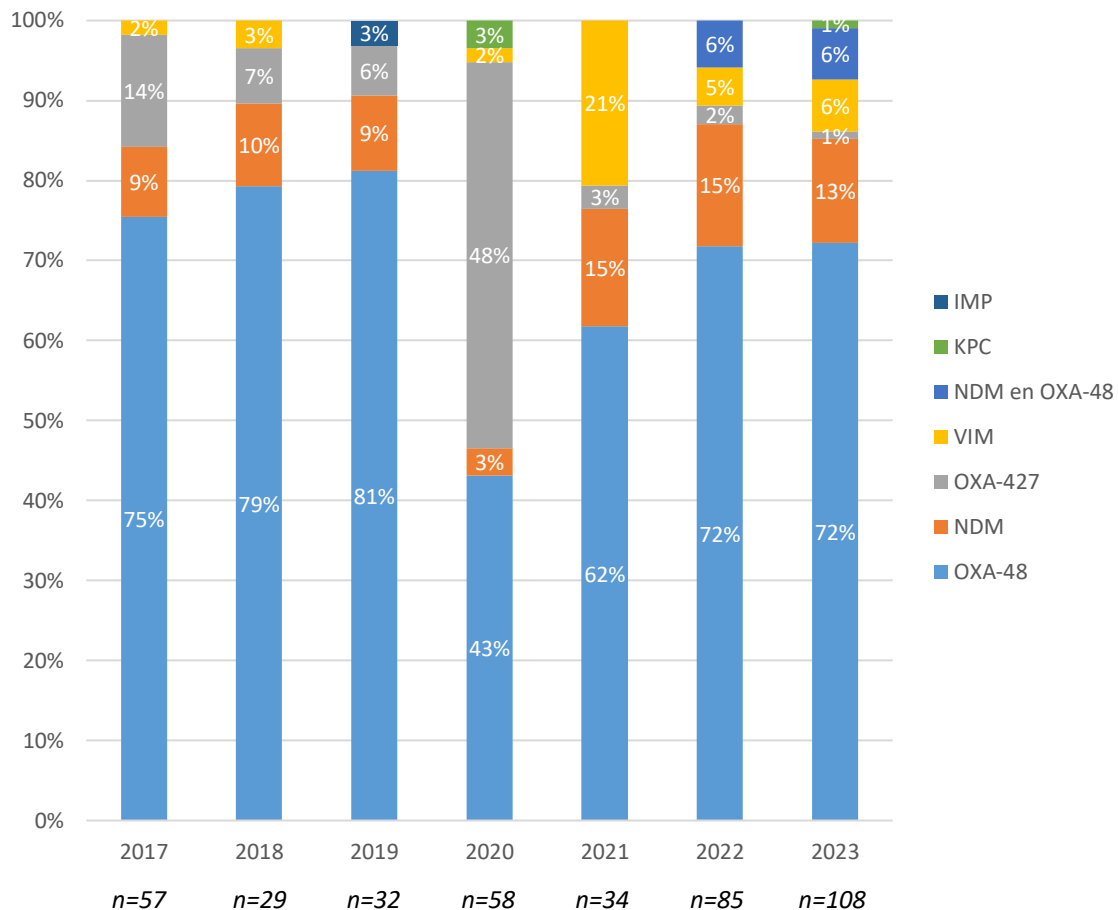


Species and carbapenemase types distribution of *Enterobacterales* at the NRC, Belgium 2022 (n=552)



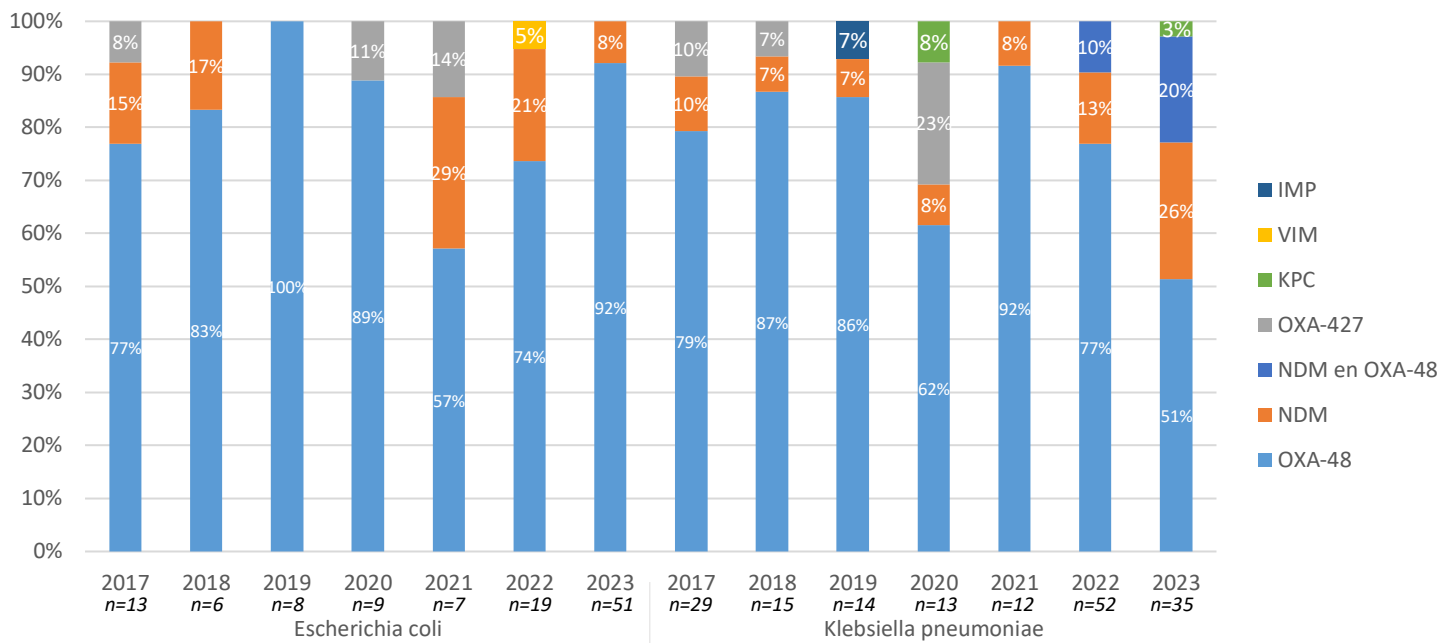
Figuur 1: Species distributie en carbapenemase type distributie van CPE in België (data van het NRC voor multi-resistente gram-negatieve bacillen, CHU UCL Namen).

Voor de evolutie van de epidemiologie van CPE in UZ Leuven wordt vertrouwd op retrospectieve gegevens uit de periode 2017-2023. Het aantal (unieke) CPE kiemen dat per jaar wordt gedetecteerd lijkt toe te nemen van 57 in 2017 naar 108 in 2023. In de onderstaande grafiek wordt dit visueel weergegeven per jaar. Elk jaar is OXA-48 het type dat het meest werd gedetecteerd, met in 2023 een vertegenwoordiging van >70%. Enkel in het jaar 2020 nam OXA-427 de bovenhand. Wat opvalt is dat CPE die een NDM carbapenemase produceren relatief toenemen in de laatste jaren, samen met de combinatie van OXA-48 + NDM. In de periode 2017-2020 waren er gemiddeld drie NDM CPE per jaar. In de periode 2021-2023 is dit gemiddeld al 15 per jaar. Het aantal VIM CPE lijkt ook toe te nemen.



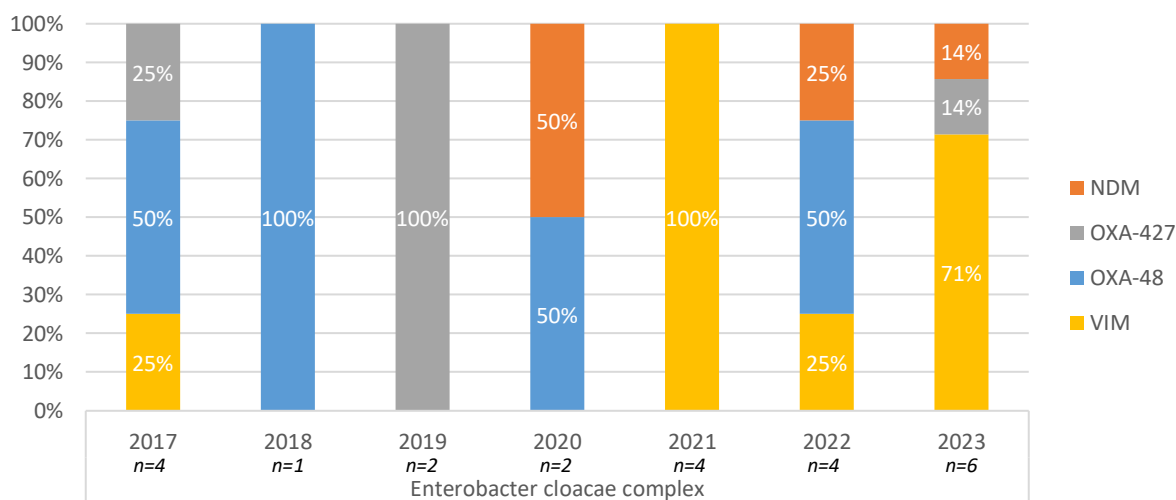
Figuur 2: Overzicht aantal en relatieve percentage CPE in UZ Leuven in de periode 2017-2023.

