



## Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2021-1

**Probe A: Mittelstrahlurin / Harnwegsinfekt**

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

Bei diesem Harnwegsinfekt wurde ein Gram-negatives Stäbchen des *Citrobacter freundii* Komplexes isoliert. Die Differenzierung zwischen *C. freundii* und *Citrobacter braakii* ist schwierig. Beide Spezies gehören aber dem *C. freundii* Komplex an. Alle Teilnehmer konnten den Stamm dem *C. freundii*-Komplex zuordnen, was wir als Identifikation akzeptiert haben.

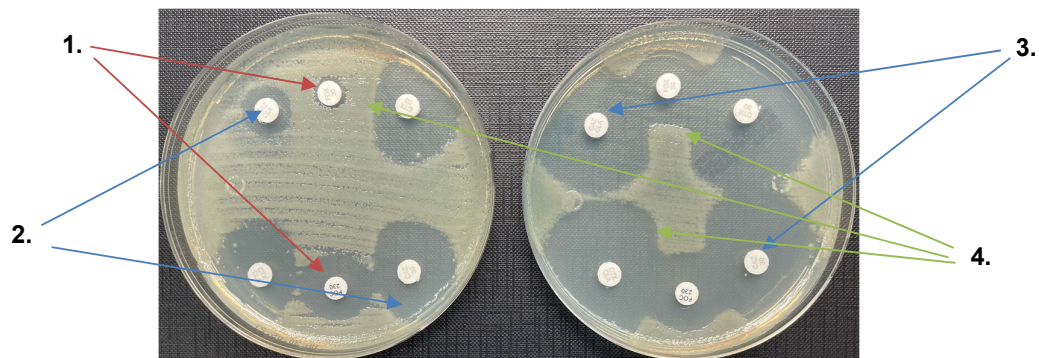
Durch das natürlicherweise chromosomal vorhandene *AmpC* bei *C. freundii* kann es bei einer Behandlung mit 3. Generations-Cephalosporinen trotz in vitro Empfindlichkeit zu einem Therapieversagen kommen. Dies ist auch bei einer länger andauernden Therapie mit Piperacillin/Tazobactam oder Cefepim (4. Generations-Cephalosporin) möglich. Deshalb ist es sehr wichtig, dass der Resistenzmechanismus AmpC auf dem mikrobiologischen Bericht angegeben und der Einsender auf diese Problematik hingewiesen wird. Der Resistenz-Mechanismus AmpC musste bei JA angekreuzt sein, um richtig bewertet zu werden.

Unser Stamm zeigte bereits eine Resistenz gegen einige 3. Generation-Cephalosporine, was für ein überexprimiertes (genau genommen dereprimiertes) *ampC* spricht. Wir haben für Cefotaxim, Ceftazidim, Ceftriaxon wie auch für Piperacillin/Tazobactam alle Werte akzeptiert. Unter längerer Therapie mit Carbapenemen (insbesondere bei Therapie mit Ertapenem) kann es bei *C. freundii* Komplex, aber auch bei *Enterobacter cloacae* Komplex sehr schnell zu einer Resistenzentwicklung kommen, weil zusätzlich Porinmutationen auftreten, welche die Carbapeneme nicht mehr durch die äussere Zellmembran durchlassen.

Fosfomycin wird bei Angabe der MHK akzeptiert, andernfalls gibt es einen Punktabzug.

Nitrofurantion ist für *Escherichia coli* bei unkomplizierten HWI zulässig. Für *C. freundii* ist Nitrofurantoin nicht adäquat und wurde mit einem Abzug bewertet.

Unser Stamm besitzt keine Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). Die unten aufgeführte Darstellung zeigt die ESBL- bzw. AmpC-Abklärung auf Müller-Hinton-Agar mit/ohne Cloxacillin im Agar:



Müller-Hinton-Agar ohne Cloxacillin    MH-Agar mit Cloxacillin

1. Cefoxitin-Blättchen (oben Mitte) und Cefoxitin mit Cloxacillin (unten Mitte) auf Müller-Hinton-Agar ohne Cloxacillin. Eine Hemmhofdurchmesser-Differenz von  $\geq 4$  mm ist sichtbar, diese Tatsache spricht für den AmpC-Resistenzmechanismus.
2. Ceftazidim mit Clavulansäure (oben links, CAZ/CLA) und Ceftazidim ohne Clavulansäure (unten rechts, CAZ) auf Müller-Hinton-Agar. Eine Hemmhofdurchmesser-Differenz von  $\geq 5$  mm ist sichtbar, aber **ACHTUNG** der Durchmesser von CAZ ist grösser als derjenige von CAZ/CLA. Würde es sich um eine ESBL handeln, wäre es umgekehrt, d.h. der CAZ-Durchmesser wäre mindestens 5 mm kleiner als derjenige von CAZ/CLA.

