

## **NVMM-RICHTLIJN VOOR SCREENING EN CONFIRMATIE VAN EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASES (ESBL's) IN *ENTEROBACTERIACEAE***

Nashwan al Naiemi, James Cohen Stuart, en Maurine Leverstein van Hall, namens de leden van werkgroep ESBL van de NVMM

### **Werkgroepleden :**

**Dr Sandra Bernards\***

Afdeling Medische Microbiologie, Leidsch Universitair Medisch Centrum

**Dr James Cohen Stuart**

Afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht

**Dr Ad C. Fluit**

Afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht

**Dr Wil Goessens\***

Afdeling Medische Microbiologie, Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam

**Drs Teysir Halaby**

Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek, Enschede

**Dr Maurine A. Leverstein – van Hall (voorzitter)**

Afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht & Centrum voor Infectieziektenbestrijding, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM)

**Prof Dr Dik Mevius**

Centraal Veterinair Instituut , Lelystad & Afdeling Klinische Infectiologie, Faculteit Diergeneeskunde Utrecht

**Dr Johan W. Mouton\***

Afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

**Dr Nashwan al Naiemi**

Afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU medisch centrum

**Dr Peter C. Wever**

Regionaal Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

\* Leden van de Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (CRG)

Correspondentie adres : [m.leversteinvahl@umcutrecht.nl](mailto:m.leversteinvahl@umcutrecht.nl)

## Introductie

Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL's) zijn gedefinieerd als plasmide-gecodeerde enzymen, die in staat zijn tot hydrolyse van penicillines, oxyimino-cefalosporines van de 1e, 2e en 3e generatie, zoals cefuroxim, cefotaxim, ceftazidim, ceftriaxon, en aztreonam. ESBL's zijn daarentegen niet actief tegen cephamycinen en carbapenems en worden gewoonlijk geremd door beta-lactamase-inhibitors als clavulaanzuur. De meest prevalentie ESBL's behoren tot klasse A (TEM, SHV, CTX-M). Minder prevalent zijn de (inhibitor resistente) klasse D (OXA) ESBL's en incidenteel worden andere klassen van ESBL's gedetecteerd (zie ook [www.lahey.org/studies/webt.htm](http://www.lahey.org/studies/webt.htm)). De recente snelle toename van ESBL's is met name het gevolg van de opkomst van de CTX-M beta-lactamases (1, 13, 17).

ESBL's worden voornamelijk gedetecteerd in *Enterobacteriaceae*, maar in toenemende mate ook in niet-fermenterende Gramnegatieve staven. ESBL's vormen één van de resistentiemechanismen tegen oxyimino-cefalosporines en aztreonam. Andere resistentiemechanismen zijn hyperproductie van chromosomale AmpC-beta-lactamases, plasmide-gecodeerde AmpC-beta-lactamases, hyperproductie van chromosomaal K1-beta-lactamases (in *Klebsiella oxytoca*), carbapenemases, verlies van porines, en efflux pomp-gemedieerde resistentie. Detectie van ESBL-producerende micro-organismen in de routine diagnostiek is essentieel voor de patiëntenzorg omdat:

- de kans op therapiefalen toeneemt indien het desbetreffende micro-organisme een ESBL vormt (16, 17).
- ziekenhuishygiënische maatregelen zijn geïndiceerd voor ESBL-producerende micro-organismen omdat zij geassocieerd zijn met epidemieën en multi-resistentie, resulterend in een afname van de patiëntveiligheid en een toename van de kosten (2, 10, 18, 19, 24).

## Doel van deze richtlijn

Deze richtlijn heeft tot doel de ESBL-detectie in de routinediagnostiek in Nederlandse microbiologische laboratoria te standaardiseren. De adviezen binnen deze richtlijn zijn gebaseerd op de richtlijnen van de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), de Health Protection Agency-British Society for Antimicrobial Chemotherapy (HPA-BSAC), de Swedish Reference Group for Antibiotics (SRGA), de European Antimicrobial Resistance

Surveillance System (EARSS) en de recente literatuur, geïnterpreteerd door de werkgroepleden. Deze richtlijn beperkt zich tot de *Enterobacteriaceae* omdat er onvoldoende data in de literatuur beschikbaar zijn om een advies te kunnen opstellen voor de detectie van ESBL's in andere Gramnegatieve micro-organismen, zoals de non-fermenters. Daar er voortdurend nieuwe inzichten op dit gebied zijn, waarbij nieuwe ESBL-genen worden geïdentificeerd, is het noodzakelijk dat deze richtlijn een levend document is, dat regelmatig wordt geactualiseerd. De Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (CRG) is hier verantwoordelijk voor.