De belangrijkste CPE-kiemen zijn *K. pneumoniae* en *E. coli* verantwoordelijk voor respectievelijk 42% en 28% van de CPE isolaten in UZ Leuven. In de onderstaande grafiek wordt de carbapenemase type distributie voor deze species weergegeven voor de periode 2017-2023 in UZ Leuven.



Figuur 3: Overzicht gedetecteerde carbapenemase bij *E. coli* en *K. pneumoniae* in de periode 2017-2023.

Voor zowel *E. coli* als *K. pneumoniae* is het meest gedetecteerde carbapenemase OXA-48, gevolgd door NDM. NDM komt het meest frequent voor bij *K. pneumoniae*, en de combinatie van een OXA-48 en NDM carbapenemase is tot nu toe in UZ Leuven enkel gedetecteerd bij *K. pneumoniae*. Bij *Enterobacter cloacae complex* is de verdeling anders met hoofdzakelijk de detectie van een VIM carbapenemase, wat ook reeds te zien was in de data van het NRC.



Figuur 4: Overzicht gedetecteerde carbapenemase bij *E. cloacae complex* in de periode 2017-2023.

2) Welke fenotypische confirmatietesten voor CPE zijn beschikbaar in België en zijn relevant in de context van de huidige epidemiologie?

De identificatie van CPE-isolaten uit klinische en screeningsstalen verloopt meestal in twee stappen: eerst de verdenking op basis van de antibiotica gevoeligheidsbepaling van het isolaat, gevolgd door de confirmatie van de carbapenemaseproductie, al dan niet met identificatie van het enzym/gen. De grootste uitdaging is het onderscheiden van CPE-kiemen van isolaten die andere (niet-carbapenemase) bèta-lactamasen tot expressie brengen die door niet-enzymatische resistentiemechanismen (zoals verminderde membraanpermeabiliteit) minder gevoelig zijn aan carbapenems. Zowel fenotypische als moleculaire technieken zijn beschikbaar voor de detectie van carbapenemase-producerende stammen uit gekweekte isolaten. In wat volgt zullen hoofdzakelijk de fenotypische testen besproken worden.

De keuze van een carbapenemase-detectietest is afhankelijk van verschillende factoren, waaronder de lokale epidemiologie, diagnostische performantie, arbeidsintensiteit, kosten en turn-around time (TAT) van de test. De TAT is belangrijk zowel voor therapeutische beslissingen als voor infectiecontrole, waarbij resultaten op de dag zelf gewenst zijn. Andere overwegingen zijn de te testen organismen (d.w.z. *Enterobacterales* en/of glucose-nonfermenterende gram-negatieven), gebruiksgemak, workflow, benodigdheden en vereisten voor reagentia, reglementaire status. Geen enkele van de momenteel beschikbare testen voldoet aan al deze criteria. Er zijn verschillende opties beschikbaar, waardoor laboratoria een methode kunnen kiezen die het beste bij hun behoeften past (4).

A) Groei-gebaseerde methoden

Deze testen meten carbapenemresistentie op basis van de groei van het organisme in aanwezigheid van een carbapenem-antibioticum.

a) Gemodificeerde Hodge-test (MHT)

- Voorbereiding: Müller-Hinton (MH) agarplaat wordt geënt met een suspensie van een carbapenem-gevoelige referentiestam (meestal *E. coli*).
- Procedure: Een carbapenem-disk wordt in het midden van de agarplaat geplaatst. De teststam waarvan vermoed wordt dat deze een carbapenemase produceert, wordt in een rechte lijn vanaf de rand van de disk naar de rand van de plaat gestreept. De plaat wordt vervolgens 16-24 uur bij 35-37°C geïncubeerd.
- Resultaat: Bij carbapenemaseproductie groeit de referentiestam dichter bij de disk (klaverbladpatroon).

b) Gemodificeerde carbapenem-inactivatiemethode (mCIM)

- Procedure: Meropenem-disk van 10 µg 2 uur incuberen in water met een 10-µl entlus van de te testen stam. De meropenem disk wordt vervolgens geplaatst op een MH agarplaat, die geënt is met een gevoelige *E. coli* stam, en overnacht geïncubeerd.
- Resultaat: De afwezigheid van een inhibitiezone duidt op carbapenemaseproductie.

De CIM test kan beperkingen hebben bij de detectie van carbapenemasen met verminderde hydrolytische activiteit (bijvoorbeeld OXA-type carbapenemasen), MBL-enzymen die twee-waardige kationen nodig hebben, of in situaties met lagere niveaus van carbapenemase-expressie. Daarom heeft de CLSI-werkgroep de mCIM (modified CIM) geïntroduceerd. Deze methode omvat het aanpassen van de test door de bacteriële suspensie in tryptisch soja bouillon (TSB) voor te bereiden en de incubatietijd te verlengen tot 4 uur.

Omdat de mCIM geen onderscheid kan maken tussen serine- en metallo-β-lactamasen, werd een verdere aanpassing voorgesteld met de EDTA-mCIM (of eCIM). Deze methode voegt EDTA toe om MBL-carbapenemasen te onderscheiden. Een toename van ≥5 mm in de zone diameter voor eCIM in vergelijking met mCIM suggereert de waarschijnlijkheid van een MBL-producerende stam. Merk op dat als zowel serine- als metallo-carbapenemasen worden geproduceerd door één enkel isolaat, vals-negatieve resultaten kunnen optreden.

Een groot nadeel van de mCIM, net als bij de MHT, is dat het een overnachting incubatie vereist, waardoor resultaten niet binnen één werkdag beschikbaar zijn.

B) Hydrolyse-gebaseerde methoden

Deze testen detecteren carbapenem-hydrolyseproducten gekatalyseerd door carbapenemasen.

a) CarbaNP test en varianten

- Detectie: In-vitro hydrolyse van imipenem in een bacteriële suspensie met een kleuromslag omwille van een pH-daling bij vorming van het afbraakproduct bij aanwezigheid van een carbapenemase.

De manuele versie van de CarbaNP test zoals beschreven door CLSI en de manuele varianten hierop vereisen frequente reagens preparatie omwille van de beperkte houdbaarheid van de imipenem-oplossing. Commerciële testen zijn beschikbaar die hetzelfde principe gebruiken dan de manuele CarbaNP test en die de testprocedure vereenvoudigen door alle benodigde reagentia voor de test op te nemen zonder dat er reagentia voorbereid hoeven te worden. De CarbaNP test heeft als voordelen dat het snel carbapenemaseproductie detecteert, inclusief nieuwe ongekende carbapenemasen die bij tijd kunnen opduiken. Echter, aanvullende technieken zijn nodig voor de precieze identificatie van het type carbapenemase. Bovendien is de test minder gevoelig voor OXA-48 varianten en is de interpretatie subjectief. In de tabel in bijlage 2 worden de karakteristieken van de beschikbare commerciële testen in België met resultaten van enkele studies die de performantie onderzochten beschreven. Voor de Rapidec CarbaNP test van BioMérieux is er veel literatuur beschikbaar die goede resultaten toont.

b) Matrix-geassisteerde laserdesorptie-ionisatie time-of-flight massaspectrometrie (MALDI-TOF MS)

MALDI-TOF MS wordt nog niet frequent toegepast in de routine voor het detecteren van carbapenemasen. Er zijn twee mogelijke toepassingen van MALDI-TOF MS voor de identificatie van carbapenemaseproductie: De eerste ("hydrolyse-gebaseerd") detecteert carbapenem-afbraakproducten wanneer bacteriële eiwitextracten worden geïncubeerd met een carbapenem-substraat. De tweede benadering ("plasmide-geassocieerde piekbenadering") omvat de detectie van een gekende plasmide-geassocieerde eiwitpiek die een carbapenemase draagt. MALDI-TOF MS heeft dezelfde voordelen als de CarbaNP test en ook hier zijn aanvullende technieken nodig voor de precieze identificatie van het type carbapenemase.

C) Inhibitor-gebaseerde methoden

Deze testen differentiëren carbapenemasen met klasse-specifieke remmers zoals dipicolinezuur (MBL-inhibitor), fenylboorzuur (KPC-inhibitor) en cloxacilline. Synergie met boorzuur en cloxacilline duidt op de aanwezigheid van een AmpC bèta-lactamase. OXA-48-like carbapenemasen zijn moeilijk te identificeren met behulp van inhibitor-gebaseerde methoden, omdat er geen specifieke remmer beschikbaar is voor klasse D carbapenemasen. Een ander nadeel van deze test is dat het een overnacht incubatie vereist.

