



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

Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2019-1

Probe A: Mittelstrahlurin / Harnwegsinfekt

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

Die in dieser Probe enthaltene *Escherichia coli* konnte von allen Teilnehmern problemlos identifiziert werden. *E. coli* ist der häufigste Erreger unkomplizierter Harnwegsinfektionen.

Bei unserem Stamm handelte es sich um eine *E. coli* mit ESBL (Extended-Spectrum Beta-Lactamase). Es waren aussergewöhnlich grosse Hemmhöfe sichtbar, was die Diagnose etwas erschwerte. Nichtsdestotrotz war zwischen Augmentin/Cefepim, Augmentin/Cefpodoxim und Augmentin/Ceftriaxon eine leichte Synergie sichtbar. Die ESBL-Abklärung zeigte eine Differenz von >5mm bei den Hemmhöfen von Cefprozidim mit/ohne Clavulansäure, was die ESBL somit bestätigte. Molekularbiologisch konnte bei unserem Stamm eine Extended-Spectrum Beta-Laktamase vom Typ ESBL-SHV nachgewiesen werden.

Für Amoxicillin/Clavulansäure und Cephalosporine der 2./3. Generation haben wir alle Resultate akzeptiert. Es ist darauf hinzuweisen, dass laut EUCAST keine Anpassung der Resistenz vorzunehmen ist, d.h. die Werte werden so berichtet wie sie abgelesen werden. Einige Infektiologen möchten aber, dass die mikrobiologischen Laboratorien bei ESBL diese Antibiotika resistent angeben, weil bei kritischen Infektionen ein Therapieversagen befürchtet wird. Bei Cephalosporinen der 4. Generation haben wir nur empfindlich akzeptiert, weil hier die Anpassung auf resistent nicht korrekt ist.

Um die volle Punktzahl bei der Bewertung der Resistenz zu erreichen, musste mindestens ein 3. Generation Cephalosporin oder die Bemerkung ESBL angegeben werden. War dies nicht der Fall, mussten wir einen Abzug machen, weil bei *Enterobacteriaceae* auf jeden Fall immer ESBL gesucht werden muss.

Identifikation

Escherichia coli

Anzahl

61

Probe B: Oberflächlicher Wundabstrich / Wundinfekt am Finger

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

In dieser oberflächlichen Wunde bei Wundinfekt am Finger konnte *Staphylococcus lugdunensis* isoliert werden. Die Diagnose wurde von allen Teilnehmern problemlos gestellt.

Bei *S. lugdunensis* handelt es sich um einen Koagulase-negativen Staphylokokken, welcher keine freie Koagulase besitzt, d.h. das ‚Röhrchenplasma‘ ist negativ. Wie bei *Staphylococcus aureus* ist das Fibrinogen-bindende Protein hingegen vorhanden. Die kommerziellen Identifikationsmethoden, sowie auch MALDI-TOF, können *S. lugdunensis* sehr gut identifizieren. Eine positive Ornithindecaboxylase- und PYR-Reaktion sind dabei ausschlaggebend.

S. lugdunensis hat seinen Namen von der Stadt Lyon (lateinisch Lugdunum), wo er erstmals beschrieben wurde. Es handelt sich um einen normalen Hautkeim, der oft in der Leistengegend vorkommt; durch interventionelle kardiologische Verfahren kann *S. lugdunensis* in die Blutbahn gelangen. Bei einer Bakteriämie mit *S. lugdunensis* muss eine Endocarditis ausgeschlossen werden (Infection. 2008; 36:314-21).

Unser Stamm zeigte eine Methicillin-Resistenz, welche mit dem Cefoxitin-Blättchen gut erfasst wurde. Die Testung der Methicillin-Resistenz mit Oxacillin kann falsche Resultate erzeugen, weil auch Methicillin-empfindliche *S. lugdunensis* eine Oxacillin-Resistenz zeigen können (analog zu *mecA* negativen *Staphylococcus saprophyticus*). Wir hatten dies in der Besprechung 2017-2 schon erwähnt. Einige Teilnehmer haben weder Cefoxitin noch Oxacillin getestet. Dies ist in der heutigen Zeit nicht mehr angebracht, da wir inzwischen einzelne, *mecA*-Gen positive *S. lugdunensis* Stämme

gesehen haben. Wurden weder Cefoxitin, Oxacillin noch Augmentin angegeben, gab es einen Abzug.

Achtung: für Ciprofloxacin gelten für *S. aureus* (≥ 21 mm für ‚sensibel‘) und Koagulase-negative Staphylokokken (≥ 24 mm für ‚sensibel‘) andere Hemmhofdurchmesser. Wir haben für Ciprofloxacin und Levofloxacin alle Werte gelten lassen, da sich die Hemmhöfe nahe am Breakpoint befinden. Ausserdem wird bei EUCAST für Ciprofloxacin die Notiz ‚HE‘ High exposure for agent erwähnt, weil die angegebenen klinischen Breakpoints nur bei der höheren Dosierung gelten.