### **Strategie van ESBL detectie**

De detectiestrategie bevat een screeningstap en een confirmatiestap (zie figuur 1). De screening is gebaseerd op de verminderde gevoeligheid van ESBL-producerende isolaten voor indicatorcefalosporines in vergelijking met isolaten die behoren tot de wildtype-populatie. De confirmatiestap is gebaseerd op in vitro remming van ESBL-activiteit door toevoeging van clavulaanzuur (resultierend in een daling van de MRC van de indicatorcefalosporine). Er wordt dan gesproken van synergie tussen de indicatorcefalosporine en clavulaanzuur. Deze synergie kan worden “gemaskeerd” indien het isolaat eveneens een beta-lactamase produceert dat cefaloporines afbreekt maar dat ongevoelig is voor clavulaanzuur. De meest voorkomende voorbeelden hiervan zijn AmpC-beta-lactamases en sommige carbapenemases. Om een ESBL aan te tonen in isolaten waarin ook een AmpC-beta-lactamase aanwezig is, dient men gebruik te maken van een confirmatie test met cefepim. Cefepim wordt namelijk niet afgebroken door AmpC-beta-lactamases en wel door de meeste ESBL's.

De interferentie door AmpC-beta-lactamases is de reden waarom in deze richtlijn methoden van screening en ESBL-confirmatie zijn gespecificeerd naar species. Groep I bevat de species waarbij het voorkomen van gederepresseerd AmpC zelden of helemaal niet voorkomt en groep II de species waarbij derepressie van het chromosomaal AmpC-gen meer regel dan uitzondering is. Men moet zich daarbij wel realiseren dat AmpC-genen in toenemende mate worden aangetroffen op plasmiden, die niet species gebonden zijn en dus in beide groepen kunnen voorkomen (15, 25).

### **Methoden van ESBL-screening**

Aanbevolen methoden voor ESBL-screening zijn bouillondilutie, agardilutie, diskdiffusie en de geautomatiseerde systemen (b.v. Vitek I/II of Phoenix)(zie figuur en tabel 1). De werkgroep adviseert voor Groep I als breekpunt voor cefotaxim en ceftazidim >1 mg/L,

conform de richtlijnen van de EUCAST, CLSI, HPA-BSAC en SRGA. De screenings-breekpunten zijn zo gekozen dat de isolaten die worden gedetecteerd door de test een MRC hebben die boven de MRC verdeling van de wild-type-populatie ligt. De breekpunten die gebruikt worden voor screening komen daarmee overeen met het klinische breekpunt voor 'gevoelig' van de EUCAST voor *Enterobacteriaceae* ( $S = \leq 1$  mg/L voor cefotaxim en ceftazidim), maar liggen lager dan de klinische breekpunten van de CLSI. Men dient zich ervan bewust te zijn de geautomatiseerde systemen een positieve screentest kunnen rapporteren zonder dat het isolaat een MRC  $>1$  mg/L voor cefotaxim en/of ceftazidim heeft.

**Groep I.** *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp. en *Shigella* spp.:

Het advies van de werkgroep is om de screening uit te voeren met een combinatie van tenminste de indicatorantibiotica ceftazidim en cefotaxim (zie figuur en Tabel 1)(4,7-9). Voor deze indicatorantibiotica is gekozen omdat bacteriën, die ESBL's van het type TEM en SHV produceren, resistent zijn tegen ceftazidim maar variabel resistent tegen cefotaxim, terwijl bacteriën, die CTX-M-ESBL's produceren, resistent zijn tegen cefotaxim maar variabel resistent tegen ceftazidim. Indien slechts één indicator antibioticum wordt gebruikt is cefpodoxim het meest sensitief. Dit wordt echter niet geadviseerd door de werkgroep omdat screening met uitsluitend cefpodoxim veel minder specifiek is dan screening met de combinatie ceftazidim en cefotaxim (8). In de geautomatiseerde systemen zijn de cefalosporines die zijn opgenomen in de ESBL-screentest afhankelijk van de samenstelling van de kaart.