In UZ Leuven wordt al een aantal jaar gebruik gemaakt van de KPC/MBL confirmatie kit van Rosco Diagnostics. Literatuur hierover toont een sensitiviteit van 86-98,8% en specificiteit van 93,1-98% (2). Eigen data van de laatste zeven jaar toont een sensitiviteit van 87,6% (78/89) en een specificiteit van 92% (567/616). Deze test is nuttig in de detectie van KPC en MBL carbapenemasen en zorgt bovendien voor een controle van de meropenem gevoeligheid aan de hand van de meropenem disk in de kit.

D) Laterale flow-immunoassays (LFAs)

Deze testen gebruiken specifieke antilichamen voor de identificatie van carbapenemasen, inclusief verschillende types zoals NDM, IMP, OXA-48-like, KPC en VIM. Ze identificeren het specifieke carbapenemase type, ook indien er meerdere types tegelijk aanwezig zijn. Coris Bioconcept (Gembloux, België) heeft verschillende LFA's op de markt waaronder een LFA specifiek voor OXA-48-like detectie en ook de RESIST-5 test die OXA-48-like, NDM, KPC, VIM en IMP opspoor. NG Biotech (Guipry, Frankrijk) heeft de CARBA-5 test die dezelfde types als de RESIST-5 detecteert. Een vergelijking van de karakteristieken, performantie en kostprijs van de RESIST-5 en CARBA-5 zijn samengevat in bijlage 3. Deze testen hebben een zeer goede performantie voor de vijf belangrijkste CPE types,

bieden al na 15 minuten resultaat en hebben een vergelijkbare kostprijs (€20-25 per test). Een voordeel van de RESIST-5 test is dat deze ook gevalideerd is voor *Acinetobacter species* in tegenstelling tot de CARBA-5 test.

Tabel 2 geeft een overzicht van de belangrijkste beschikbare testen voor confirmatie van CPE. Deze tabel is grotendeels overgenomen mits kleine aanpassingen en vertaling uit het advies van de Hoge Gezondheidsraad "Guidelines for laboratory detection of MDRO from clinical samples and screening specimens". Dit advies is op dit moment (8/2024) nog niet gepubliceerd, maar zal binnenkort verschijnen (11).

Besluit:

Gezien de huidige epidemiologische situatie in België, waarbij OXA-48-like het meest voorkomende carbapenemase type is, bieden LFAs aanzienlijke voordelen. De traditionele groei-gebaseerde, hydrolysegebaseerde en inhibitor-gebaseerde methoden hebben beperkingen bij het detecteren van carbapenemasen met verminderde hydrolytische activiteit, zoals OXA-type carbapenemasen. LFAs bieden daarentegen zeer snelle resultaten zonder de noodzaak van een overnacht incubatie, zoals bij groei-gebaseerde en inhibitor-gebaseerde methoden. Daarenboven zijn ze relatief goedkoop ten opzichte van moleculaire testen. Daarom wordt in UZ Leuven voornamelijk gebruik gemaakt van LFAs voor het testen van voor CPE verdachte isolaten. Een nadeel van LFAs is echter dat ze mogelijk niet alle varianten of nieuwe carbapenemasen kunnen detecteren. Dit roept de vraag op of er nood is aan een bredere fenotypische screeningstest voor CPE, zoals de CarbaNP test, in UZ Leuven (zie CAT-vraag 3).

Tabel 2: Eigenschappen en performantie van commercieel beschikbare testen voor confirmatie van CPE (11).

Methodie principe	Test	Commerciële producten (niet alomvattend)	Interpretatie	Praktische tijd	Turn-around time	Materialkosten	Sterktes	Beperkingen	Sensitiviteit	Specificiteit
Groeigebaseerd (carbapenemase activiteit)	MHT, mCIM, eCIM	Meropenem 10 µg disks	Disk inhibitie zone	10 min (2 stappen)	18–24u (sommige varianten met kortere TAT)	€	Eenvoudig, goedkoop, geen specifiek materiaal vereist.	Traag, meerdere stappen, lagere gevoeligheid voor OXA-typen	>95% (70% voor MBL met mCIM)	>95%
Hydrolysegebaseerd (carbapenem-afbraakproduct)	Carba NP en afgeleiden	Rapidec Carba NP (bioMérieux), Rapid Carb Screen (Rosco), Rapid Carb Blue (Rosco), Bèta-Carba Test (BioRad)	Kleuromslag	5-30 min	0.5-2u	€€	Eenvoudig, snel.	Subjectieve interpretatie, lagere gevoeligheid voor OXA-typen	85-95%	>95%
	MALDITOF MS	MBT StarCarba (Bruker)	Geautomatiseerd berekende hydrolyse-index	15 min (3 stappen)	1-4u	€€	Snel, objectieve berekening	Uitrusting en software nodig, geen klasse identificatie, lagere gevoeligheid voor OXA-typen	>95%	>95%
Inhibitorgebaseerd (carbapenemase classificatie)	Combinatiedisks/strips diffusion test	Imipenem±EDTA, Meropenem±DPA, Meropenem±PBA; KPC and MBL Confirm Kit (Rosco); Mastdiscs combi Carba Plus (Mast Group)	Disk/ellips inhibitie zone (klasse A/B)	10 min	18–24u	€€	Eenvoudig.	Traag, soms moeilijk te interpreteren, niet voor klasse D	85-95%	85-95%
	Geautomatiseerde AST systemen	BD Phoenix CPO detect (Becton-Dickinson)	Automatische classificatie (klasse A/B/D)	5 min	18–24u	€€	Eenvoudig. Samen met AST.	Traag, uitrusting en software vereist, lage specificiteit.	90-98%	65-85%
Immuunchromatografisch (carbapenemase identificatie)	Lateral flow assays	RESIST (Coris), CARBA-5 (NG Biotech)	Visualisatie van detectielijnen	2 min	15 min	€€-€€€ (target afhankelijk)	Eenvoudig, snel, makkelijke interpretatie	Kan varianten missen	>99%	>99%
Moleculaire amplificatie (carbapenemase identificatie)	LAMP	Eazyplex SuperBug (Amplex); Mast Isoplex CRE-ART (Mast Group)	Genamplificatie	5 min	0.5-1u	€€€-€€€€ (target afhankelijk)	Eenvoudig, snel, aangepast voor klinische stalen.	Uitrusting vereist, kan varianten missen, risico van DNA contaminatie	>99%	>99%
	PCR	Xpert Carba-R (Cepheid); Revogene Carba C (Meridian)	Genamplificatie	10-30 min (procedure afhankelijk)	1-4u	€€€-€€€€ (target afhankelijk)	Eenvoudig, snel, aangepast voor klinische stalen	Uitrusting en software vereist, kan varianten missen.	>99%	>99%

€=1-5€; €€=5-10€; €€€=10-20€; €€€€=20-50€; DPA: dipicolinezuur; PBA: fenyloorzuur

3) Is er nood aan een brede fenotypische CPE screeningstest type CarbaNP in UZ Leuven?

Aangezien er op dit moment enkel wordt gewerkt met confirmatietesten die specifieke carbapenemase opsporen, wordt er geëvalueerd of er een bredere screeningstest dient te worden geïntroduceerd. De voorkeur zou gaan naar een commerciële CarbaNP test. In de literatuur zijn er veel studies terug te vinden over de Rapidec CarbaNP test van BioMérieux met goede resultaten (bijlage 2). Een proefkit werd opgevraagd bij BioMérieux en tien stammen werden getest. Deze test wordt eerst afgelezen na 30 minuten incubatie. Als er dan geen kleuromslag waarneembaar is, wordt de test na een totale incubatie van 2 uur opnieuw beoordeeld. De resultaten hiervan zijn te vinden in tabel 4.

Tabel 3: Overzicht van de resultaten van de geteste stammen met Rapidec CarbaNP (BioMérieux)

ID	Type carbapenemase	MIC meropenem VITEK	MIC bepaling (Sensititre/E-test)	Resultaat na 30'	Resultaat na 2u
SEMA	OXA-427	≥16	>16	negatief	negatief
ENCL	OXA-427	≥16	8	negatief	negatief
ESCO	OXA-48	4	nvt	positief	
KLOX	VIM	4	2	positief	
ENCL	IMI	≥16	nvt	negatief	negatief
KLPN	NDM	≥16	nvt	positief	
KLPN	KPC	≥16	nvt	positief	
KLPN	NDM	≥16	nvt	positief	
KLOX	geen	≤0.25	nvt	niet betrouwbaar	niet betrouwbaar
ESCO	geen	≤0.25	nvt	negatief	negatief

Er werden 1 OXA-48, 2 NDM, 1 KPC, 1 VIM, 1 IMI, 2 OXA-427 en 2 CPE negatieve stammen getest. De IMI en OXA-427 stammen toonden een negatief resultaat ondanks hoge MIC van meropenem (wat doet vermoeden dat het carbapenemase de imipenem in de test efficiënt kan hydrolyseren). Eén carbapenemase negatieve *K. oxytoca* gaf een niet betrouwbaar resultaat gezien deze stam werd getest vanaf een MacConkey agar en dit er voor zorgde dat de negatieve controle ook positief kleurde en de test well ook meteen oranje kleurde. Stammen mogen daarom niet vanaf een MacConkey agar getest worden.

