

# Evaluierung des Testkits, NG-Test® CTX-M Multi, für die Erkennung der ESBL-bildenden Enterobacterales

Rahel M. Moutinho, BMA 20-23,  
Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF  
Mikrobiologie, Medics AG

## 1. Zusammenfassung

Bei einem Verdacht von Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL)-bildenden Enterobacterales nach der Resistenzprüfung mit dem Vitek®, wurde dies mit dem  $\beta$ -Lacta™ Test bestätigt. Kommt es zu nicht interpretierbaren oder unplausiblen Ergebnissen mit dem kolorimetrischen Test, wird eine Agardiffusion und ein ETest® gemacht (Standardbestätigungsmethode). Mit diesem Verfahren geht ein Tag verloren. Es wurde nach einer Alternative für den  $\beta$ -Lacta™ Test gesucht (höhere Sensitivität und Spezifität). Nun wurde der NG-Test® CTX-M Multi evaluiert, dabei wurden 39 Stämme mit der Standardmethode verglichen. Es handelt sich dabei um 13 negative und 26 positive ESBL-Stämme. Beim NG-Test werden die CTX-M Gruppen erkannt. Der NG-Test ist ein qualitativer Immunoassay. Die Resultate des NG-Tests® stimmen mit den Resultaten der Standardmethode (Etest® und Agardiffusion) überein und ergaben eine Sensitivität und Spezifität von 100%. Der  $\beta$ -Lacta™ Test hat eine Sensitivität von 76.9% und eine Spezifität von 84.6%. Im Vergleich zum  $\beta$ -Lacta™ Test ist der NG-Test® klarer und einfacher zu interpretieren. Der NG-Test® ist für die Bestätigung der ESBL-bildenden Enterobacterales mit einer Resistenz gegen Cephalosporine der 3. und 4. Generation geeignet. Die Fehlerquelle wird durch die klare Interpretierung vermindert und es wurden keinen Interferenzen durch AmpC- oder K1 (OXY)-Stämme entdeckt.

## 2. Einleitung

Die ESBL-bildenden Bakterien bilden ein Enzym, welche die  $\beta$ -Lactam-Ringe der Cephalosporine hydrolysieren und somit resistent gegen Cephalosporine der 3. und 4. Generation machen. Die Mutation kann durch Plasmidvermittlung erlangt werden, welche auch die Übertragung auf verschiedene Arten von Bakterien ermöglicht oder durch eine chromosomale Punktmutation. [1]

CTX-M (Cefotaxim-hydrolysierenden Beta-Lactamasen) können Cephalosporine; Cefotaxim, Cefepim und Ceftazidim hydrolysieren und werden durch Inhibitoren wie Clavulansäure gehemmt. [2] AmpC sind Cephalosporinasen, welche auch Resistenzen gegenüber Penicillinen besitzen können. Sind jedoch nicht hemmbar durch Clavulansäure. [3]

Unter den *K. oxytoca* gibt es K1-Hyperproduzenten, welche ein ähnliches Resistenzspektrum haben wie ESBL-Bildner. Die K1- $\beta$ -Lactamase ist chromosomal kodiert und kann nicht durch  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren gehemmt werden. [4]

## 3. Ziele und Fragestellungen

Das Ziel der Arbeit ist ein Ersatz für den  $\beta$ -Lacta™-Test zu evaluieren für eine höhere Sensitivität und Spezifität, um schneller ein korrektes Resultat zu erhalten.

- 1.: Ist der NG-Test® spezifischer und sensitiver als der  $\beta$ -Lacta™ Test?
- 2.: Führen ESBL-negative Stämme, die jedoch AmpC-Stämme sind, zu falsch positiven Resultaten bei dem NG-Test®?
- 3.: Führt der *K. oxytoca* (K1) zu falsch positiven Resultaten?

## 4. Material, Methodik, Vorgehen

Das Probenkollektiv besteht aus 39 Stämme (13 Negative bestehend aus vier AmpC und zwei K1 und 26 Positive) aus der Routine. Die Mitarbeiterinnen des Mikrobiologielabors haben die klinisch relevanten Keime identifiziert mittels Maldi und danach eine Resistenzprüfung mittels Vitek gemacht. Kam es zu einem Verdacht auf ESBL wurde der  $\beta$ -Lacta™-Test gemacht oder wenn nötig die Standardbestätigungsmethode nach Eucast. Meine Arbeit bezieht sich auf die Prüfung alle drei Testarten.

