



Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2022-3

Probe A: Mittelstrahlurin / Harnwegsinfekt

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

Die in diesem Mittelstrahlurin enthaltene *Escherichia coli* konnte von fast allen Teilnehmern identifiziert werden.

Dieses Urinisolat von *E. coli* besitzt eine Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) vom Typ CTX-M. ESBL kam bei *E. coli* 2020 in unserem Institut bei ambulanten und stationären Patienten in über 6% vor; meistens handelt es sich um die CTX-M-Beta-Laktamase, welche speziell gut Cefotaxim (abgekürzt CTX) spaltet, aber Ceftazidim nicht hydrolysiert. Man konnte mit verschiedenen Methoden die Synergie zwischen Clavulansäure bzw. Tazobactam und Cephalosporinen feststellen. Mittels Synergie-Test bestand auf Müller-Hinton-Agar eine Differenz von ≥ 5 mm im Hemmhofdurchmesser zwischen Ceftazidim mit/ohne Clavulansäure, sowie zwischen Cefotaxim mit/ohne Clavulansäure. Den typischen «Champagnerkorken» war zwischen Amoxicillin+Clavulansäure/Cefepim und Amoxicillin+Clavulansäure/Ceftriaxon auf der Routine-Müller-Hinton-Platte erkennbar. Die Angabe des Resistenzmechanismus wurde von allen Teilnehmern korrekt angegeben. Bitte ESBL auch auf Ihren Berichten angeben, zumal die Schweizerische Gesellschaft für Infektiologie dies von den medizinisch mikrobiologischen Labors der Schweiz immer verlangt hat.

Für Amoxicillin/Clavulansäure haben wir alle Werte gelten lassen. Es gibt aber keinen Grund, bei einem CTX-M ESBL *E. coli* einen empfindlichen Hemmhof von Piperacillin/Tazobactam als resistent zu berichten, wenn es sich nicht um eine kritische Infektion handelt. Piperacillin/Tazobactam ist bei einem ESBL vom Typ CTX-M meistens sensibel. Es ist insbesondere bei Harnwegsinfektionen – auch bei einer Urosepsis - durchaus möglich, eine CTX-M ESBL *E. coli* mit Piperacillin/Tazobactam zu behandeln. Wird Piperacillin/Tazobactam trotz empfindlichen Hemmhof resistent berichtet, wechselt man in der Klinik gleich auf Carbapeneme, was den Druck auf die Carbapenem-Resistenz unnötig erhöht.

Der Stamm war für alle getesteten Cephalosporine (mit Ausnahme von Cefepim) resistent. Für Augmentin, Cefepim und Ceftazidim haben wir alle Ergebnisse gelten lassen. Der Stamm war auch gegen Fluorochinolone und Trimethoprim/Sulfamethoxazol resistent. Die immer häufiger eingesetzten Fosfomycin und Nitrofurantoin waren empfindlich. Bitte beachten Sie bei EUCAST die Einschränkungen bezüglich dieser beiden Antibiotika. Bei anderen *Enterobacteriaceae* berücksichtigen wir jeweils bei der Bewertung diese EUCAST-Regeln.

Identifikation	Anzahl
<i>Escherichia coli</i>	56
<i>Escherichia hermannii</i>	1
<i>Escherichia coli/hermannii</i>	1

Probe B: Blutkultur / late onset Sepsis

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

Aus dieser Blutkultur bei late onset Sepsis konnte *Streptococcus agalactiae* isoliert werden. Beinahe allen Teilnehmern ist die Diagnose gelungen.

S. agalactiae agglutiniert mit der Lancefield-Gruppe B, ist Katalase negativ sowie Hippurat und CAMP positiv. Mittels MALDI-TOF konnte die Diagnose problemlos gestellt werden.

Wie alle *S. agalactiae*-Stämme war auch unser Isolat empfindlich gegen Penicillin, Ampicillin und Vancomycin. Beta-hämolyisierende Streptokokken produzieren keine Beta-Laktamase, weshalb eine Zugabe von Beta-Laktamase-Inhibitoren keinen klinischen Vorteil erzeugen. Es bestand keine Resistenz gegen Erythromycin und Clindamycin.