Besluit:

Een negatief CarbaNP resultaat geeft weinig extra informatie. Zowel bij een positief CarbaNP resultaat als bij een negatief resultaat dient de stam nog opgestuurd te worden naar het NRC voor enerzijds definitieve uitsluiting van carbapenemaseproductie en anderzijds bevestiging en typering.

4) Waar kan de huidige uitwerking van isolaten van Enterobacterales verdacht voor carbapenemaseproductie geoptimaliseerd worden in UZ Leuven?

Op basis van de gevoeligheidsbepaling aan de hand van Vitek wordt er voor isolaten uit zowel screenings- als klinische stalen ingeschat of het mogelijk gaat om een CPE-kiem. De definitie van een voor CPE verdachte kiem op basis van het Vitek resultaat is als volgt:

MIC VITEK meropenem ≥ 0.5 mg/L en/of MIC VITEK temocilline ≥ 32 mg/L

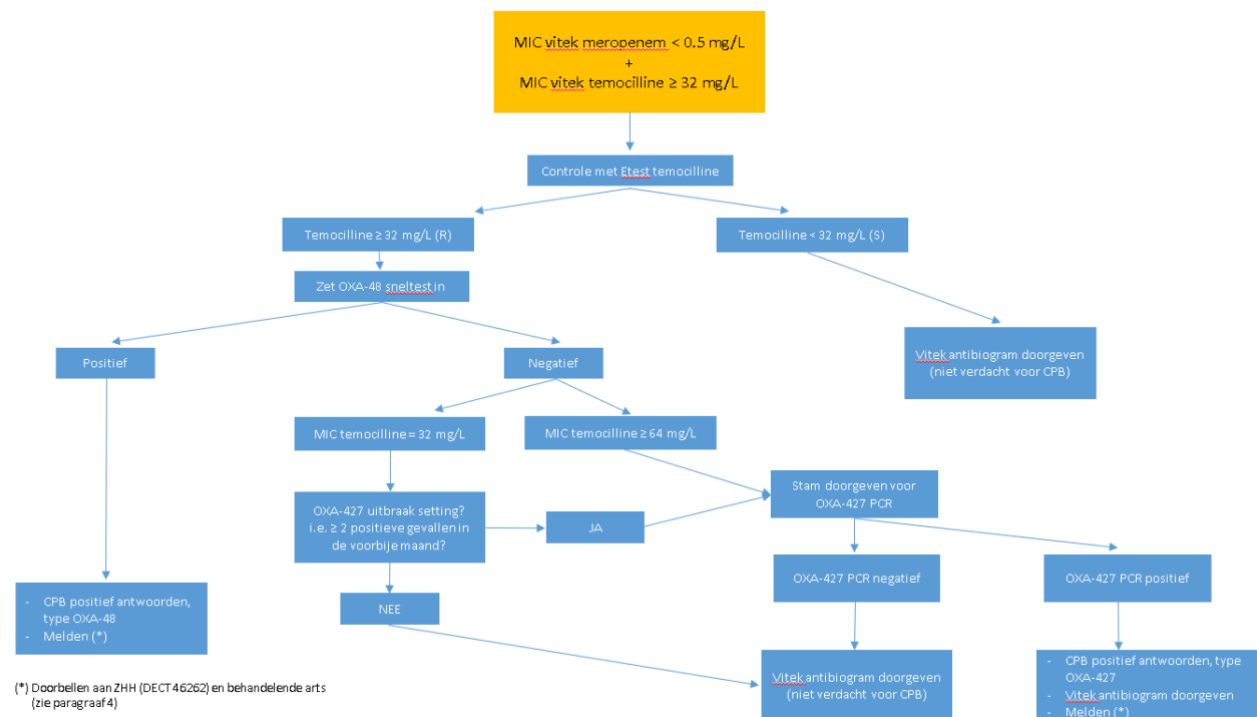
Deze MIC-waarden zijn afgeleid van de EUCAST screeningscut-offs voor CPE (tabel 4) en aangepast naar het meetbereik van de Vitek. De laagst mogelijke dilutie die de Vitek kan meten voor meropenem is ≤ 0.25 mg/L. Daarenboven is meropenem het enige carbapenem antibioticum op de Vitek AST-N-353 kaart.

Tabel 4: Klinische breekpunten en screeningscut-offs voor CPE volgens EUCAST (12).

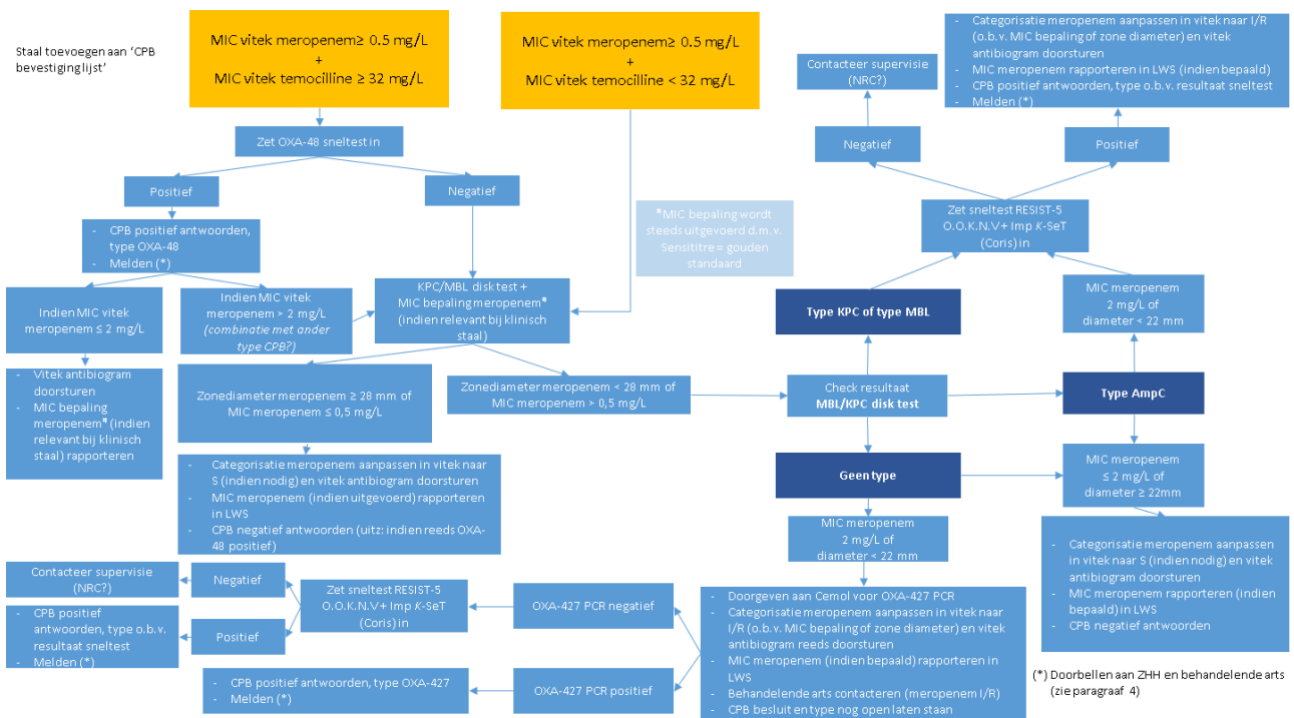
Carbapenem	MIC (mg/L)		Disk diffusie zone diameter (mm) met 10 μ g disks	
	S/I breekpunt	Screeningscut-off	S/I breekpunt	Screeningscut-off
Meropenem	≤ 2	>0.125	≥ 22	<28

Indien verdacht voor CPE is er een Vitek melding (“Opgelet! Verdacht voor CPE. Bekijk de historiek van zes maanden. Indien eerste isolaat: test op CPE, zie SOP-109.”) die in de huidige flowchart tot drie mogelijke opties leidt weergegeven in de gele kadertjes in de flowcharts hieronder. Er wordt steeds nagekeken of de patiënt reeds gekend is met deze CPE-kiem door de historiek van zes maanden te raadplegen. Indien de patiënt gekend is met een CPE-kiem van hetzelfde species met gelijkaardig antibiogram wordt er niet opnieuw de flowchart doorlopen, maar wordt de kiem als CPE positief beschouwd.

Flowchart 1:



Flowchart 2:



Een aantal zaken van de huidige flowchart worden in vraag gesteld of deze nog zinvol en/of relevant zijn. Om deze vragen te beantwoorden werd er gekeken naar retrospectieve data in het LIS:

Flowchart 1: stammen met Vitek MIC meropenem $<$ 0.5 mg/L

- a) Hoe vaak leidt de controle E-test temocilline in flowchart 1 tot een temocilline interpretatie wijziging (R naar I)?