Agardiffusionstest und Etest®: Bei der Testung von ESBL ist es essentiell das Verhalten mit  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren zu beachten. Getestet wird dies mit zwei Cephalosporine, der 3. Generation, Ceftazidim (CAZ) und Cefotaxim (CTX) welche einmal ohne und einmal mit Clavulansäure auf die MH II Platte gelegt wird. Eine Hemmhofbreite bei CAZ von  $\leq 22$ mm und CTX bei  $\leq 27$ mm ist verdächtig für ESBL. Der Verdacht bestätigt sich jedoch erst bei einer Differenz von  $\geq 5$ mm beim Antibiotikum mit Clavulansäure (CCT und CCA) zu dem ohne Clavulansäure (CAZ und CTX).

Beim Etest® wird das Cephalosporine der 4. Generation getestet. Der Cefepim (PM)-Wert wird durch den (+Clavulansäure) PML-Wert dividiert und muss  $\geq 8$  sein oder es bildet sich ein Phantombild für eine Bestätigung[5]

$\beta$ -Lacta™: Der kolorimetrische Test funktioniert durch die Spaltung des gelben chromogenen Substrates HMRZ-86 (Cephalosporine). Dabei kommt es zu einem Farbumschlag zu Rot. [6] Jedoch kann es auch Orange werden, welches durch die individuelle Farbwahrnehmung ein Problem werden kann.

NG-Test®: Der qualitative Immunoassay funktioniert mit dem Sandwichprinzip und erkennt alle CTX-M Gruppen (1,2,8,9 und 25). Die Anti-CTX-M Maus monoklonalen Antikörper (AK) binden mit dem CTX-M Enzym an die immobilisierten monoklonalen Anti-CTX-M Maus AK auf dem Teststreifen. Die Kontrolllinie kommt durch monoklonale AK mit Streptavidin, welche an die Ziegen-anti-Maus polyklonalen AK mit Biotin BSA binden. [7]

## 5. Ergebnisse

In der Abbildung unten sind die Resultate dargestellt. Der NG-Test® ergab 13 negative und 26 positive, der  $\beta$ -Lacta™ hatte 11 negative und 20 positive, dazu kamen 5 welche nicht interpretierbar sind und 3 weitere mit Problemen. Bei der Bestätigungsmethode sind 13 negativ und 26 positiv.