Für Levofloxacin existieren bei EUCAST seit 2020 keine sensiblen Hemmhofdurchmesser mehr. Ein Hemmhof von <17 mm wird als 'resistent' interpretiert; alle Werte ≥ 17 mm müssen

als 'I' (increased exposure) d.h. sensibel bei erhöhter Dosierung beurteilt werden. Mit 'I' für Levofloxacin konnte somit die volle Punktzahl erzielt werden. Tetracyclin wurde bei unserem Stamm mit einer MHK von 32mg/L und einem Hemmhofdurchmesser von 11mm als 'resistent' getestet. Laut EUCAST dürfen Doxycyclin und Minocyclin bei einem negativen Screening mit Tetracyclin als 'sensibel' berichtet werden. Ist das Screening mit Tetracyclin positiv, so müssen die Antibiotika individuell getestet werden. In unserem Fall wurde auch Doxycyclin mit einer MHK von 8mg/L als 'resistent' bewertet. Tigecyclin war mit einem Hemmhofdurchmesser von 22mm 'sensibel'. Sollte ein resistentes Tigecyclin-Resultat vorliegen, muss die Identifikation und die Resistenzprüfung wiederholt werden, da bisher nur wenige oder keine Tigecyclin resistenten Isolate bekannt sind.

Für Ciprofloxacin, Gentamicin und Fosfomycin existieren keine Grenzwerte. Die Angabe dieser Antibiotika wurde als inadäquat beurteilt und ergab einen Abzug. Nitrofurantoin ist für *S. agalactiae* nur bei unkomplizierten HWI akzeptiert und wurde in unserem Fall einer Blutkultur auch als inadäquat beurteilt. Für Sulfamethoxazol/Trimethoprim haben wir die Angabe der Empfindlichkeit dieses Mal gelten lassen, aber eigentlich wird eine Therapie mit Cotrimoxazol (Baktrim) für eine late onset Sepsis in den hoch entwickelten Ländern nicht in Erwägung gezogen.

Identifikation	Anzahl
<i>Streptococcus agalactiae</i>	54
<i>Streptococcus durans</i>	2
Beta-hämolisierende Streptokokken Gruppe B	2

Probe C: tiefer Wundabstrich / Eitrige Wunde am Finger
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

In dieser tiefen Wunde bei eitrigem Wundinfekt am Finger konnte *Staphylococcus lugdunensis* isoliert werden.

Bei *S. lugdunensis* handelt es sich um einen Koagulase-negativen Staphylokokken, welcher keine freie Koagulase besitzt, d.h. das 'Röhrchenplasma' ist negativ. Hingegen ist wie bei *Staphylococcus aureus* das Fibrinogen-bindende Protein (Clumping factor) 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 der Erreger erstmals beschrieben wurde. Es handelt sich um einen normalen Hautkeim, der oft in der Leistengegend vorkommt; auch durch interventionelle kardiologische Verfahren über die Leiste kann *S. lugdunensis* in die Blutbahn gelangen. Bei einer Bakteriämie mit *S. lugdunensis* muss immer – analog zu einer Bakteriämie mit *S. aureus* – eine Endocarditis ausgeschlossen werden.

Eine Resistenzprüfung war nicht verlangt. Unser Stamm besass eine Penicillin- und Ampicillinresistenz. Ciprofloxacin und Levofloxacin konnten in unserem Fall von Norfloxacin abgeleitet werden, welches mit 'I' (increased exposure), d.h. 'sensibel bei erhöhter Dosierung', beurteilt werden kann.