Er werd een query uitgevoerd van alle isolaten waarbij een MIC Vitek van temocilline was gerapporteerd samen met een MIC-bepaling van temocilline via een E-test in de periode 1-1-2021 tot 1-2-2024. In totaal zijn 346 isolaten getest met een E-test temocilline die een MIC Vitek voor temocilline \geq 32 mg/L (R) hadden. Dit leidde in 67.6% (234/346) tot een interpretatie wijziging naar I en in 34% (118/346) was het resultaat van de E-test twee diluties lager (MIC E-test \leq 8 mg/L). Het lijkt erop dat de Vitek een overschatting geeft voor de MIC van temocilline in vergelijking met E-test. Dit is in tegenstelling met wat een eerdere studie vaststelde (13). De E-test temocilline zal behouden worden in flowchart 1 om zo de uitwerking voor het aantal voor CPE verdachte kiemen te reduceren.

Flowchart 2: stammen met Vitek MIC meropenem \geq 0.5 mg/L

- b) Hoe kan vermeden worden dat bij éénzelfde stam zowel de OXA-48 als de RESIST-5 sneltest worden uitgevoerd?

Aangezien OXA-48 carbapenemase ook wordt gedetecteerd in de RESIST-5 test, is het raadzaam om te vermijden dat eerst een aparte OXA-48 sneltest wordt uitgevoerd, gevolgd door de RESIST-5 test (na een positief resultaat voor KPC/MBL na nachtelijke incubatie). Dit leidt tot tijdverlies en extra kosten. Bij voorkeur wordt er meteen een RESIST-5 test ingezet bij kiemen die verdacht zijn voor carbapenemasen andere dan OXA-48. Ceftazidime-avibactam remt efficiënt carbapenemasen van klasse A en D (KPC en OXA-48-like). Ceftazidime-avibactam resistentie wijst op de (mogelijke) aanwezigheid van een MBL-type carbapenemase. Daarom kan ceftazidime-avibactam resistentie een criterium zijn om meteen een RESIST-5 sneltest uit te voeren voor dat isolaat. In afwachting van de opname van ceftazidime-avibactam in de nieuwe Vitek kaart die in UZ Leuven gebruikt zal worden, wordt gezocht naar een andere surrogaatmarker voor carbapenemaseproductie van het type MBL (of

KPC). In tegenstelling tot OXA-48, veroorzaken deze carbapenemases typisch een hogere MIC van meropenem. In de periode 2017 tot mei 2024 waren er 52 voor CPE verdachte kiemen met een Vitek meropenem MIC van 8 mg/L. 7/52 (13%) waren CPE positief met een MBL type. 5/52 (10%) waren enkel OXA-48 positief. In diezelfde periode waren er 231 voor CPE verdachte kiemen met een Vitek meropenem MIC ≥ 16 mg/L. 96/231 (42%) waren CPE positief met KPC of MBL type. 62/231 (27%) waren enkel OXA-48 positief. Een Vitek meropenem MIC ≥ 16 mg/L lijkt daarom het meest voorspellend voor een carbapenemase type KPC of MBL. Het is daarom zinvol om meteen een RESIST-5 test uit te voeren voor deze isolaten, zeker ook rekening houdend met het toenemend voorkomen van NDM CPE. Er worden wel een aantal voorwaarden aan verbonden, namelijk: dat de kiem werd genomen van een zuivere plaat bij het inzetten van het Vitek antibiogram en dat er geen kiemen die intrinsiek resistent zijn aan meropenem aanwezig zijn in het staal. Bovendien moet ook steeds de historiek van de patiënt worden gecontroleerd.

- c) In hoeveel gevallen wordt er een combinatie met een ander carbapenemase gevonden aan de hand van de KPC/MBL disk test bij een stam die reeds OXA-48 positief is met Vitek MIC meropenem >2 mg/L?

In de periode 2017 tot mei 2024 waren er 169 isolaten die met een OXA-48 sneltest positief waren en die een Vitek meropenem MIC van >2 mg/L hadden. Bij 90 isolaten werd een KPC/MBL disk test uitgevoerd. Deze was in 72/90 negatief, 10/90 positief voor MBL type en 8/90 positief voor KPC type. De KPC types waren in de RESIST-5 test enkel positief voor OXA-48. De MBL types toonden in 5/10 een NDM type met RESIST-5 (in combinatie met OXA-48). Van degene die met de KPC/MBL disk test negatief waren, waren er toch 4 isolaten die positief waren voor NDM met de RESIST-5 test. Alle isolaten met OXA-48 + NDM hadden steeds een Vitek MIC meropenem van ≥ 16 mg/L (voor een aantal stammen ook bevestigd met een meropenem MIC bepaling aan de hand van E-test of micro-dilutie). Deze isolaten zouden met de hierboven besproken surrogaatmerker sneller gevonden worden. Het lijkt dus niet meer zinvol om bij een isolaat dat OXA-48 positief is met een Vitek MIC meropenem van 4-8 mg/L nog op zoek te gaan naar een combinatie met een ander carbapenemase.

- d) Hoeveel van de reeds geïdentificeerde CPE zijn gevoelig aan temocilline?

CPE-stammen zijn in de overgrote meerderheid resistent tegen temocilline. Uit de retrospectieve dataset van 2017 tot mei 2024 van alle positieve CPE-stammen blijkt dat slechts 19 van de 627 (3%) een temocilline MIC van <32 mg/L hadden volgens Vitek. Van deze 19 stammen hadden 14 een Vitek meropenem MIC van ≥ 16 mg/L (allen van het type MBL, KPC of OXA-427), 3 een MIC van 8 mg/L (allen NDM type van dezelfde patiënt), 1 een MIC van 4 mg/L (OXA-48), en 1 een MIC van 1 mg/L (OXA-427), wat hen verdacht maakte voor CPE. Het blijft dus belangrijk om bij een temocilline MIC <32 mg/L en een verhoogde MIC meropenem te testen op CPE. Er zijn echter ook veel stammen die om deze reden in het verleden zijn getest en CPE negatief bleken te zijn, namelijk 181 stammen (Vitek MIC temocilline <32 mg/L en Vitek MIC meropenem ≥ 0.5 mg/L). Hiervan was de Vitek MIC meropenem 54 keer 0,5 mg/L, 54 keer 1 mg/L, 22 keer 2 mg/L, 36 keer 4 mg/L, 10 keer 8 mg/L en 5 keer 16 mg/L. Als we een cut-off waarde van bijvoorbeeld >2 mg/L instellen voor de Vitek MIC meropenem en alleen vanaf die waarde testen op CPE (bij een Vitek MIC temocilline <32 mg/L), zou er in de periode van 2017 tot mei 2024 slechts één OXA-427 gemist zijn. Tegelijkertijd zouden 130 KPC/MBL-testen en onnodige verdere analyses bij CPE-negatieve isolaten vermeden kunnen worden. Bovendien zou deze OXA-427 sowieso ook niet zijn opgespoord met de huidige flowchart, omdat de KPC/MBL-test negatief was en meropenem als gevoelig (S) werd gerapporteerd, wat betekent dat de zone-diameter van meropenem ≥ 22 mm was. In de huidige flowchart zouden we in dit geval geen PCR voor OXA-427 uitvoeren. Daarom lijkt het verantwoord om deze cut-off voor meropenem in te voeren en te starten met de KPC/MBL-test, waardoor de meropenemgevoeligheid al wordt gecontroleerd. Dit gaat echter in tegen de aanbeveling van EUCAST om een meropenem screeningscut-off zonediameter van < 28 mm te gebruiken voor CPE. Vandaar zal er voorlopig nog gewacht worden met de wijziging van de meropenem disk cut-off naar <22 mm) in deze situatie. Er zal een herevaluatie gebeuren na 1 jaar.

Een carbapenemase dat mogelijks met de huidige en de nieuwe flowchart kan gemist worden is OXA-244, dat lagere MIC-waarden voor temocilline (range: 12-96 mg/L) heeft dan OXA-48 en ook lage MIC-waarden voor meropenem (0.094-2 mg/L) vertoont (8). OXA-244-producers met MIC temocilline <32 mg/L zouden gemist

worden omdat er dan niet getest wordt op OXA-48-like carbapenemase met een sneltest. Aangezien OXA-244 nog laag prevalent is in België en we mogelijks het grootste deel van de OXA-244, met MIC temocilline ≥ 32 mg/L wel zouden detecteren, zou het niet kosteneffectief zijn om ook bij de stammen met een MIC temocilline < 32 mg/L een OXA-48 sneltest uit te voeren. Het is op dit moment ook niet duidelijk of de detectie van OXA-244 een belangrijke impact heeft op de therapie, omwille van de lage hydrolyserende activiteit op meropenem. Het is voornamelijk vanuit infectiecontrole overwegingen dat de detectie van OXA-244 belangrijk is. Er moet dus een verhoogde waakzaamheid zijn wanneer er bijvoorbeeld *Enterobacterales* met éénzelfde gevoeligheids patroon (typisch resistent aan 3^{de} generatie cefalosporines) gedetecteerd worden en er een vermoeden is van nosocomiale transmissie. In deze gevallen kan het interessant zijn om een MIC bepaling van meropenem uit te voeren en/of een OXA-48 sneltest uit te voeren. Het beperkte meetbereik van Vitek2 voor meropenem is een beperking in het toepassen van de EUCAST screeningscut-off, en daarenboven zijn in de Vitek2 kaarten die in UZ Leuven worden gebruikt geen andere carbapenem antibiotica (bijvoorbeeld ertapenem) opgenomen.

e) Hoeveel van de reeds geïdentificeerde CPE (excl. OXA-48) zijn gevoelig aan piperacilline-tazobactam?

