



Verein für **medizinische Qualitätskontrolle**
Association **pour le contrôle de Qualité medical**
Associazione **per il controllo di qualità medico**

Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2017-2

Probe A: Wunde / Wundinfekt inguinal

Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung

Die Identifizierung des *Staphylococcus lugdunensis* ist fast allen Teilnehmern gelungen; die Koloniemorphologie ist ähnlich zu derjenigen von *Staphylococcus aureus*. *S. lugdunensis* gehört zu den Koagulase-negativen Staphylokokken, da er keine freie Koagulase bildet, d.h. das „Röhrchenplasma“ ist negativ. Er besitzt allerdings das Fibrinogen-bindende Protein und kann in Schnelltesten für *S. aureus*, welche neben dem Protein A auch das Fibrinogen-bindende Protein nachweisen, teilweise positiv reagieren (van Griethuysen A., M. Bes, J. Etienne, R. Zbinden, J. Kluytmans. 2001. International multicenter evaluation of latex agglutination tests for identification of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 39:86-89. Die positiven Ornithindecaboxylase (ODC)- und PYR-Reaktionen sind für *S. lugdunensis* typisch. Vitek2 und MALDI-TOF konnten das Isolat gut identifizieren.

Unser Stamm war für alle üblichen Antibiotika empfindlich. Die Testung der Methicillin-Resistenz mit Oxacillin kann falsch resistente Resultate verursachen, aber es ist jetzt üblich, die Methicillin-Resistenz bei Staphylokokken mit der Testung des Cefoxitin-Blättchens zu erfassen. Einige Teilnehmer haben weder Cefoxitin noch Oxacillin getestet. Früher war dies sicher gerechtfertigt, weil wir über Jahrzehnte keine Methicillin-resistenten *S. lugdunensis* in der Schweiz hatten; wir haben aber inzwischen einzelne *mecA*-Gen positive Stämme gesehen. Bei Staphylokokken muss Cefoxitin zwingend getestet werden. Wir haben dieses Mal bei fehlender Testung keinen Abzug gegeben, weil die Methicillin-Resistenz bei *S. lugdunensis* noch selten ist. Wie schon im Kommentar des letzten Ringversuchs besprochen, haben sich die Hemmhöfe für Cefoxitin bei Koagulase-negativen Staphylokokken geändert. Mit 29mm war unser Stamm für Cefoxitin empfindlich. Die Empfindlichkeit für Cephalosporine / β -Lactam-Antibiotika kann von Cefoxitin abgeleitet werden. Ceftazidim bildet hier eine Ausnahme, es sollte bei Infektionen mit Staphylokokken nicht verabreicht werden. Dieses Mal haben wir die Angabe von Ceftazidim noch gelten lassen.

Penicillin sowie Ampicillin waren bei unserem Stamm mit 33 mm 'empfindlich' und zeigten einen auslaufenden Rand; siehe unten Bilder von EUCAST 7.1. 2017. Das Schweizerische Komitee für das Antibiogramm schlägt aber den Laboratoren vor, den Rand des Penicillin-Hemmhofes bei allen Staphylokokken zu beurteilen; bei *Staphylococcus saprophyticus* soll aber der Ampicillinhemmhof gemessen werden, weil nach unserer jahrelangen Erfahrung hier die Beurteilung des auslaufenden Randes schwierig ist. Die Cefinase war negativ. Für Ampicillin und Penicillin existieren keine Intermediärzonen, da entweder eine β -Lactamase vorhanden ist oder nicht. Für 'intermediär' gab es deshalb keine Punkte.