**Groep II.** *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* en *Hafnia alvei*:

Voor screening bij deze species zijn geen richtlijnen verschenen binnen de CLSI en HPA-BSAC of SRGA en wordt door deze werkgroep ook geen advies geformuleerd. Echter ook bij deze species kan voor ESBL's gescreend worden op basis van verlaagde gevoeligheid voor de combinatie ceftazidim en cefotaxim zoals gangbaar is in Engeland (persoonlijke mededeling D. Livermore) (zie figuur en tabel 1). Derepressie van het van chromosomaal gelegen AmpC-gen binnen deze species maakt echter de screening frequent foutpositief.

## **Methoden van ESBL-confirmatie, gespecificeerd naar verschillende species**

Er bestaan verschillende fenotypische methoden voor confirmatie van ESBL's, waarvan alleen de *combinatie disk diffusie test* en de *ESBL Etest* door deze werkgroep als alternatieven worden aanbevolen in navolging van de HPA-BSAC (Tabel 2) (12).

De *Vitek II ESBL-confirmatie test*methode wordt niet aanbevolen gezien de beperkte hoeveelheid literatuur over deze methode met daarbij uiteenlopende resultaten (11, 20, 22).

De *dubbel disk synergietest* wordt niet aanbevolen omdat de sensitiviteit afhankelijk is van de (niet voorspelbare) optimale disk/tablet afstand en omdat de methode in meerdere onderzoeken een lage sensitiviteit bleek te bezitten (3, 17, 23).

De beperking van de fenotypische confirmatie tests is dat zij foutpositief kunnen zijn. Met name vormt dit een probleem bij *K. oxytoca* stammen. Phenotypisch is er geen onderscheid te maken tussen een *K. oxytoca* met hyperproductie van het chromosomale K1-beta-lactamase en een *K. oxytoca* met een ESBL uit de CTX-M-9-groep. In beide gevallen is de ESBL test positief op basis van synergie tussen cefotaxim en clavulaanzuur. Is er echter een hoge MRC voor ceftazidim gecombineerd met een synergie tussen ceftazidim en clavulaanzuur dan produceert de stam een ESBL. Meer zeldzame oorzaken van foutpositieve uitslagen zijn hyperproductie van SHV-1 (*K. pneumoniae*) of de aanwezigheid van klasse A-carbapenemases (o.a. KPC) en van foutnegatieve uitslagen bij een inhibitor-resistente ESBL (OXA).

Bij de *Enterobacteriaceae* uit groep I worden de tests primair uitgevoerd met zowel cefotaxim als ceftazidim (zie tabel 2). Gezien de verschillen in affiniteit van de meest voorkomende ESBL-klassen voor deze cefalosporinen, is het voor de ESBL-confirmatie voldoende dat voor één van deze twee cefalosporinen synergie met clavulaanzuur wordt aangetoond.

Indien deze tests niet te beoordelen zijn doordat de MRC "out-of-range" zijn of er doorgroei tot de disk/tablet plaatsvindt kan er sprake zijn van een plasmidaal AmpC-beta-lactamase of een carbapenemase. Om vast te stellen of deze isolaten, naast deze beta-lactamases, eveneens een ESBL bezitten dient vervolgens een cefepim-confirmatietest te worden gedaan zoals bij species binnen groep II. Een MRC van  $\geq 16$  mg/L voor cefoxitin is indicatief voor een stabiele derepressie van AmpC. Dus als bij het inzetten van de confirmatietest al bekend is dat een isolaat voor cefoxitin een MRC van  $\geq 16$  mg/L heeft is het raadzaam om de cefepim

confirmatietest direct in te zetten gezien de dag tijdswinst die daarmee behaald kan worden (15, 25).