In de periode van 2017 tot mei 2024 was geen enkele CPE-positieve kiem (exclusief OXA-48) gevoelig voor piperacilline-tazobactam, op één uitzondering na: een kiem behorend tot het *Enterobacter cloacae complex* die gevoelig was aan zowel piperacilline-tazobactam als temocilline, maar een Vitek MIC meropenem van ≥ 16 mg/L had. Deze stam werd naar het NRC gestuurd. Het NRC rapporteerde deze kiem als CPE-positief type IMI (klasse A carbapenemase). Het is bekend dat OXA-48-positieve kiemen nog gevoelig kunnen gemeten zijn voor piperacilline-tazobactam. In totaal was er één OXA-48-positief isolaat in de UZ Leuven data die gevoelig was voor piperacilline-tazobactam.

Er zal een extra stap worden ingevoerd in zowel flowchart 1 als 2: wanneer bij een kiem met een Vitek MIC meropenem tot en met 8 mg/L en een Vitek MIC temocilline ≥ 32 mg/L (zo nodig bevestigd met een E-test) de OXA-48 sneltest negatief is en de kiem gevoelig is voor piperacilline-tazobactam, wordt de kiem als CPE-negatief beschouwd. Op deze manier zullen, gerekend over de periode 2017-mei 2024, 72 KPC/MBL-testen worden uitgespaard.

f) In hoeveel gevallen wordt er toch nog een carbapenemase opgespoord wanneer de KPC/MBL disk test 'geen type' toonde en de meropenem zonediameter daarbij < 22 mm was?

In de periode 2017 tot mei 2024 werden 710 stammen getest met de KPC/MBL disk test. 539 kiemen vertoonden 'geen type'. In 57 gevallen was de zonediameter voor de meropenem disk < 22 mm, bij 44 werd er geen diameter gerapporteerd (totaal 101 isolaten). Bij 47/101 is de RESIST-5 test uitgevoerd. Deze toonde 3x NDM, 1xVIM, 1x IMP, 3x NDM+OXA-48. 32 kiemen waren OXA-427 positief. Een aantal negatieve kiemen zijn naar het NRC gestuurd en werden ook door het NRC als negatief geantwoord. Het lijkt dus zinvol om bij negatieve KPC/MBL disk test maar sterk vermoeden van een metallo- β -lactamase (o.b.v. hogere MIC meropenem), toch een RESIST-5 test uit te voeren (naast een OXA-427 PCR).

g) Is het nog nodig om stammen te analyseren met OXA-427 PCR?

OXA-427 kwam voornamelijk voor in 2017 en 2020, met respectievelijk 8 en 28 positieve patiënten. In 2021 werd er één nieuw geval gedetecteerd, in 2022 twee gevallen en in 2023 één geval. Recent, in mei 2024, werd opnieuw een OXA-427 positieve *Providencia stuartii* gedetecteerd in hemoculturen van een patiënt op intensieve zorgen. Daarom blijft verhoogde waakzaamheid noodzakelijk, en blijft de OXA-427 PCR opgenomen in de flowchart.

h) Bij ongeveer hoeveel stammen wordt er verwacht op basis van eerdere data dat een CarbaNP test zou worden uitgevoerd?

Op basis van de data zijn sinds de invoering van de RESIST-5 test (september 2021 tot mei 2024) 212 testen uitgevoerd. Hiervan waren er 60 negatief. 35/60 hadden een Vitek meropenem MIC > 2 mg/L. Deze komen in aanmerking voor verder onderzoek naar carbapenemaseproductie. 16/35 stammen hiervan zijn dan ook opgestuurd geweest naar het NRC. Hiervan was er één stam toch positief voor NDM ondanks negatieve RESIST-5 test. Het kan zinvol zijn om in geval van deze 35 stammen een CarbaNP test uit te voeren om de dag zelf nog

uit te maken of de kiem al dan niet een carbapenemase produceert. Dit komt ongeveer neer op 1 stam per maand (35 stammen over een periode van 2 jaar en 8 maanden). Er wordt geopteerd om voorlopig deze geteste CarbaNP test niet op te nemen in de flowchart. Er zal wel één kit in huis gehouden worden om uit te voeren in geselecteerde gevallen in overleg met de microbioloog (vooraleer de stam op te sturen naar het NRC).

i) Hoeveel *Morganella* species, *Proteus* species en *Providencia* species zijn OXA-48 positief?

Dit zijn groepen van species waarvoor CPE zelden gerapporteerd wordt. In de periode 2017 tot mei 2024 waren slechts 2 *Morganella morganii* species en geen enkele *Proteus* of *Providencia* species OXA-48 positief. Verder was er 1 *Morganella morganii* OXA-427 positief, 1 *Proteus mirabilis* NDM positief en 2 *Providencia rettgeri* OXA-427 positief. Gegevens van het NRC tonen het volgende voor deze species:

- 1 tot 8 *P. mirabilis* CPE+ per jaar met verschillende carbapenemases (NDM, OXA-48, OXA-23, OXA-58...)
- 1 tot 3 *M. morganii* CPE+ per jaar, voornamelijk OXA-48
- 1 tot 3 *P. rettgeri* CPE+ per jaar, voornamelijk met verschillende carbapenemases (NDM, VIM, OXA-427, OXA-198), maar geen OXA-48

Voor *P. mirabilis* en *M. morganii* is het nog zinvol om te zoeken naar OXA-48. Voor *Providencia rettgeri* lijkt dit nog weinig zinvol gezien dit nog niet werd gedetecteerd bij dit species.

Besluit:

Samenvatting van de aanpassingen in beide flowcharts:

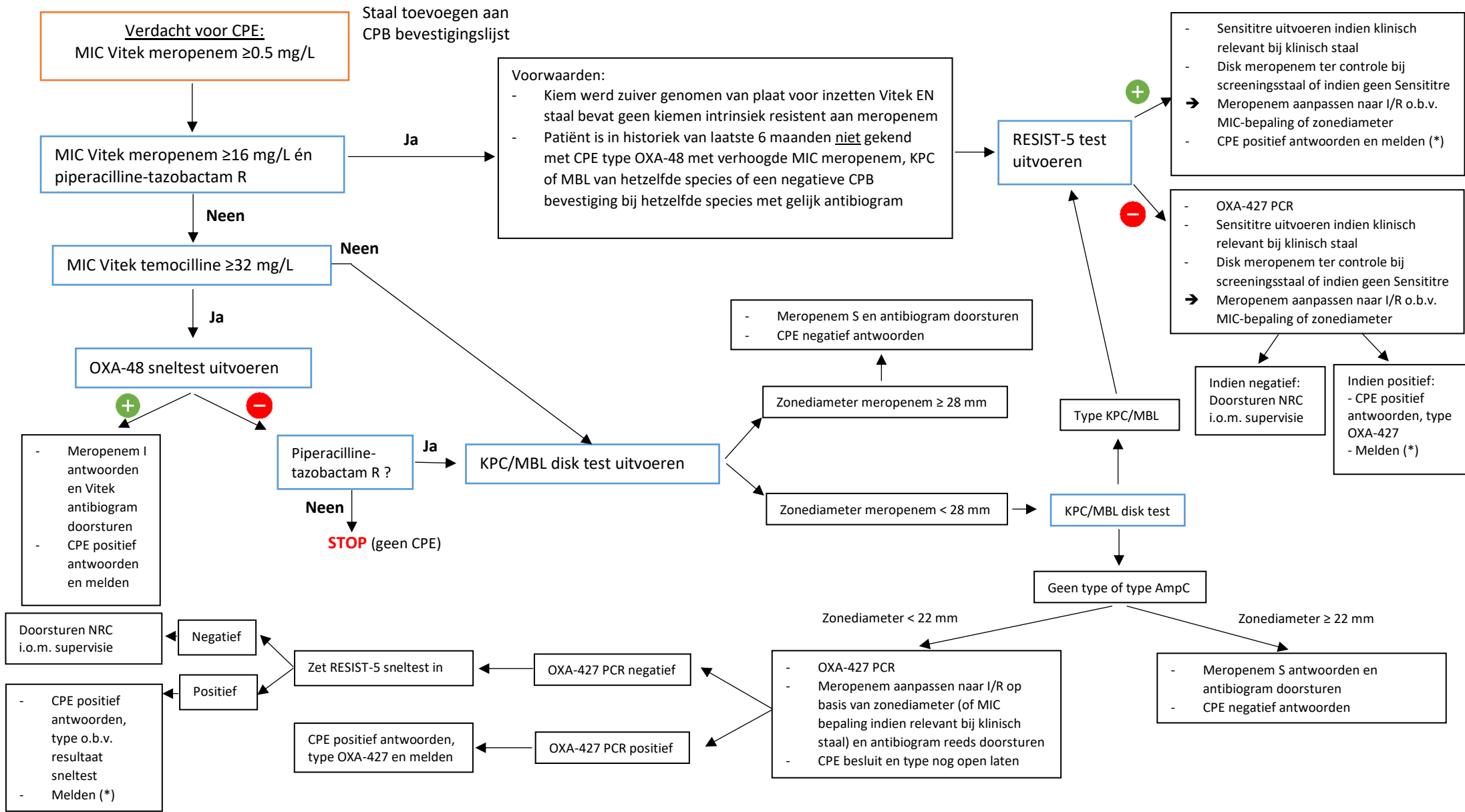
Voor flowchart 1:

- Toevoegen van het criterium 'indien piperacilline-tazobactam S = CPE negatief' na negatief resultaat met de OXA-48 sneltest.