Auslaufende Zone mit Durchmesser ≥ 26 mm

→ Empfindlich berichten



Scharfer Rand mit Durchmesser ≥ 26 mm

→ Resistent berichten

Norfloxacin dient nur als Screen für die Chinolonresistenz. Ist Norfloxacin 'empfindlich' können Ciprofloxacin, Levofloxacin, Ofloxacin und Moxifloxacin als 'empfindlich' berichtet werden; bei einer Norfloxacin-Resistenz sollten die einzelnen Antibiotika aber jeweils getestet werden.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	61
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Keine Angabe	1

Probe B: Trachealsekret / Ventilator assoziierte Infektion

Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung

Bei unserem Erreger handelte es sich um *Serratia marcescens*, welche oft mit Ventilator-assoziierten Pneumonien einhergeht; *S. marcescens* ist ein typischer Spitalkeim, welcher auch nosokomiale Ausbrüche verursachen kann. Sie kann von *Serratia liquefaciens* durch die OF-Xylose unterschieden werden, welche bei *S. marcescens* oxidativ erscheint. Api 20 E, Vitek2 und MALDI-TOF ergaben eine gute Identifikation. Unser Keim konnte von fast allen Teilnehmern identifiziert werden.

Die Resistenzprüfung war für *S. marcescens* typisch. Augmentin, Ampicillin, Cefuroxim, Cefoxitin und Colistin waren resistent, dabei handelt es sich um eine intrinsische Resistenz (EUCAST intrinsic resistance and exceptional phenotypes, Expert Rules version 3.1, 26 September 2016 Seite 4). *S. marcescens* besitzt eine Beta-Lactamase vom Typ AmpC. Bei einer Behandlung mit Piperacillin/Tazobactam oder Cephalosporinen kann es trotz in vitro Empfindlichkeit zu einem Therapieversagen kommen. Sind 3. Generation Cephalosporine und / oder Piperacillin/Tazobactam bereits resistent, kann es unter Monotherapie mit Carbapenemen (bei zusätzlichem Porinverlust, zuerst bei Ertapenem ersichtlich) zu einer Resistenzentwicklung kommen.

Für Amikacin und Tobramycin haben wir alle Werte gelten lassen. *S. marcescens* produziert ein chromosomales AAC(6')-Ic Enzym, welches die Aminoglycosid-Aktivität reduziert. Ausnahmen sind Gentamicin und Streptomycin (EUCAST expert rules 2.0 von 2011 enthalten diese Information). EUCAST ist daran, die Frage der Aminoglykoside noch besser zu beschreiben.

Identifikation	Anzahl
<i>Serratia marcescens</i>	60
<i>Burkholderia cepacia</i>	1
Gram negative Stäbchen	1
Keine Angabe	1

Probe C: Blutkultur / Infekt nach Darmeingriff

Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

In dieser Blutkultur bei Infekt nach einem Darmeingriff konnte *Bacteroides fragilis* isoliert werden. *B. fragilis* ist das im Labor am häufigsten isolierte anaerobe Gram-negative Stäbchen. Es zeichnet sich durch Wachstum auf gallehaltigem Nährboden (resistent gegen Galle) und eine positive Aesculin-Reaktion aus. Die Katalase ist positiv und die Indol-Reaktion negativ. *B. fragilis* ist auf Vancomycin (5µg), Kanamycin (1000µg) sowie Colistin (10µg) resistent. Diese diagnostische Resistenz weist auf die *B. fragilis*-Gruppe hin. Kommerzielle Systeme und auch MALDI-TOF erlaubten eine gute Diagnose.

B. fragilis zeigt meistens eine Empfindlichkeit gegenüber Augmentin und Metronidazol.

Identifikation	Anzahl
<i>Bacteroides fragilis</i>	54
<i>Bacteroides fragilis</i> Gruppe	2
<i>Bacteroides species</i>	1
<i>Fusobacterium varium</i>	1
Gram negative Stäbchen	4
Keine Angabe	1

Probe D: Stuhl / Diarrhoe
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei unserem Stamm handelte es sich um eine *Shigella sonnei* (Shigella Serogruppe D). Shigellen werden fast immer nur aus Stuhl isoliert, es existieren aber auch zahlreiche Berichte über Shigellen-Bakteriämien mit und ohne begleitenden Durchfall; dies kann vor allem bei immunsupprimierten Patienten der Fall sein (Scand J Infect Dis 2007; 39: 170-3).