3. Hemmhöfe von CAZ/CLA (oben) und CAZ (unten) auf Müller-Hinton-Agar **mit** Cloxacillin. Die Hemmhofdurchmesser unterscheiden sich nicht oder nur gering (<5 mm). Das AmpC wird durch Cloxacillin im Agar gehemmt. Dadurch wird erst korrekt auf diesem Agar mit Cloxacillin sichtbar, ob unser Stamm eine Extended Spectrum Beta-Lactamase besitzt; dies ist bei unserem Stamm nicht der Fall.
4. Abflachung der Hemmhöfe, welche bei AmpC-Keimen oft erkennbar ist. Bei diesen Keimen sollte eine ESBL-Abklärung mit dem Cefepim und Cefepim/Clavulansäure-Blättchen durchgeführt werden, sofern kein Müller-Hinton-Agar mit Cloxacillin zur Verfügung steht.

Identifikation	Anzahl
<i>Citrobacter freundii</i>	9
<i>Citrobacter freundii</i> Gruppe	1
<i>Citrobacter braakii</i>	39
<i>Citrobacter freundii</i> Komplex	7
<i>Citrobacter freundii/braakii</i>	2

**Probe B: Blutkultur / Endocarditis**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung**

*Streptococcus mitis/oralis* als Erreger einer Endocarditis bereitete einige Schwierigkeiten bei der Identifikation. *S. mitis*, *S. mitis* Gruppe, *S. oralis* und *S. mitis/oralis* Gruppe wurde mit der vollen Punktzahl bewertet. *Streptococcus infantis* (beste Nennung in der Sequenzierung des recA Gens gemäss Zbinden A, Köhler N, Bloemberg GV. recA-based PCR assay for accurate differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other viridans streptococci. J. Clin. Microbiol. 2011. 49:523-7) gehört auch der *S. mitis* Gruppe. Alle anderen *Streptococcus* spp. Nennungen erhielten einen Punkt.

Vergrünende Streptokokken besitzen eine natürliche niedrige Resistenz gegen Aminoglycoside; deshalb ist eine Monotherapie mit Aminoglycosiden ungenügend. Es besteht aber eine Synergie zwischen Aminoglycosiden und Penicillinen, wenn der Stamm keine high-Level-Aminoglycosid Resistenz aufweist. Gentamicin kann als Screening für eine high-Level Resistenz getestet werden. Eine MHK von  $\leq 128$  mg/L spricht für eine low-Level Resistenz. Ist die MHK  $>128$  mg/L liegt eine high-Level Resistenz vor und es kommt keine Synergie mit Penicillinen und/oder Glycopeptiden zustande. Für Gentamicin haben wir alle Angaben akzeptiert. Allerdings ergab die Angabe von Gentamicin high level als Resistenzmechanismus einen Abzug.

Unser Stamm war gegen Penicillin und Ampicillin resistent; da vergrünende Streptokokken keine Beta-Laktamasen haben, ist Amoxicillin/Clavulansäure ebenfalls resistent. Sogar Ceftriaxon war resistent. Meropenem und Imipenem waren mit einer MHK von 1.5 mg/L als 'sensibel' zu berichten. Penicillin kann als Screening für eine Beta-Lactam Resistenz benutzt werden. Ist Penicillin 'sensibel' (Penicillin-Blättchen 1IU  $\geq 18$  mm oder MHK für Penicillin  $\leq 0.25$  mg/L), so können Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Piperacillin/Tazobactam, Cefuroxin i.v., Ceftriaxon, Cefotaxim, Cefepim und Carbapeneme als empfindlich berichtet werden (siehe EUCAST Clinical Breakpoint Tables Version 11.0, Seite 56/57). Im Falle eines resistenten Penicillin-Screening-Resultates muss das jeweilige Antibiotikum aber einzeln getestet werden und eine Ableitung von Penicillin ist nicht zulässig.

Für Linezolid, Tigecyclin und Bactrim existieren ebenfalls keine Grenzwerte. Wir haben diese Antibiotika nicht bewertet.

Die Ankreuzung mit JA bei 'kein spezieller Mechanismus' bewerteten wir mit 0.5 Punkten. Es gab allerdings keinen Abzug, wenn dies nicht angegeben wurde. Die Angabe aller anderen Mechanismen (mit Ausnahme des Ankreuzens mit JA des Gentamicin high-Level) wurde nicht bewertet. Bitte beachten Sie, dass die Resistenzmechanismen auch angegeben werden müssen. Dies war eine frühere Vorgabe von der Schweizerischen Gesellschaft für Mikrobiologie, an welche wir uns halten möchten.