Voor flowchart 2:

- Bij een Vitek MIC meropenem ≥ 16 mg/L (én piperacilline-tazobactam R) zal meteen een RESIST-5 test uitgevoerd worden op voorwaarde dat de kiem zuiver werd genomen van de agarplaat voor het inzetten van het Vitek antibiogram en er geen kiemen die intrinsiek resistent zijn aan meropenem aanwezig zijn in het staal. Verder dient er ook rekening gehouden te worden met de historiek van zes maanden van de patiënt. Indien de RESIST-5 test dan negatief is wordt er een OXA-427 PCR uitgevoerd.
- Bij een isolaat dat OXA-48 positief is met een Vitek MIC meropenem van 4-8 mg/L wordt er niet meer verder gezocht naar een mogelijke combinatie met een ander carbapenemase.
- Toevoegen van het criterium 'indien piperacilline-tazobactam S = CPE negatief' na negatief resultaat met de OXA-48 sneltest.

Nieuwe flowchart (ter vervanging van flowchart 2)



*: doorbellen aan ZHH en behandelende arts

5) Hoeveel kost de uitwerking van voor CPE-verdachte kiemen op jaarbasis?

Voor de confirmatie van CPE is er geen terugbetaling voorzien in de nomenclatuur en de kosten hiervan zijn dus voor het labo. Het is relevant om een zicht te hebben op het budget dat hier per jaar aan wordt besteed. Voor het jaar 2023 werd de reagenskost (incl. BTW) berekend.

Tabel 5: Reagenskosten (incl. BTW) voor CPE confirmatie met de huidige flowchart in 2023

	# uitgevoerd	Prijs per test	Totaal
CPE verdachte kiemen	303		
OXA48 sneltesten	250	€ 10.89	€ 2,721.63
KPC/MBL	134	€ 3.23	€ 432.63
RESIST-5	74	€ 25.23	€ 1,866.91
E-testen temocilline	102	€ 4.81	€ 490.21
OXA427 PCR	15	€ 22.08	€ 331.20
TOTAAL 2023 (zonder Sensititre antibiogram)			€ 5,842.58
Sensititre antibiogram	51	€ 14.88	€ 758.90
TOTAAL 2023 (met Sensititre antibiogram)			€ 6,601.48

Voor dezelfde CPE verdachte kiemen als in 2023 werd de kost ook berekend indien de nieuwe flowchart gebruikt zou worden. Voor OXA-427 PCR en Sensititre antibiogram werden hetzelfde aantal uitgevoerde testen genomen dan met de huidige flowchart aangezien het uitvoeren van deze testen afhangt van de klinische context. Voor de CarbaNP test, die achter de hand wordt gehouden voor in bepaalde gevallen, werd rekening gehouden met één test per maand. Met de nieuwe flowchart is een kostenreductie mogelijk. De lagere kosten zijn vooral het gevolg van het verminderde aantal OXA-48-testen. In de nieuwe flowchart wordt ernaar gestreefd te voorkomen dat zowel een OXA-48 als een RESIST-5 sneltest op hetzelfde isolaat wordt uitgevoerd. Daarnaast zullen minder KPC/MBL disk testen uitgevoerd worden.

Tabel 6: Reagenskosten (incl. BTW) voor CPE confirmatie met de nieuwe flowchart toepast op 2023

	# uitgevoerd	Prijs per test	Totaal
CPE verdachte kiemen	303		
OXA48 sneltesten	181	€ 10.89	€ 1,971.09
KPC/MBL	58	€ 3.23	€ 187.34
RESIST-5	69	€ 25.23	€ 1,740.87
E-testen temocilline	72	€ 4.81	€ 346.32
CarbaNP testen	12	€ 10.00	€ 120.00
OXA427 PCR	15	€ 22.08	€ 331.20
TOTAAL 2023 (zonder Sensititre antibiogram)			€ 4,696.82
Sensititre antibiogram	51	€ 14.88	€ 758.88
TOTAAL 2023 (met Sensititre antibiogram)			€ 5,455.70

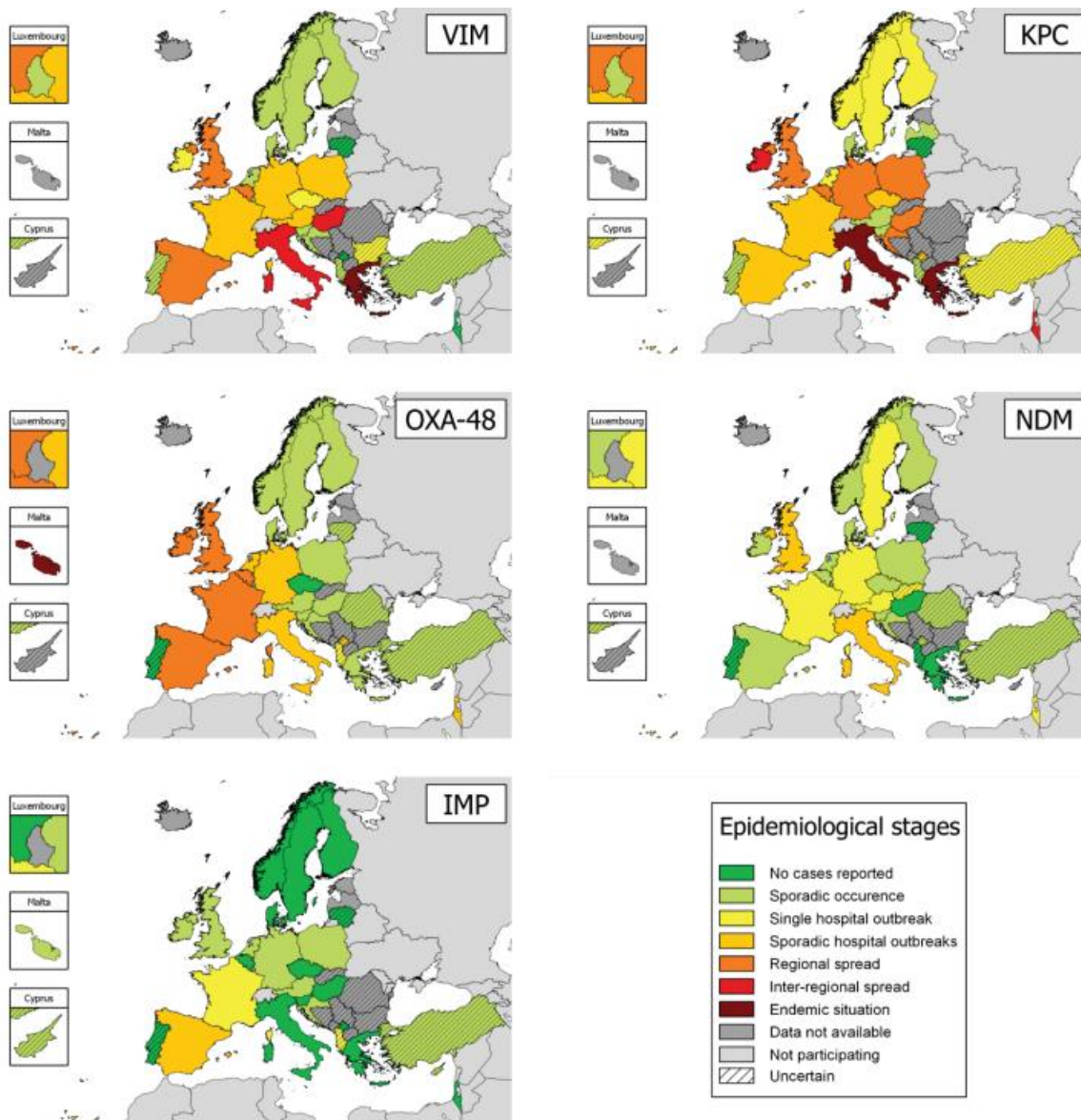
De personeelskosten zijn niet geïncludeerd in deze kostenberekening.