Bei unserem Stamm zeigte sich eine induzierbare Makrolid/Lincosamid/Streptogamin-Resistenz (MLS). Dies bedeutet, dass Makrolide unwirksam sind. Laut EUCAST soll in diesem Fall Clindamycin als ‚resistent‘ berichtet werden. Es kann allenfalls für eine Kurzzeit-Therapie von leichten Haut- und Weichteilinfektionen wirksam sein.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	61

Probe C: Trachealsekret / Cystische Fibrose
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Es handelte sich um einen Stamm des *Burkholderia cepacia*-Komplexes. Die Sequenzierung der 16S-RNA ergab *Burkholderia stabilis*. Alle Angaben einer *Burkholderia* species erhielten die volle Punktzahl.

Burkholderia spp. kommen v.a. bei Lungeninfektionen von Patienten mit Mukoviszidose (Clin Infect Dis 2003; 37:780-5) und chronischer Granulomatose (J Clin Microbiol 1975; 1: 425-8) vor; es handelt sich um Umweltkeime in einer feuchten Umgebung (Emerg Infect Dis 2007; 13:458-61), welche von Patient zu Patient (Lancet 1990; 336:1094-6) sowie von kontaminierten Gegenständen (J Clin Microbiol 1996; 34:584-7) auf Patienten übertragen werden können. Sie erhöhen die Morbidität und Letalität bei den genannten Patientengruppen. Sie sind multiresistent und sind *in vitro* am ehesten empfindlich auf Fluorochinolone, Cotrimoxazol, Ceftazidim, Imipenem und Meropenem, sowie Minocyclin (Chest 2005; 128:2336-46, Antimicrob Ag Chemother 2007; 51:1085-8). Bitte beachten Sie bei EUCAST die Bemerkungen zu der Resistenztestung von *B. cepacia* Komplex. Im Moment gibt es keine Empfehlung zur Testung. Wir testen in unserem Zentrum verschiedene Antibiotika und besprechen die Resultate mit den Klinikern.

Die Verwendung von Selektivmedien (PC-Agar, OFBPL-Agar, BCSA-Agar) führt zu signifikant höheren Isolationsraten (J Clin Microbiol 1997; 35:614-9; und 1999; 37:1004-7). Die Spezies-Identifikation mit kommerziellen Systemen ist häufig unmöglich (J Clin Microbiol 2002; 40:1743-8), so dass Sequenzierung angeschlossen werden muss.

Unser Stamm bildete auf SBA graue Kolonien. Auf MacConkey Agar zeigten sich nach 3 Tagen dunkelrote (Laktose-Oxidation) und auf CEPA-Agar (*Burkholderia cepacia* Agar Base, Oxoid) rosa Kolonien. API 20NE (0057577) ergab «*B. cepacia*» (= *B. cepacia*-Komplex) mit 95.1% Wahrscheinlichkeit und einem T-Wert von 0.85; Vitek 2 diagnostizierte «*B. cepacia*-Gruppe».

Identifikation	Anzahl
<i>Burkholderia cepacia</i>	12
<i>Burkholderia cepacia</i> group	11
<i>Burkholderia cepacia</i> -Komplex	22
<i>Burkholderia stabilis</i>	13
<i>Burkholderia stabilis</i> Genomovar IV	1
<i>Burkholderia</i> species	1
<i>Ralstonia pickettii</i>	1

Probe D: Blutkultur / rupturiertes Bauchaneurysma
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Clostridium tertium wächst – trotz des Namens – auch aerob und kommt typischerweise im Blut von Patienten mit hämatologisch-onkologischen Krankheiten vor. *Lactobacillus* ist eine typische Fehldiagnose; die starke Gasbildung von *C. tertium* sowie die gute Beweglichkeit erlauben die Unterscheidung. Die Diagnose wie z.B. AML sollte den Mikrobiologen daran denken lassen.

C. tertium zeigte eine Ansäuerung des ganzen TSI-Röhrchens (Gruppe 1); folgende Zucker wurden fermentiert: Glucose, Saccharose, Maltose, Xylose, Mannose, Fructose. Aeskulin und Nitrat waren positiv; die Katalase, Urease und der CAMP-Test waren negativ. Es war eine Gasbildung vorhanden und die Beweglichkeit war positiv (trüb im MIO-Röhrchen). Mittels Maldi-TOF konnte *C. tertium* gut identifiziert werden.