Identifikation	Anzahl
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	14

<i>Streptococcus mitis</i>	4
<i>Streptococcus oralis</i>	18
<i>Streptococcus mitis</i> Gruppe	9
<i>Streptococcus mitis/oralis</i> Gruppe	5
<i>Streptococcus infantis</i>	1
<i>Streptococcus intermedius</i>	2
<i>Streptococcus salivarius</i>	1
<i>Streptococcus species</i>	1
<i>Streptococcus viridans</i>	2
Vergrünende Streptokokken	1

**Probe C:** oberflächlicher Wundabstrich / Katzenbiss  
**Anforderung:** Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei unserem Stamm handelte es sich um *Pasteurella multocida*, einem Gram-negativen Stäbchen, das häufig aus Biss- und Kratzwunden von Hunden und Katzen isoliert wird, welche diesen Keim im Oropharynx tragen. *P. multocida* kann Wundinfektionen, Sepsis, Meningitis und selten eine Pneumonie auslösen. Meistens ist eine rasche antibiotische Therapie nötig, da die Infektion nach einer Bisswunde schnell fortschreiten kann, was auch auf andere vorhandene Bakterien (Anaerobier und *Capnocytophaga canimorsus* bei Hundebissen) beruhen kann.

*P. multocida* ist positiv für Oxidase (verzögert), Katalase, Indol, Ornithindecaboxylase (ODC), wächst nicht oder schlecht auf MacConkey-Agar und kann durch einige biochemische Tests von *Pasteurella canis* (Mannitol negativ), *Pasteurella dagmatis* (Urease positiv, ODC negativ), *Pasteurella stomatis* (Urease negativ, ODC negativ) getrennt werden. Sowohl Vitek2 als auch MALDI-TOF erzielten die korrekte Diagnose, in der Datenbank von Api20NE ist *P. multocida* ebenfalls enthalten.

Augmentin ist bei Hunde- und Katzenbissen die Therapie der Wahl, da in solchen Wunden auch Beta-Laktamase bildende Anaerobier vorkommen können. *P. multocida* ist Augmentin empfindlich. Inzwischen hat auch EUCAST Hemmhof-Grenzwerte für die Resistenztestung von *P. multocida* publiziert.

Identifikation	Anzahl
<i>Pasteurella multocida</i>	57
<i>Pasteurella species</i>	1

**Probe D:** Vaginalabstrich / Schwangerschaft  
**Anforderung:** Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei unserem Stamm handelte es sich um *Streptococcus pseudoporcinus*, ein beta-hämolysierender Streptococcus der Gruppe B, der gelegentlich aus dem weiblichen Genitaltrakt isoliert wird. Die Pathogenität ist allerdings nicht erwiesen. Die Studie von Maureen Grundy et al. befasst sich mit der Fragestellung der Auswirkung von *S. pseudoporcinus* bei Schwangerschaft und Geburt (Differentiating *Streptococcus pseudoporcinus* from GBS: could this have implications in pregnancy? Am J Obstet Gynecol. 2019. 220: 490.e1-7)

Einzelne Fälle von Wundinfektionen und Septikämien sind beschrieben (siehe dazu Schwemmer et al. Evaluation of methods for identification and determination of the taxonomic status of strains belonging to the *Streptococcus porcinus*-*Streptococcus pseudoporcinus* complex isolated from animal, human, and dairy sources. J Clin Microbiol. 2012. 50: 3591-7).

Die Diagnose ist schwierig zu stellen, da *S. pseudoporcinus* wie *S. agalactiae* ebenfalls mit dem Lancefield Gruppe B Serum agglutiniert. Ausserdem ist er VP, Hippurat und CAMP positiv und deshalb mittels konventioneller Methoden schwer von *S. agalactiae* zu unterscheiden. Vitek und MALDI-TOF hatten keine Probleme bei der Identifizierung von *S. pseudoporcinus*.

*Streptococcus porcinus* findet man häufig bei Infektionen bei Schweinen, nur selten aber beim Menschen. Er kann zwar auch CAMP, VP und PYR positiv sein, agglutiniert aber nicht mit der Gruppe B.

Offenbar unterscheiden sich *S. pseudoporcinus* und *S. agalactiae* durch die unterschiedliche Hämolysegrösse, welche bei ersterem viel grösser ausfällt. Link zum Bild: <http://path.upmc.edu/cases/case648/dx.html>.

Die Angabe von *S. pseudoporcinus* und *S. pseudoporcinus/porcinus* wurden mit der vollen Punktzahl bewertet. Alle anderen Angaben erzielten einem Punkt.

