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

Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2021-3

Probe A: **Mittelstrahlurin / Harnwegsinfekt**
Anforderung: **Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung**

Der in unserer Mittelstrahlurin-Probe enthaltene *Enterococcus faecalis* bei einer Harnwegsinfektion konnte von fast allen Teilnehmern problemlos identifiziert werden.

Bei unserem Stamm handelte es sich um einen Vancomycin sensiblen *E. faecalis*. Es konnte keine Gentamicin High-Level Resistenz nachgewiesen werden. Bei der Beurteilung der Resistenzmechanismen wurde die Angabe kein VRE bewertet. Die Gentamicin High-Level Resistenz gehört zur Beurteilung einer Enterokokken-Resistenz und soll auch angegeben werden. Dieses Mal haben wir auf eine Bewertung verzichtet. Bitte das nächste Mal auch angeben.

Norfloxacin war mit einem Hemmhofdurchmesser von 14mm sensibel und konnte als Screening für Ciprofloxacin und Levofloxacin eingesetzt werden. Diese beiden Antibiotika stehen für *Enterococcus* spp. aber nur bei unkomplizierten Harnwegsinfektionen als Therapiemöglichkeit zur Verfügung.

Für Fosfomycin und Doxycyclin existieren bei EUCAST keine Grenzwerte. Wir haben diese Angaben nicht bewertet.

Auch für Penicillin gibt es bei EUCAST keine Grenzwerte. Allerdings gibt es bei CLSI noch Grenzwerte. Es gab in den letzten Monaten zum Teile Lieferschwierigkeiten für Aminopenicilline, so dass wir oft als Alternative die Penicillin-Empfindlichkeit eruieren und berichten mussten. Es wird auf jeden Fall empfohlen, Ampicillin zu testen. Die Werte für Amoxicillin und Piperacillin (mit und ohne Beta-Lactamase Inhibitor) können von Ampicillin abgeleitet werden. Unser *E. faecalis* war Ampicillin sensibel. Eine Ampicillin-Resistenz ist bei *E. faecalis* ungewöhnlich, *E. faecium* hingegen, weist in der Regel eine Ampicillin-Resistenz auf.

Ein kleiner historischer Hinweis: In den 90er Jahren war es durchaus üblich, dass man in kritischen Fällen auch die Beta-Laktamase bei Enterokokken getestet hat (Murray BE. 1992. β-Lactamase producing enterococci. AAC 36: 2355-9.) Wir haben mehrere Jahre die β-Laktamase bei Enterokokken gesucht, aber nie gefunden, so dass wir ab 2000 diese Suche abgebrochen haben.

Identifikation	**Anzahl**
Enterococcus faecalis	56
Aerococcus sanguinicola	1

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

Die Identifikation von *Raoultella* (*Klebsiella*) *planticola* stellte eine gewisse Herausforderung dar. Laut Akzeptanzliste von Maldi-TOF Bruker können *Raoultella planticola* beziehungsweise *Raoultella ornithinolytica* nicht auf Speziesebene differenziert werden. Aus diesem Grund haben wir alle Angaben von *Raoultella* species und *Klebsiella* species akzeptiert.

Die Sequenzierung unseres Stammes ergab 0/744 Mismatches 100% *Raoultella planticola*, 4/744 Mismatches 99.5% *Raoultella ornithinolytica* und 6/744 Mismatches 99.2% *Enterobacter aerogenes*. Aufgrund geringer Sequenzunterschiede können *R. planticola* und *R. ornithinolytica* schlecht voneinander abgegrenzt werden.

Raoultella species war mit Ausnahme von Ampicillin für die getesteten Antibiotika empfindlich oder empfindlich bei erhöhter Dosierung.

Die Angabe von ‘sensibel’ für Cefuroxim parenteral ergab nur die Hälfte der Punktzahl, da für Cefuroxim parenteral die Hemmhofdurchmesser bei <19mm (resistent) und ≥50mm (sensibel) liegen. Es existieren keine ‘sensiblen’ Hemmhöfe. Für das orale Cefuroxim Axetil hingegen, liegen die Hemmhofdurchmesser bei <19mm (resistent) und ≥19mm (sensibel). Unser Stamm konnte mit 22mm als sensibel für Cefuroxim Axetil berichtet werden. Allerdings ist Cefuroxim Axetil nach EUCAST nur für Harnwegsinfektionen vorgesehen.

Fosfomycin wurde nicht bewertet; eine orale Therapie ist nur für *Escherichia coli* bei unkomplizierten Harnweginfektionen sinnvoll. Für die Angabe von Fosfomycin bei anderen *Enterobacterales* ist die Bestimmung einer MHK nötig.