Identifikation	Anzahl
<i>Clostridium tertium</i>	55
<i>Lactobacillus species</i>	1
<i>Microbacterium species</i>	1
Gram-labile Stäbchen	1
Gram-negative Stäbchen	1
Gram-positive Stäbchen	2

Probe E: Gewebe / Polytrauma und Verbrennungen
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Aus dieser Gewebeprobe konnte *Ochrobactrum intermedium* isoliert werden. Das Genus besitzt momentan 13 Spezies, wovon 2 Spezies (*O. anthropi* und *O. intermedium*) von klinischer Bedeutung sein können (Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, S. 823-724). Es handelt sich um Gram-negative nichtfermentierende Stäbchen, welche Oxidase positiv und Indol negativ sind.

Ochrobactrum spp. sind nahe verwandt und mit Maldi-TOF und 16S Sequenzierung schwierig abzugrenzen. *O. intermedium* ist im Gegensatz zu *O. anthropi* Colistin resistent. Was auch bei unserem Stamm der Fall war. Beide Spezies gehören zur Familie der *Brucellaceae* und sind nahe mit *Brucella* spp. verwandt und können ähnliche Beschwerden hervorrufen (Frontiers in Medicine/www.frontiersin.org; July 2018/Volume 5/Article 205).

Es muss berücksichtigt werden, dass *Brucella melitensis* mit schnellen Identifikationssystemen fälschlicherweise als *O. anthropi* identifiziert werden könnte (IDCases 2018;11: 74-76).

Identifikation	Anzahl
<i>Ochrobactrum intermedium</i>	44
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	8
<i>Ochrobactrum species</i>	2
<i>Achromobacter species</i>	1
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Kerstersia gyiorum</i>	1
<i>Pseudomonas oryzae</i>	1
Gram-negative Stäbchen	1
Gram-positive Kokken	1
<i>Coccobacillus Gram-positiv</i>	1

Allgemeine Neuerung bei EUCAST: ATU (Area of Technical Uncertainty) Es gibt keine Intermediärzone mehr.

Wie in der letzten Besprechung bereits mitgeteilt, hat EUCAST **I** für empfindlich bei erhöhter Exposition/Dosierung des Antibiotikums eingeführt. Die Pufferzone der ungenauen Messung wird nicht mehr berücksichtigt. Nichtsdestotrotz hat EUCAST bei einigen Antibiotika eine Area of Technical Uncertainty **ATU** definiert. Wir verweisen auf die Stellungnahme des Schweizerischen Antibiotikogramm-Komitees (Swiss Antibiotogram Committee), welche in der letzten Besprechung beigelegt wurde. SAC hat beschlossen, die ATU den Klinikern nicht als solche mitzuteilen, sondern bei unsicheren Messungen im ATU Bereich eine andere Methode anzuwenden. EUCAST (Version 9.0 vom 1.1.2019, Seite 4) bietet aber auch die Möglichkeit, die Beurteilung zu verschärfen, d.h. dass ein an sich empfindliches Resultat **S** als **I** berichtet wird, will heissen empfindlich bei einer höheren Dosierung.

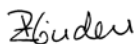
SAC empfiehlt bei Enterobacterales für Amoxicillin/Clavulansäure die Grenze für empfindlich für Urin und systemische Isolate bei 19 mm zu legen; bei unsicheren Messwerten (**ATU**) von 19 und 20 mm kann entweder eine MHK bestimmt werden oder aber das an sich empfindliche Resultat als **I** (empfindlich bei erhöhter Dosierung/Exposition) berichtet werden. Bitte beachten Sie, dass auf bei einem so angepassten Resultat für Augmentin auch Ampicillin allenfalls angepasst werden muss. Es kann nicht sein, dass Augmentin mit **I** berichtet wird und Ampicillin als **S**. Bei Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin sind für Enterobacterales ebenfalls ATU definiert, aber diese liegen im Bereich, welche sowieso als **I** berichtet werden, so dass unseres Erachtens eine Verschärfung von **I** auf **R** nicht notwendig sein sollte. Dies wird aber nächsten Monat vom SAC noch diskutiert.

Hingegen sind bei Piperacillin/Tazobactam für *Pseudomonas aeruginosa* die empfindlichen Messwerte von 18 und 19 mm im **ATU**, was eine Zusatzmethode oder eine Resultatanpassung auf **I** notwendig macht. Bei *Staphylococcus epidermidis* ist für Cefoxitin ein ATU definiert worden, nämlich 25-27 mm. Dies war dringend notwendig, weil der Grenzwert von 25 mm viele falsch empfindliche Resultate erzeugt hat. Wir wenden schon seit Jahren bei diesen Messwerten eine andere Methode an oder berücksichtigen die Messwerte von Moxalactam, welches aber bei EUCAST nicht vorgesehen ist.

Bei Staphylokokken reichen für Amikacin die Hemmhöfe von 15-19 vom empfindlichen bis in den resistenten Bereich. Wir messen in unserem Labor Kanamycin und übertragen die Interpretation von Kanamycin auf Amikacin. Wir werden diese Thematik ebenfalls im SAC besprechen und den schweizerischen Laboratorien mitteilen.