EUCAST hat dieses Jahr die Grenzwerte für die Beurteilung von Cefoxitin bei *S. lugdunensis* angepasst. Die Werte liegen nun wie für *Staphylococcus epidermidis* bei ≥ 27 mm für sensibel und bei ≤ 26 mm für resistent. Die ATU (Area of technical uncertainty) liegt bei 27mm. EUCAST bietet, in der Grenzwert-Tabelle unter 'Technical uncertainty', eine Reihe von Lösungsmöglichkeiten für die Klärung von ATU. In den letzten Jahren hat EUCAST bei Staphylokokken immer wieder Anpassungen für die Cefoxitin-Breakpoints vorgenommen. Es kann gut sein, dass weitere Anpassungen folgen. Die ersten Methicillin-resistenten *S. lugdunensis* haben wir vor ca. 5 - 10 Jahren gesehen, wobei aktuell eine Zunahme erfolgt. Es ist sicher sinnvoll, Methicillin-resistente *S. lugdunensis* bei Anwendung dieses hohen Grenzwertes mit weiteren Methoden (*mecA* - PCR, PBP2' – Nachweis) zu bestätigen.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	56
<i>Staphylococcus xylosus</i>	2

Probe D: Blutkultur / Neutropenischer Patient
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Die Identifizierung aus der Blutkultur bei einem neutropenischen Patienten ergab eine *Capnocytophaga sputigena*. Dabei handelt es sich um anspruchsvolle Gram-negative Stäbchen, welche zur Gattung *Capnocytophaga* gehören. *C. sputigena* und weitere orale *Capnocytophaga* spp. (früher DF-1 genannt) findet man bei Septikämien oder anderen endogenen Infektionen von immunkompetenten und immunsupprimierten (vor allem neutropenischen) Patienten. *Capnocytophaga canimorsus* und *Capnocytophaga cynodegmi* (früher DF-2 genannt) hingegen werden eher mit Hunde- oder Katzenbissen in Verbindung gebracht.

C. sputigena ist im Gegensatz zu *C. canimorsus* und *C. cynodegmi* Oxidase und Katalase negativ. Unser Stamm zeigte die für *C. sputigena* typisch positive Aesculin Hydrolyse und eine Resistenz gegenüber Colistin. Im Manual of Clinical Microbiology, ASM, 12th Edition, S. 656ff sind detailliertere Angaben zur Identifikation aufgelistet. Nichtsdestotrotz können die verschiedenen Spezies konventionell nur schlecht voneinander unterschieden werden. Für *Capnocytophaga* sp. gab es deshalb schon die volle Punktzahl. Die Identifikation mittels MALDI-TOF gelang mit Score von 2.49 gut.

Für den praktischen Alltag dürfte bei einer Bakteriämie bei einem neutropenischen Patienten eine Identifizierung auf Genusebene genügen, aber bei speziellen Krankheitsbildern müsste wohl mit der Sequenzierung eine Speziesidentifizierung erfolgen.

Identifikation	Anzahl
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	48
<i>Capnocytophaga haemolytica</i>	1
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	1
<i>Capnocytophaga species</i>	3
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	1
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1
<i>Campylobacter jejuni</i>	2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1

Probe E: Wundabstrich / Katzenbiss
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei *Pasteurella dagmatis* handelt es sich um Katalase- und Oxidase-positive, anspruchsvolle Gram-negative Stäbchen. *P. dagmatis* wurde beim Menschen aus Katzen- oder Hundebissen, wie auch aus systemischen Infektionen (Pneumonie, Peritonitis, Septikämie oder Endocarditis) isoliert.

Die Identifikation mittels MALDI-TOF gelang sehr gut. Mit Api 20 NE konnte *Pasteurella multocida* identifiziert werden. *P. dagmatis* ist nicht in der Datenbank von Api 20 NE enthalten. Die positive Urease Reaktion spricht aber für *P. dagmatis*. Unser Stamm ist ebenfalls Ornithindecaboxylase negativ. *P. multocida* ist Ornithin positiv, aber Urease negativ.

Identifikation	Anzahl
<i>Pasteurella dagmatis</i>	50
<i>Pasteurella multocida</i>	4
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	1
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	1

Mit freundlichen Grüßen

Zbinden

Hufschmid-Lim

Prof. Dr. R. Zbinden

F.S. Hufschmid-Lim

Resistenzprüfung Probe A

Resistenzprüfung Probe B