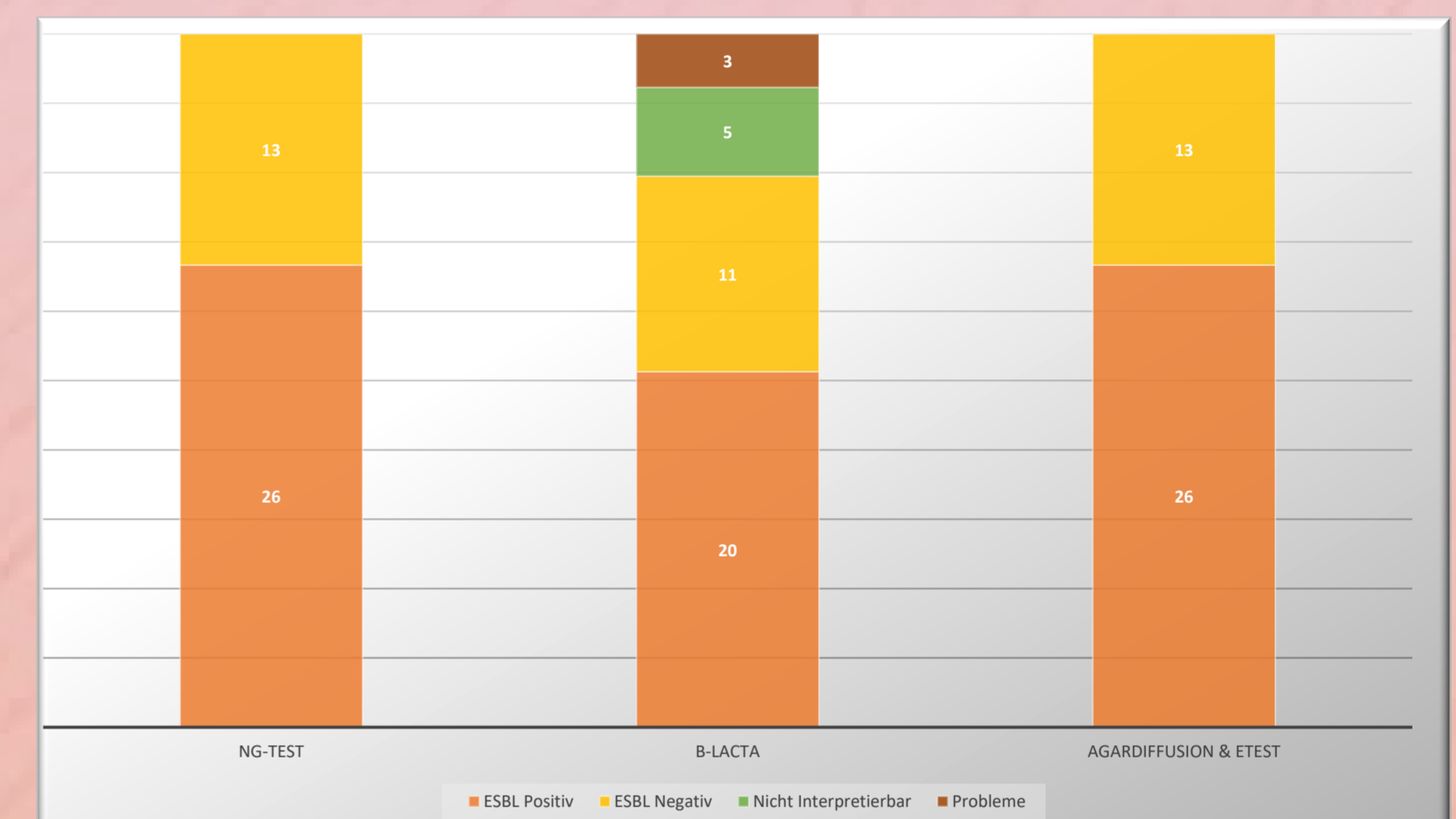


Abb.1: Resultate Darstellung, Moutinho 2023

## 6. Diskussion

Fragestellung 1.: Bei der oben ersichtlichen Darstellung ist zusehen, dass eine 100% Übereinstimmung zwischen dem NG-Test® und der Standardmethode besteht. Beim  $\beta$ -Lacta™ haben wir einige Probleme; zwei falsch positive und einen falsch negativen. Damit haben wir eine Sensitivität von 76.9% und eine Spezifität von 84.6%. Hier muss jedoch beachtet werden, dass es sich nur um 34 Stämme handelt, da fünf nicht interpretierbar waren. Jedoch ist klar, dass der NG-Test® eine höhere Spezifität und Sensitivität vorweist.

Fragestellung 2.: Bei beiden Tests führten die AmpC-Stämme zu keinen Interferenzen. Es wurden alle als negativ erkannt.

Fragestellung 3.: Beim NG-Test® wurden die K1 als negativ erkannt. Beim  $\beta$ -Lactam®-Test erhielt ich falsch positive Resultate.

Es ist gut ersichtlich das der NG-Test® in vielerlei Hinsicht ein einfacher Test ist, welcher zu klar interpretierenden Resultaten führt. Im Mikrobiologielabor des Medics AG wurde der Test nun eingeführt. Bei unplausiblen Resultaten wird weiterhin die Standardmethode als Bestätigung eingesetzt.

## Referenzen

- [1] Kern, J. M. (2021). *Multiresistente gramnegative Erreger*. Springer Verlag GmbH, Teile SpringerNature. multiresistente-gramneg-erreger?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54676-1\_548
- [2] A. S. Keshita, et al. (2021) Evaluation of Rapid Immunochromatographic Tests for the Direct Detection of ESBL and Carbapenemases in Enterobacterales. American Society for Microbiology. 1-6 /e00785-21
- [3] Meini S., et al. (2019) AmpC  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know doi.org/10.1007/s15010-019-01291-9 47:363–375
- [4] El Jade et al.: Diagnostik von Extended Spectrum Beta-Lactamase-bildenden Enterobakterien in Tier und Mensch. - Bonn, 2017. ,Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:5n-47974
- [5] EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms (o. J.). https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/EUCAST\_files/Resistance\_mechanisms/EUCAST\_detection\_of\_resistance\_mechanisms\_v1.0\_20131211.pdf
- [6] LACTA™ Test 50 68250 Schneller Nachweis einer Resistenz gegen Cephalosporine der dritten Generation bei Enterobacteriaceae. (o. J.). Bio-rad.com. https://commerce.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/de/68250\_881150\_DE.pdf
- [7] (O. J.). Ngbiotech.com. Abgerufen 11. September 2023, von https://ngbiotech.com/amr-doc/ENO016CTM\_v230620-IFU\_NG-Test\_CTX-M\_Multi\_MULTILINGUAL.pdf

Abb. 1 Eigene Darstellung, Moutinho 2023