In der nächsten SAC-Sitzung wird ebenfalls besprochen, ob unsere frühere schweizerische SAC-Empfehlung weiterhin gilt: bei Staphylokokken für die Glykopeptidempfindlichkeit Teicoplanin testen und für *S. aureus* und *S. lugdunensis* 16 mm (wie bei Enterokokken) und bei Koagulase-negative Staphylokokken 14 mm als Grenze ansehen, damit nicht in jedem Falle eine MHK gemacht werden muss.

Mit freundlichen Grüssen

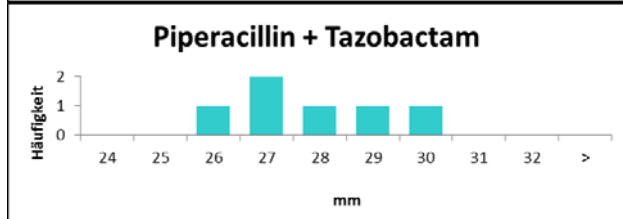
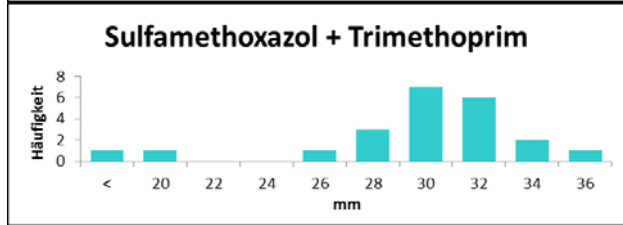
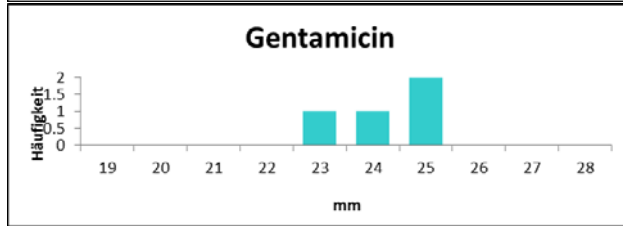
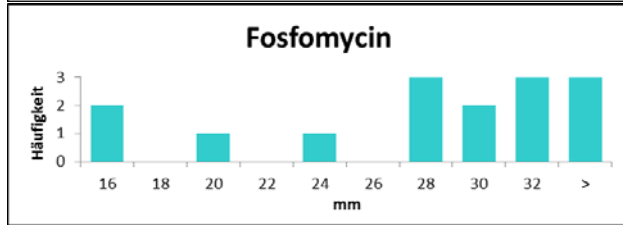
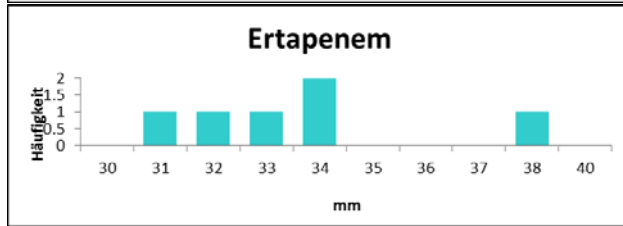
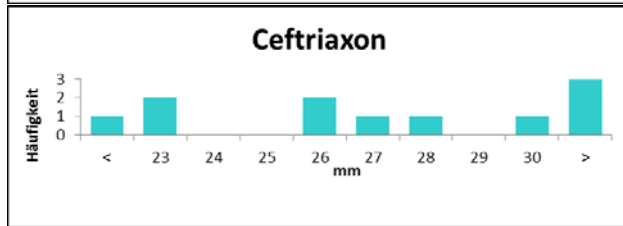
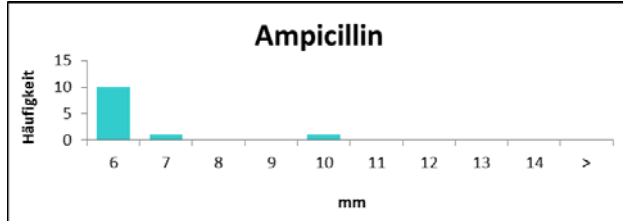
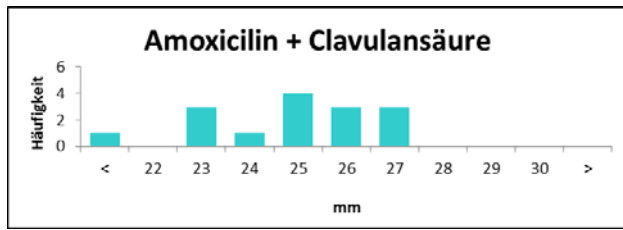


Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Resistenzprüfung Probe A



Resistenzprüfung Probe B