Shigellen kommen in der Schweiz nur nach Reisen vor (Ausnahme: verunreinigtes Trinkwasser nach Wasserrohrbruch). Eine Shigellen-Infektion kann durch eine gute Trinkwasser-, Lebensmittel- und Händehygiene vermieden werden, da die Bakterien mit dem Stuhl ausgeschieden und auf diese Weise direkt ("fäkal-oral") oder indirekt (über Trinkwasser oder Lebensmittel) übertragen werden. Shigellen benötigen im Gegensatz zu Salmonellen nur eine niedrige Infektionsdosis von ca. 100 Bakterien. Daher sind zur Eindämmung von Shigellen-Ausbrüchen besonders strikte Hygienemassnahmen erforderlich

Verdächtige Kolonien weisen auf XLD-Agar folgende Eigenschaften auf: keine Verfärbung des ursprünglich roten Agars in Richtung gelb, keine Schwarzverfärbung der Kolonien (H₂S negativ), Oxidase negativ. Sie sind Urease negativ (Abgrenzung von *Proteus* spp., *Morganella* spp. und *Providencia* spp.). Bei entsprechendem Verdacht muss dieser mit biochemischen und serologischen Methoden bestätigt werden. Dabei kann insbesondere die Abgrenzung von enteroinvasiven Stämmen von *Escherichia coli* mitunter schwierig sein, da Shigellen genetisch von *E. coli* nicht unterschieden werden können. Deshalb können die Shigellen mit der 16S rRNA Gen Sequenzierung nicht von *E. coli* unterschieden werden. Bei MALDI-TOF werden vorallem Bestandteile der Ribosomen analysiert, so dass auch hier die Abgrenzung von Shigellen und *E. coli* nicht gelingt.

Die Identifikation mit Vitek2 ergab mit einer Wahrscheinlichkeit von 99% *Shigella sonnei*. Api 20 E erreichte eine Wahrscheinlichkeit von 68.8% und einen T-Wert von 1.0 für *Shigella* species. Beide Systeme gaben den Hinweis, das Resultat serologisch zu bestätigen.

Identifikation	Anzahl
<i>Shigella sonnei</i>	58
<i>Shigella</i> species	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1
<i>Bacillus</i> species	1
Keine Angabe	1

Probe E: Mittelstrahlurin / Harnwegsinfekt
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Aerococcus sanguinicola kann wie auch *Aerococcus urinae* ein Verursacher von Harnwegsinfektionen sein. Da beide gegenüber Ciprofloxacin resistent sind, können sie sich bei dieser Therapie anreichern und gelegentlich ins Blut eingeschwemmt werden und eine Sepsis (auch eine Endocarditis) verursachen. Im Gegensatz zu *Aerococcus viridans* sind beide Penicillin/Ampicillin empfindlich und können auch so von *A. viridans* unterschieden werden.

Die Identifikation ist den meisten Teilnehmern gelungen. Bei *A. sanguinicola* handelt es sich um Katalase-negative, Gram-positive Kokken in Tetraden. Er ist Pyrrolidonylarylamidase (PYR), β -Glucuronidase (β -Gluc) und Leucin-Aminopeptidase (LAP) positiv. *A. urinae* ist PYR negativ, β -Gluc und LAP positiv; *A. viridans* ist nur PYR positiv, aber LAP und β -Gluc negativ.

Vitek2 identifizierte unseren Stamm als *A. viridans*, weil *A. sanguinicola* noch nicht in der Datenbank enthalten ist. Die Empfindlichkeit auf Ampicillin weist auf die Fehldiagnose hin, weil *A. viridans* Ampicillin resistent ist. MALDI-TOF konnte den Stamm gut identifizieren.

Identifikation	Anzahl
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	41
<i>Aerococcus urinae</i>	2
<i>Aerococcus viridans</i>	13
<i>Aerococcus species</i>	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Aerococcus sanguis</i>	1
Keine Angabe	1

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Resistenzprüfung der Probe A

Resistenzprüfung der Probe B