Die Angabe von Nitrofurantoin ergab einen Abzug, es existieren nur für *E. coli* bei unkomplizierten Harnwegsinfektionen Hemmhofdurchmesser.

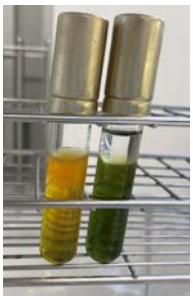
Identifikation	**Anzahl**
Raoultella (Klebsiella) planticola	35
Raoultella ornithinolytica	9
Raoultella ornithinolytica/platicola	2
Raoultella species	3
Klebsiella pneumoniae	6
Klebsiella oxytoca	1
Citrobacter freundii/braakii	1

Probe C: **Bronchialsekret / Lungentransplantation bei CF**
Anforderung: **Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

Achromobacter xylosoxidans (früher auch *Alcaligenes xylosoxidans* ssp. *xylosoxidans*) kann lokale und systemische Infektionen hervorrufen und ist als kolonisierender Keim bei Cystischer Fibrose bekannt. Er ist ein häufiger Erreger von nosokomialen, systemischen Infekten.

Es handelt sich um Gram-negative, nichtfermentierende Stäbchen, welche mittels Api 20NE und mit Maldi-TOF gut identifiziert werden können. *A. xylosoxidans* verbraucht Xylose wie auch Maltose und zeigt einen oxidativen Abbau von Xylose. Die OF-Xylose ist die konventionelle Methode *A. xylosoxidans* von *Achromobacter denitrificans* (früher *A. xylosoxidans* subsp*. denitrificans*) zu unterscheiden. Nitratabbau ist bei beiden positiv.

OF-Xylose ohne (links) und mit (rechts) Paraffinöl:



Die Gelbfärbung im Röhrchen ohne Paraffinöl spricht für den oxidativen Xylose-Abbau. Würde das Röhrchen mit Paraffinöl eine Gelbfärbung aufweisen, spräche dies für den fermentativen Xylose-Abbau.

A. denitrificans und *Bordetella* species sind asaccharolytisch. Die Teste für Lysin- und Ornithindecarboxylase, Zuckerspaltung, Nitratreduktion und Pigmentbildung können für die Abgrenzung von *Burkholderia cepacia* hilfreich sein.

Seit 2021 existieren bei EUCAST für *A. xylosoxidans* die Grenzwerte für Piperacillin-Tazobactam, Meropenem und Trimethoprim-Sulfamethoxazol. Allerdings ist noch nicht geklärt, ob *A. denitrificans* ebenfalls mit diesen Grenzwerten oder mit Species-unabhängigen Grenzwerten beurteilt werden sollte.

Identifikation	Anzahl
Achromobacter xylosoxidans	47
Achromobacter denitrificans	2
Achromobacter denitrificans/xylosoxidans	3
Achromobacter species	2
Bordetella trematum	1
Burkholderia cepacia	2

Probe D: **Tiefer Wundabstrich / Chronische Wunde an Ferse**
Anforderung: **Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

Die Differenzierung von *Staphylococcus aureus* bereitete keine Schwierigkeiten. *S. aureus* ist weit verbreitet und kann asymptomatisch kolonisieren, aber auch Wundinfektionen, Lungenentzündungen bis hin zu Sepsis und Endocarditis verursachen.

Die Besonderheit unseres Stammes war die polymorphe Koloniebildung, einerseits typisch grosse und anderseits winzige - small colony variants SCV – Kolonien mit einer fehlenden Hämolyse und mit einer leichten Vergrünung.

Allerdings sind die meisten klinisch isolierten SCV instabil, d.h. nach einer oder mehreren Subkulturen sind die winzigen Kolonien wieder gross. Die «echten» SCV bleiben auch nach mehreren Subkulturen klein; ein genetischer Defekt im Elektronentransportsystem lässt die SCV nicht mehr richtig wachsen.

Bei diesen winzigen Kolonien können unübliche biochemischen Reaktionen vorhanden sein, was eine Identifikation deutlich erschweren oder sogar dazu führen kann, dass der Keim als normale Flora berichtet wird. Die Therapie von solchen SCV (echt oder instabil) ist erschwert. Es gibt Ansätze, solche SCV mit Antibiotika in Kombination mit pH-verändernden Medikamenten zu behandeln, weil offensichtlich der tiefe pH in Phagolysosomen die Bildung von SCV fördert.