Identifikation	Anzahl
<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>	46
<i>Streptococcus porcinus</i>	8
<i>Streptococcus pseudoporcinus/porcinus</i>	2
<i>Streptococcus</i> Gruppe B	1
Keine pot. pathogene Bakterien	1

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

Bei *Aeromonas hydrophila* handelt es sich um ein fermentatives, Oxidase-positives Gram-negatives Stäbchen, welches als Erreger von Septikämien v.a. bei Leukämien, bei Erkrankungen der Gallenwege und bei Gastroenteritis beobachtet wird. Die 16S RNA Gen Sequenzierung konnte aber keine Abgrenzung gegen *Aeromonas aquatica* und *Aeromonas media* erreichen.

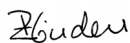
Aeromonaden können weltweit aus feuchten Ökosystemen wie Grundwasser, Reservoirs, sauberen oder verschmutzten Seen und Flüssen und im Schlamm isoliert werden. *Aeromonas* sp. kolonisiert zudem den Mund von Schlangen und wurde deshalb auch schon in Schlangenbisswunden gefunden. Ausserdem berichtete man auch schon von Infektionen in Fröschen, Schweinen, Rindern, Vögeln und Meerestieren.

Aeromonaden sind Glucose fermentierende, Oxidase positive, bewegliche Gram-negative Stäbchen und sind resistent für O/129. MALDI-TOF und die 16S RNA Gensequenzierung erzielen eine gute Identifikation auf Genus-Ebene.

Identifikation	Anzahl
<i>Aeromonas species</i>	8
<i>Aeromonas hydrophila</i>	35
<i>Aeromonas hydrophila</i> Komplex	5
<i>Aeromonas hydrophila</i> Gruppe	2
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	8

**Bezüglich den neuen EUCAST Tabellen Clinical Breakpoint Tables Version 11.0 sollten Sie unbedingt die neuen Grenzwerte für einige Antibiotika (Cetriaxon, Meropenem und andere) bei verschiedenen Bakteriengruppen für die Anwendung bei Meningitis beachten. Bezüglich den Grenzwerten von Beta-Laktamen bei verschiedenen Staphylokokken werden wir das nächste Mal ein Beispiel besprechen.**

Mit freundlichen Grüssen

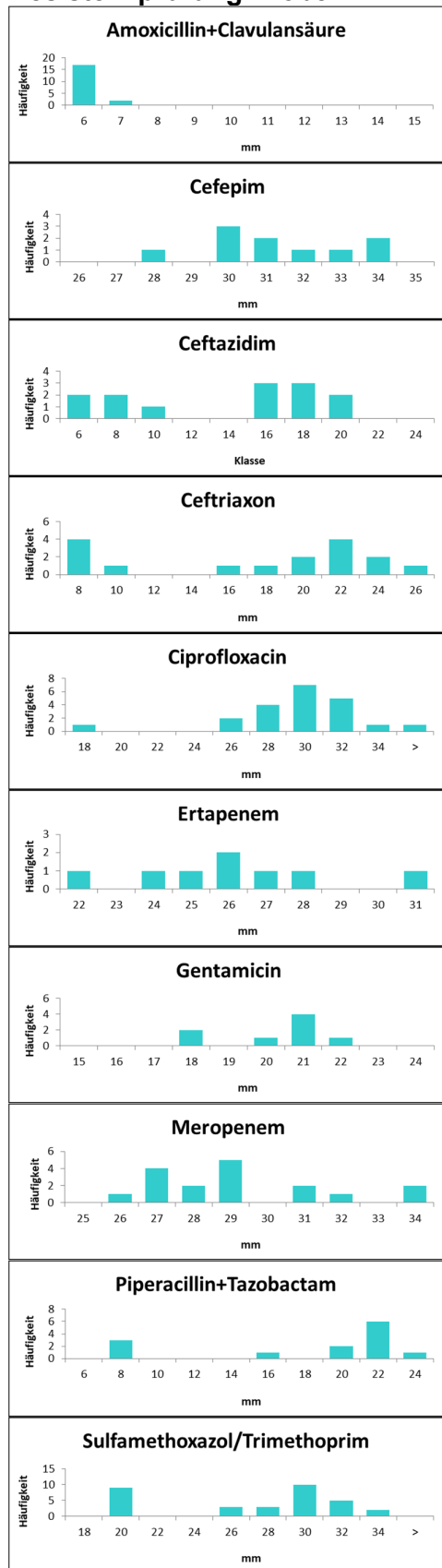


Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

### Resistenzprüfung Probe A



### Resistenzprüfung Probe B