Bij de *Enterobacteriaceae* uit groep II met een chromosomaal AmpC-beta-lactamase wordt geadviseerd de confirmatietests uit te voeren met cefepim (zie tabel 2). De SRGA adviseert deze confirmatie test alleen uit te voeren indien het isolaat ook resistent is tegen tenminste 2 andere antimicrobiele klassen (quinolonen, cotrimoxazole, aminoglycosides, nitrofurantoin) (www.srga.org). De werkgroep staat positief tegenover deze benadering maar formuleert hierover geen advies gezien het ontbreken van ESBL prevalentie data in species uit groep II in Nederland.

1. *Combinatie disk diffusie test* (Becton Dickinson, MAST, ROSCO). Mueller-Hinton (MH) agar of IsoSensitest agar (ISA) platen worden geïnoculeerd met een suspensie van 0.5 McFarland en diffusiedisks/tabletten worden geplaatst. De zone rondom een cefalosporine disk/tablet wordt vergeleken met de zone rondom de disk/tablet van hetzelfde cefalosporine plus clavulaanzuur. Een toename van de zone  $\geq 5$  mm (ROSCO) of een ratio van diameters  $\geq 1,5$  (Becton Dickinson, MAST) duidt op ESBL productie (zie tabel 2). De testuitslag is dan ESBL positief indien de stam tevens een MRC van  $>1$  mg/L heeft voor cefotaxim en/of ceftazidim.

2. *Etest ESBL strips* (AB Biodisk). Mueller-Hinton agar of IsoSensitest agar platen [zie hierboven] worden geïnoculeerd met een suspensie van 0.5 McFarland conform de richtlijnen van de producent en strips worden geplaatst. Een  $\geq 8$ -voudige reductie in MRC van het antibioticum met clavulaanzuur ten opzichte van de MRC zonder clavulaanzuur of een fantoomeffect duidt op ESBL-productie (zie bijsluiter en Tabel 2). De testuitslag is dan ESBL positief indien de stam tevens een MRC van  $>1$  mg/L heeft voor cefotaxim en/of ceftazidim.

De testuitslag is ESBL negatief indien er met behulp van bovenstaande testen geen synergie wordt aangetoond, terwijl de testen wel goed af te lezen zijn.

### **Kwaliteitscontrole**

De volgende stammen worden aanbevolen voor de kwaliteitscontrole: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL positief) en *E. coli* ATCC 25922 (ESBL negatief) (6).

## **Documentatie in LIMS**

De uitslag van de ESBL-confirmatie test dient in het Laboratorium Informatie Management Systeem te worden geregistreerd als positief, negatief of niet te beoordelen.