Unser Stamm zeigte eine induzierbare Makrolid/Lincosamid/Streptogamin-Resistenz. Makrolide sind deshalb unwirksam. Clindamycin kann allenfalls für eine Kurzzeit-Therapie von leichten Haut- und Weichteilinfektionen wirksam sein. Die Resistenzprüfung war bei dieser Probe nicht gefordert.

Identifikation	Anzahl
Staphylococcus aureus	57

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

Bei *Fastidiosipila sanguinis* handelt es sich um Gram-positive, anaerobe Kokken. Unser Stamm konnte aus einer Urinprobe isoliert werden. Bisher wurde von *F. sanguinis* aus Blutproben, tiefen Weichteilinfektionen, Knochen, Gelenksinfektionen und akuten oder chronischen Wunden berichtet. Ob *F. sanguinis* als Erreger bei Harnwegsinfektionen auftreten kann, ist fraglich. In der Literatur wurde noch kein Fall beschrieben.

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32974574/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15774674/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24789188/

Fastidiosipila sanguinis ist Katalase negativ. Nach 48h konnte auf Schafblutagar auch aerob ein feines Wachstum beobachtet werden. Schwierig wird die Diagnostik, wenn der Urin nur 1 Tag bebrütet wird. In diesem Fall kann *F. sanguinis* leicht verpasst werden. Lipase, Lecithinase und Urease sind negativ. *F. sanguinis* ist zudem Nitrat und Indol negativ, aber Hippurat positiv. Es werden wenig Buttersäure und Essigsäure bei der Fermentation von Glucose gebildet. Im anaeroben Identifikationsystem API Rapid ID 32A sind die Reaktionen folgender Enzyme positiv: α- Galactosidase, β-Galactosidase, α-Glucosidase, α-Glucosidase, N-Acetyl- β-Glucosaminidase.

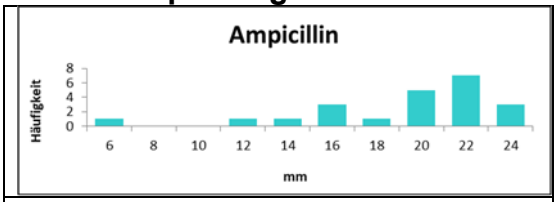
Die Sequenzierung ergab 0/742 Mismatches 100% *Fastidiosipila sanguinis*, 81/683 Mismatches 88.1% *Saccharofermentans acetigenes* und 83/681 Mismatches 87.8% *Flavonifractor plautii*. Maldi-TOF zeigte den Score von 2.1 für *F. sanguinis*.

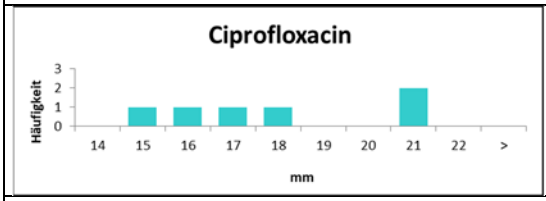
Identifikation	**Anzahl**
Fastidiosipila sanguinis	25
Gardnerella vaginalis	1
Lactobacillus fructivorans	1
Neisseria cinerea	1
Oligella urethralis	1
Aerococcus urinae	1
Streptococcus species	2
Keine Angabe	7
Gram-positive Kokken	13
Gram-negative Kokken	4
Keine pathogenen Keime	1

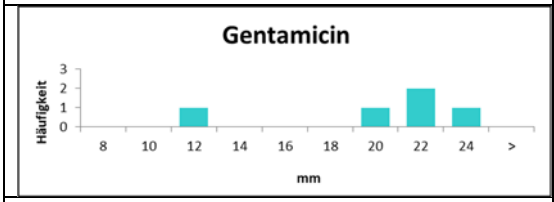
Mit freundlichen Grüssen

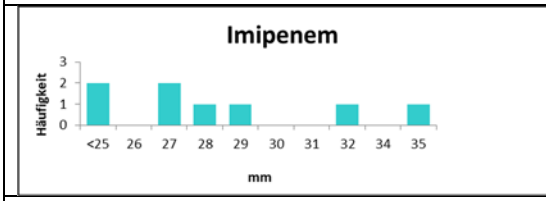
Prof. Dr. R. Zbinden *F.S. Hufschmid-Lim*