To do's

- 1) Invoeren van de aangepaste uitwerking voor *Enterobacterales* isolaten verdacht voor CPE.
- 2) Eventueel uitproberen van een alternatieve CarbaNP test van een andere fabrikant.
- 3) Invoegen van criterium ceftazidime-avibactam in de flowchart éénmaal de nieuwe Vitek kaart voor gramnegatieven in gebruik genomen wordt
- 4) Herevaluatie na één jaar van de toegevoegde waarde om carbapenemasen op te sporen bij stammen die Vitek MIC meropenem 0.5-8 mg/L hebben, temocilline intermediair gevoelig zijn en een diameter op disk diffusie hebben die kleiner is dan de EUCAST meropenem screeningscut-off voor CPE (<28 mm).

BIJLAGEN

Bijlage 1: Voorkomen van CPE per type in 38 Europese landen op basis van zelfevaluatie door nationale experts in maart 2013 (5)



KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing Enterobacteriaceae; NDM: New Delhi metallo-beta-lactamase; OXA-48: carbapenem-hydrolysing oxacillinase-48; VIM: Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase. In some countries, the epidemiological stage might not represent the exact extent of the spread of CPE as it is a subjective judgment by national experts.. Results presented here reflect the uncertainty at the time of the survey.

Bijlage 2: Overzicht commerciële CarbaNP testen beschikbaar in België (4,14–29)

Test	Rapidec Carba NP	Neo-Rapid Carb screen	Rapid Carb Blue screen	Bèta-CARBA test				
Fabrikant	BioMérieux	Rosco Diagnostica	Rosco Diagnostica	Bio-Rad				
Inhoud	Kit van 10 testen Alle reagentia en supplementen inclusief	Enkel diatabs met en zonder imipenem voor 50 testen	Enkel diatabs met en zonder imipenem voor 50 testen	R1, R2 en R3 reagens en 25 micro-tubes (3 maanden bewaring na 1 ^{ste} opening), 25 testen				
Niet inclusief	3mm diameter glass beads en 1,5ml conische tube voor specifieke procedure met hypermucoïde stammen	Triton X-100 10% Sol. TRIS-HCl Lysis Buffer B-PER II., Bacterial Protein Extraction reagent, pH meter	0.9% NaCl solution adjusted at pH 8.5 (8.3-8.7) (using 0.01 N NaOH solution), pH meter					
Geschikte media	MH, TSA, COS en enkele chromogene agars (niet MacConkey)	MH, TSA, COS (niet MacConkey)	MH, TSA, COS (niet MacConkey)	COS, TSA, UriSelect, Drigalski (niet MacConkey)				
Targets	<i>Enterobacteriales, Pseudomonas aeruginosa, A. baumannii</i> Deze test detecteert (zonder onderscheid) 3 klassen van carbapenemases: Klasse A: KPC Klasse B: NDM-1, VIM en IMP Klasse D: OXA-carbapenemases	<i>Enterobacteriales, Pseudomonas aeruginosa</i> en <i>Acinetobacter species</i>	<i>Enterobacteriales, Pseudomonas aeruginosa</i> en <i>Acinetobacter species</i>	<i>Enterobacteriales</i> Klasse A: KPC Klasse B: NDM, VIM en IMP Klasse D: OXA-carbapenemases				
	op cultuur of hemocultuur	op cultuur	op cultuur	op cultuur				
Tijd om uit te voeren	80-170'	80-170'	80-170'	40'				
TAT	Dag zelf, 30'-2u	Dag zelf, 15'-1u	Dag zelf, 35'-1u	Dag zelf, 30'				
Interpretatie	Elke kleurverandering van rood naar oranje/geel. Kleurverandering kan subjectief zijn (rood tot oranje).	Elke kleurverandering van rood naar oranje/geel. Kleurverandering kan subjectief zijn (rood tot oranje).	Elke kleurverandering van blauw naar groen/geel. Kleurverandering kan subjectief zijn (blauw tot groen).	Elke kleurverandering van geel naar oranje, rood of paars.				
Performantie	Sens. (%)	Spec. (%)	Sens. (%)	Spec. (%)	Sens. (%)	Spec. (%)	Sens. (%)	Spec. (%)
<i>Bijsluiter</i>	97.8	97.8					89.4	97.8
<i>Literatuur</i>								
Tamma et al.	100	83	93	97	67	100		
	98	99	89	99	89	100		
Garg et al.	92.6	96.2						
Lee et al.	93.7	100					64.9	90
Kour et al.	100	100						
Elawady et al.	100	94.3						
Bayraktar et al.							93.6-98.1	100
Bir et al.	93.9	71.4						
Poirel et al.	96	96						
Abdelghani et al.			93-99	100				
Dortet et al.	99	100	89.5	70.9				
Eltahlawi et al.	69.3	100						
Mcmullen et al.	98.5-99.6	97.4						
Hombach et al.	90.2	100						
Kansak et al.	97.8	100						
Yusuf et al.			66.7-73.3	100				
Humaun et al.	97.8	98.5						

MH: Mueller-Hinton agar; TSA: Tryptic Soy agar; COS: Colombia Blood agar

Bijlage 3: Vergelijking laterale flow-immunoassays van Coris Bioconcept en NG Biotech (28,30–45)

Test	Coris Bioconcept		NG Biotech			
	OKNVI RESIST-5		CARBA-5			
Targets	OXA-48-like behalve OXA-163-like (niet carbapenemase variant van OXA-48), ook OXA-244, KPC, NDM, VIM, IMP		OXA-48-like, KPC, NDM, VIM, IMP NG-Test® CARBA-5 detecteert de volgende varianten: Type NDM: NDM-1 -2 -3 -4 -5 -6 -7 -8 -9 -11 -19 Type KPC: KPC-1 -2 -3 -4 -5 -6 -7 -12 -14 -23 -28 -39 Type IMP: IMP-1 -2 -4 -5 -6 -7 -8 -10 -11 -13 -14 -15 -16 -18 -19 -22 -26 -29 -31 -37 -39 -46 -47 -56 -58 -61 -63 -71 -79 Type VIM: VIM-1 -2 -4 -5 -6 -19 -23 -26 -27 -31 -39 -46 -51 -52 -54 -56 -58 -59 OXA-48-like: OXA-48 -162 -181 -204 -232 -244 -245 -370 -436 -484 -515 -517 -519 -535 -793			
	- <i>Enterobacterales</i> - Non-fermenters		- <i>Enterobacterales</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - NIET gevalideerd voor <i>Acinetobacter species</i>			
	2 cassettes, op cultuur		1 cassette, op cultuur			
Tijd	15min		15min			
Geteste cultuurmedia	Zie website (FAQ)		Zie bijsluiter			
Kost	1 kit (20 testen); prijs/test (€)	417 - 20,85 (2022)	492,11 - 24,61 (2020)			
Performantie	Bijsluiter		Bijsluiter			
	Sensitiviteit (%)	100, behalve VIM 93.5	100*			
	Specificiteit (%)	100	100			
	Herhaalbaarheid	100				
	Reproduceerbaarheid	100				
Literatuur		Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	
	Yasar-Duman et al. (RESIST-4)	100 behalve voor NDM 84.1	100	Boutal H et al. 100	95.3 (retrosp.) - 100 (prosp.)	
	MacDonald et al. (RESIST-4)	100 behalve voor NDM 95.3	100	Hopkins et al. 97.1	99.75	
	Song et al. (RESIST-4)	97.8	100	Tamma et al. 100	95 (retrosp.) - 100 (prosp.)	
	Kettani et al. (RESIST-5)	100	100	Chromagar 100	100	
	Hong et al. (RESIST-5)	98.4	100	Bartolini A et al. 100	100	
	Greissl et al. (RESIST-4)	99.2	100	Saito et al. 99.1	100	
				Hazlett et al. 98.5	100	
				Bodendoerfer et al. 100	100	
				Pfennigwerth et al. 91.7	100	
				Kon et al. 100	98	
	Vergelijking kits in zelfde studie	Bogaerts et al. NRC CHU UCL Namur (RESIST-4)	100	N.A.	Bogaerts et al. NRC CHU UCL Namur (CARBA-5)	100
Baeza et al. (RESIST-4)		84.2	100	Baeza et al. 88.2	100	100
Davison et al (RESIST-4)		89.1	100	Davison et al. 96.1	100	100
Miltgen et al.		97.7	100	Miltgen et al. 97.8	100	100
Aubry et al. (RESIST-4)		100	100	Aubry et al. 100	100	100
Han et al. (RESIST-5)		99.4	100	Han et al. 100	100	100
Josa et al. (RESIST-4)		100	100	Josa et al. 100	100	100
				*vals negatief mogelijk bij <i>P. mirabilis</i> die enkel vanaf bloedagar wordt getest (zwerming)		