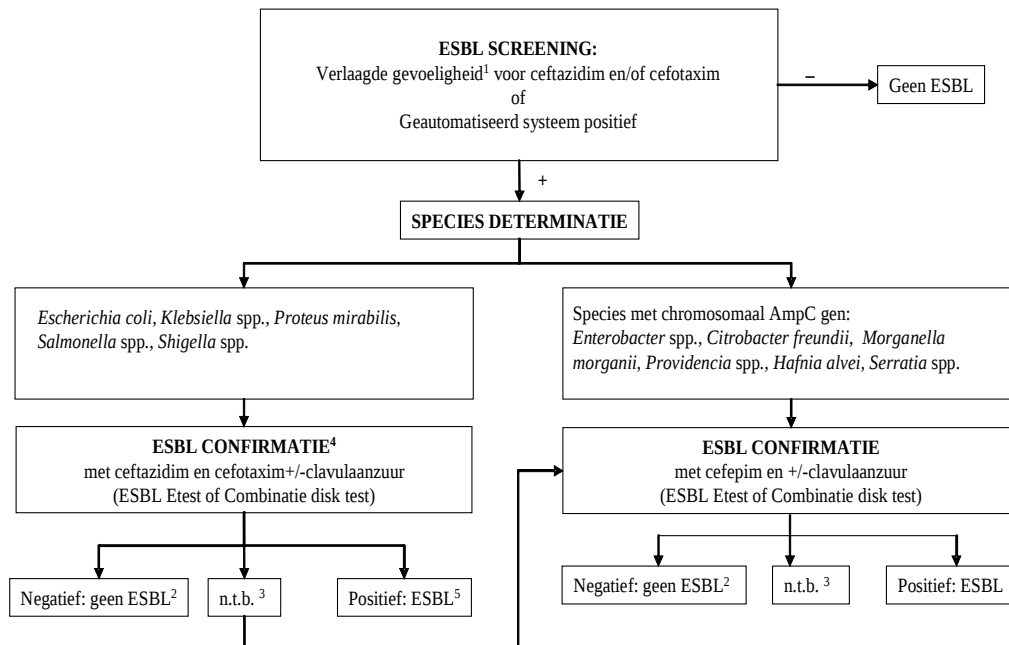
## **Rapportage naar de kliniek**

Indien de ESBL-confirmatietest positief is, dient het te rapporteren antibiogram aangepast te worden. Het isolaat moet resistent worden geacht voor alle penicillines, cefalosporines (cephamycines zoals cefoxitin uitgezonderd (5)) en aztreonam, inclusief de beta-lactamase-inhibitorcombinatie preparaten amoxicilline/clavulaanzuur en piperacilline/tazobactam. Dit geldt ook voor isolaten afkomstig van urineweginfecties. Sommige experts (17) zijn van mening dat ongecompliceerde urineweginfecties, veroorzaakt door ESBL-producerende micro-organismen, behandeld kunnen worden met amoxicilline/clavulaanzuur indien in vitro gevoelig, doch er zijn te weinig klinische data om dit te kunnen aanbevelen.

Indien de ESBL-confirmatie test negatief is wordt het antibiogram gerapporteerd in overeenstemming met de gemeten MRC's.

Over de wijze van rapporteren naar de kliniek van een ESBL-confirmatietest die niet te beoordelen is zijn er geen richtlijnen of adviezen in de literatuur te vinden. Omdat een isolaat met een dergelijke testuitslag niet tot de wildtypepopulatie behoort wat mogelijk een risico op therapiefalen impliceert, adviseert de werkgroep het antibiogram van de beta-lactam-antibiotica, m.u.v. carbapenems, die o.b.v. EUCAST/SRGA-criteria gevoelig zijn in de rapportage aan de kliniek te blokkeren.

**Figuur: ESBL detectie algoritme voor *Enterobacteriaceae***



1: Voor breekpunten zie tabel 1.

2: Inhibitor resistant ESBL niet uitgesloten.

3: n.t.b. = out of range (MRC > Etest strip of groei tot aan disk/tablet) bij één van de twee strips of combinatie disks.

4: Bij cefoxitiin resistentie direct cefepim confirmatie test verrichten.

5: De ESBL confirmatie test kan vals positief zijn in K1 beta-lactamase hyper-producerende *Klebsiella oxytoca*. Echter, resistentie tegen ceftazidime in *K. oxytoca* in combinatie met synergie tussen ceftazidim + clavulaanzuur duidt op ESBL productie.



## Referenties

1. **Al Naiemi, N., A. Bart, M. D. de Jong, C. M. Vandenbroucke-Grauls, P. J. Rietra, Y. J. Debets-Ossenkopp, P. C. Wever, L. Spanjaard, A. J. Bos, and B. Duim.** 2006. Widely distributed and predominant CTX-M extended-spectrum beta-lactamases in Amsterdam, The Netherlands. *J Clin Microbiol* **44**:3012-4.
2. **Al Naiemi, N., B. Duim, P. H. Savelkoul, L. Spanjaard, E. de Jonge, A. Bart, C. M. Vandenbroucke-Grauls, and M. D. de Jong.** 2005. Widespread transfer of resistance genes between bacterial species in an intensive care unit: implications for hospital epidemiology. *J Clin Microbiol* **43**:4862-4.
3. **Bedenic, B., J. Vranes, L. Mihaljevic, M. Tonkic, M. Sviben, V. Plecko, and S. Kalenic.** 2007. Sensitivity and specificity of various beta-lactam antibiotics and phenotypical methods for detection of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. *J Chemother* **19**:127-39.
4. **Biedenbach, D. J., M. Toleman, T. R. Walsh, and R. N. Jones.** 2006. Analysis of *Salmonella* spp. with resistance to extended-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* **54**:13-21.
5. **Bradford, P. A.** 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* **14**:933-51.
6. **CLSI.** 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement. M100-S17.
7. **Hirakata, Y., J. Matsuda, Y. Miyazaki, S. Kamihira, S. Kawakami, Y. Miyazawa, Y. Ono, N. Nakazaki, Y. Hirata, M. Inoue, J. D. Turnidge, J. M. Bell, R. N. Jones, and S. Kohno.** 2005. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis* **52**:323-9.
8. **Hope, R., N. A. Potz, M. Warner, E. J. Fagan, E. Arnold, and D. M. Livermore.** 2007. Efficacy of practised screening methods for detection of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* **59**:110-3.
9. **Kim, S., J. Kim, Y. Kang, Y. Park, and B. Lee.** 2004. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the genus *Shigella* in the Republic of Korea. *J Clin Microbiol* **42**:5264-9.
10. **Lee, S. Y., S. Kotapati, J. L. Kuti, C. H. Nightingale, and D. P. Nicolau.** 2006. Impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species on clinical outcomes and hospital costs: a matched cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol* **27**:1226-32.
11. **Leverstein-van Hall, M. A., A. C. Fluit, A. Paauw, A. T. Box, S. Brisse, and J. Verhoef.** 2002. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum beta-lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol* **40**:3703-11.
12. **Livermore, D., and N. Woodford** 2006. Laboratory detection and reporting of bacteria with extended spectrum beta-lactamases. <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/qsop/pdf/qsop51.pdf>