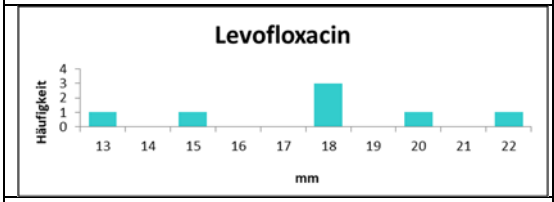
Resistenzprüfung Probe A

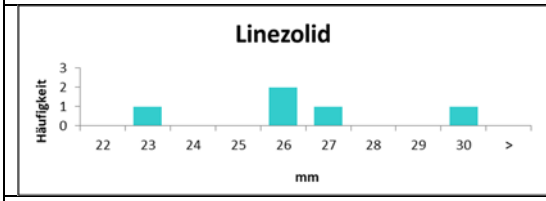


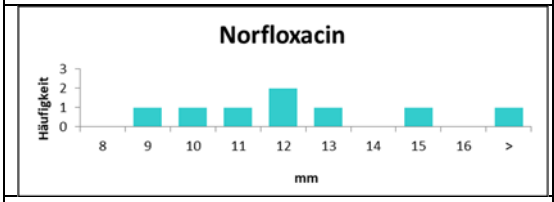


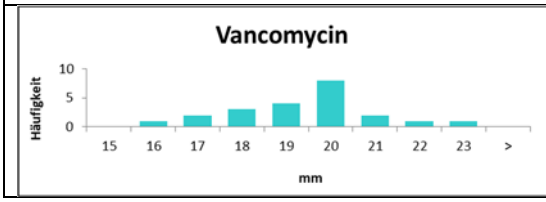
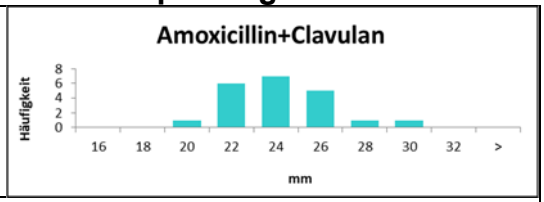
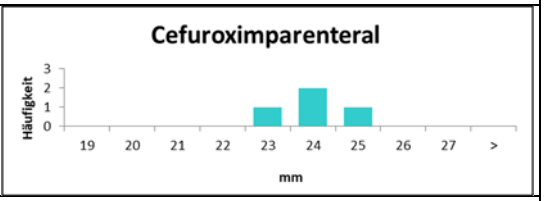
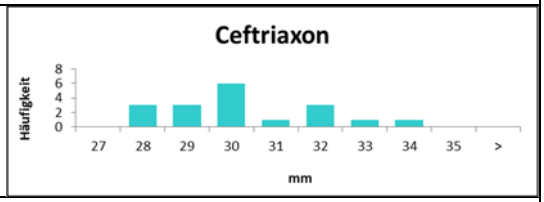
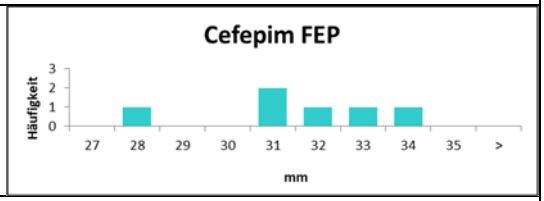
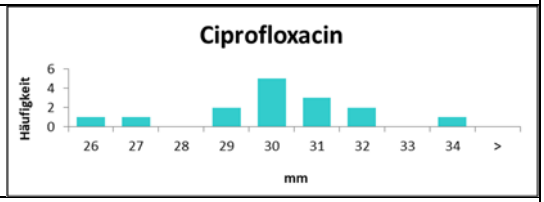
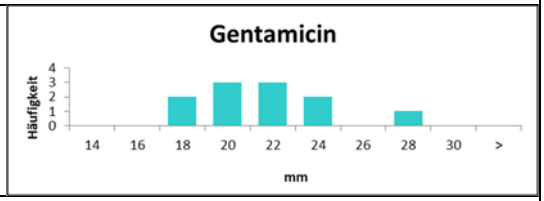
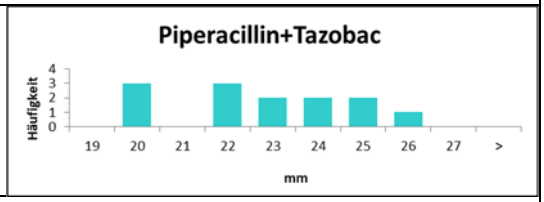
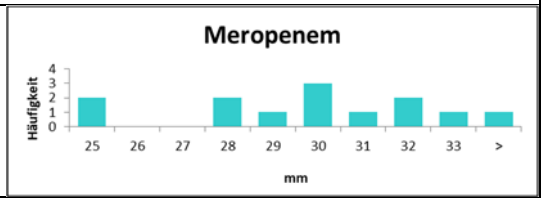












Resistenzprüfung Probe B