13. **Livermore, D. M., R. Canton, M. Gniadkowski, P. Nordmann, G. M. Rossolini, G. Arlet, J. Ayala, T. M. Coque, I. Kern-Zdanowicz, F. Luzzaro, L. Poirel, and N. Woodford.** 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* **59**:165-74.
14. **M'Zali FH, C. A., Kerr KG, Birkenhead D, and Hawkey PM.** 2000. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the MAST DD test, the double disc and the Etest ESBL. *J Antimicrob Chemother* **45**:881-5.
15. **Navarro, F., E. Perez-Trallero, J. M. Marimon, R. Aliaga, M. Gomariz, and B. Mirelis.** 2001. CMY-2-producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *J Antimicrob Chemother* **48**:383-9.
16. **Paterson, D. L.** 2006. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Infect Control* **34**:S20-8; discussion S64-73.
17. **Paterson, D. L., and R. A. Bonomo.** 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* **18**:657-86.
18. **Qavi, A., S. Segal-Maurer, N. Mariano, C. Urban, C. Rosenberg, J. Burns, T. Chiang, J. Maurer, and J. J. Rahal.** 2005. Increased mortality associated with a clonal outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* **26**:63-8.
19. **Schwaber, M. J., S. Navon-Venezia, K. S. Kaye, R. Ben-Ami, D. Schwartz, and Y. Carmeli.** 2006. Clinical and economic impact of bacteremia with extended- spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* **50**:1257-62.
20. **Spanu, T., M. Sanguinetti, M. Tumbarello, T. D'Inzeo, B. Fiori, B. Posteraro, R. Santangelo, R. Cauda, and G. Fadda.** 2006. Evaluation of the new VITEK 2 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) test for rapid detection of ESBL production in Enterobacteriaceae isolates. *J Clin Microbiol* **44**:3257-62.
21. **Stürenburg E, S. I., Noor D, Laufs R, and Mack D.** 2004. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum beta-lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection. *J Antimicrob Chemother* **54**:134-8.
22. **Thomson, K. S., N. E. Cornish, S. G. Hong, K. Hemrick, C. Herdt, and E. S. Moland.** 2007. Comparison of Phoenix and VITEK 2 extended-spectrum-beta-lactamase detection tests for analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with well-characterized beta-lactamases. *J Clin Microbiol* **45**:2380-4.
23. **Tzelepi, E., P. Giakkoupi, D. Sofianou, V. Loukova, A. Kemeroglou, and A. Tsakris.** 2000. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol* **38**:542-6.
24. **WIP** 2005. Maatregelen tegen overdracht van bijzondere-resistente micro-organismen. [http://www.wip.nl/free\\_content/Richtlijnen/11BRMO.pdf](http://www.wip.nl/free_content/Richtlijnen/11BRMO.pdf)
25. **Woodford, N., S. Reddy, E. J. Fagan, R. L. Hill, K. L. Hopkins, M. E. Kaufmann, J. Kistler, M. F. Palepou, R. Pike, M. E. Ward, J. Cheesbrough, and D. M. Livermore.** 2007. Wide geographic spread of diverse acquired AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in the UK and Ireland. *J Antimicrob Chemother* **59**:102-5.

**Tabel 1. ESBL screen testen**

Micro-organisme	Methodes	Antibiotica	Disklading	Inoculum	Medium	Screening positief indien:	Referenties						
<b>Groep I:</b> <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.  en optioneel  <b>Groep II:</b> <i>Enterobacter</i> spp., <i>Hafnia alvei</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>C. freundii</i> , <i>M. morgani</i> , <i>Providencia</i> spp.	1	bouillon dilutie				ceftazidim	McF 0.5	>1 mg/L	6,8, <a href="http://www.srga.org">www.srga.org</a>				
						cefotaxim	McF 0.5	>1 mg/L					
		agar dilutie				ceftazidim	McF 0.5	>1 mg/L					
						cefotaxim	McF 0.5	>1 mg/L					
	2	disk diffusie					ceftazidim	30 microgr disk	McF 0.5	MH agar of ISA	<= 22 mm	6,8, <a href="http://www.rosco.dk">www.rosco.dk</a> ,	
							cefotaxim	30 microgr disk	McF 0.5		<= 27 mm		<a href="http://www.oxid.com">www.oxid.com</a>
		Oxoid						ceftazidim	10 microgr disk	1:100 van McF 0.5	Iso Sensitest agar (ISA)	<= 20 mm	<a href="http://www.srga.org">www.srga.org</a>
								cefotaxim	5 microgr disk	1:100 van McF 0.5		<= 20 mm	
	3	Vitek I/II or Phoenix								uitslag: verdacht voor ESBL	11,20,22		

**Tabel 2. ESBL confirmatie testen bij isolaten met een positieve screentest**

Micro- organisme	Methode	Antibiotica	Concentratie	Inoculum	Medium	ESBL positief indien:	referenties	
<b>Groep I:</b> <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.	1	Etest ESBL	ceftazidim +/- clav.zuur cefotaxim +/- clav.zuur	McF 0.5	MH of ISA agar	ratio >= 8 of fantoom effect	17, www.srga.org, bijsluiter Etest	
	2	Combinatie disk diffusie test (BD BBL, MAST)	ceftazidim	30 microgr disk	McF 0.5	MH of ISA agar	BD: een toename van de zone >= 5-mm rondom de combinatie ceftazidim en/of cefotaxim met clavulaanzuur ten opzichte van de zone met alleen cefalosporine	6.12
			ceftazidim-clav. zuur	30/10 microgr disk			MAST: een 50% toename van de zone rondom ceftazidim en/of cefotaxim met clavulaanzuur ten opzichte van de zone met alleen cefalosporine	14
			cefotaxim cefotaxim-clav. zuur	30 microgr disk 30/10 microgr disk				
Combinatie disk diffusie test (ROSCO Neo- sensitabs)	ceftazidim	30 microgr tablet	McF 0.5	MH	Rosco: een toename van de zone >= 5-mm rondom de combinatie ceftazidim en/of cefotaxim met clavulaanzuur ten op zichte van de zone met alleen cefalosporine.	www.rosco.dk		
	ceftazidim-clav. zuur	30/10 microgr tablet				-		
	cefotaxim cefotaxim-clav. zuur	30 microgr tablet 30/10 microgr tablet						
<b>Groep II:</b> <i>Enterobacter</i> spp., <i>Hafnia alvei</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>C. freundii</i> , <i>M. organii</i> , <i>Providencia</i> spp.	1	Etest cefepim	cefepim +/- clav.zuur	McF 0.5	MH of ISA agar	ratio >= 8 of fantoom effect	21	
	2	Combinatie disk diffusie test (ROSCO Neo- sensitabs)	cefepim	30 microgr tablet	McF 0.5	MH of ISA agar	Rosco: een toename van de zone >= 5-mm rondom de combinatie cefepim met clavulaanzuur ten opzichte van de zone met alleen cefepim	www.rosco.dk
cefepim-clav. zuur			30/10 microgr tablet					