



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

## Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2023-1

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

Der in dieser Probe enthaltene *Staphylococcus saprophyticus* konnte von beinahe allen Teilnehmern problemlos identifiziert werden. *S. saprophyticus* ist ein häufiger Erreger unkomplizierter Harnwegsinfektionen bei jungen Frauen ausserhalb des Spitals.

Bei *S. saprophyticus* handelt es sich um einen Koagulase-negativen Staphylokokkus mit einer Novobiocin-Resistenz. EUCAST hat spezifisch für *S. saprophyticus* Ampicillin (2 µg) - Hemmhöfe zum Erfassen einer Penicillinase definiert. Die Ampicillin-Hemmzone betrug bei unserem Stamm 23 mm und war somit empfindlich. Penicillin soll für *S. saprophyticus* nicht getestet werden, weshalb wir eingetragene Penicillin-Resultate nicht bewerteten. Ein Ampicillin sensibler *S. saprophyticus* (Hemmhof  $\geq$  18 mm) ist *mecA*-negativ und empfindlich gegenüber Ampicillin, Amoxicillin und Piperacillin (mit oder ohne Beta-Laktam-Inhibitor).

Bezüglich des Nachweises der Penicillin-Empfindlichkeit bei Staphylokokken hat das Schweizerische Antibiogramm-Komitee (SAC) bis 2023 die Meinung vertreten, dass man auch bei Koagulase-negativen Staphylokokken mit dem Penicillin-Blättchenhemmtest die Beta-Laktamase (entspricht Penicillinase) zuverlässig nachweisen kann, welche zur Resistenz von Penicillin, Ampicillin/Amoxicillin und Piperacillin führt. Isolate mit einem Hemmhof über dem Grenzwert (26 mm) und einem auslaufenden Hemmhofrand können als empfindlich berichtet werden. Dies galt und gilt nach EUCAST nur für *Staphylococcus aureus*. Bei *Staphylococcus lugdunensis* wird nur der Grenzwert von 26 mm angegeben, ohne auf den auslaufenden Rand hinzuweisen; nach unserer jahrzehntelangen Erfahrung kann bei *S. lugdunensis* der Hemmhofrand gut beurteilt werden. Hingegen haben wir bereits früher darauf aufmerksam gemacht, dass bei *S. saprophyticus* der auslaufende Rand oft schwierig zu beurteilen ist. EUCAST hat zum Glück für *S. saprophyticus* die Austestung von Ampicillin weiterhin vorgesehen, zumal Aminopenicilline bei einfachen Harnwegsinfektionen oft eingesetzt werden.

**In der letzten SAC-Sitzung (31.3.2023) wurde nun beschlossen, dass wir uns in Zukunft der EUCAST-Vorgabe anschliessen, zumal sich viele Laboratorien bei der Beurteilung des Penicillin-Hemmhofrandes schwertun. Penicillin und Ampicillin werden also bei Staphylokokken in Zukunft nicht mehr in die Bewertung aufgenommen ausser für die oben erwähnten *S. aureus*, *S. lugdunensis* und *S. saprophyticus* (nur Ampicillin).**

*S. saprophyticus* weist natürlicherweise eine erhöhte Oxacillin-MHK auf, aber Werte über 2 mg/L (gleicher Wert wie für *S. aureus* und *S. lugdunensis*) weisen auf eine Methicillin-Resistenz hin. In der Regel wird diese aber nicht vom Oxacillin, sondern vom Cefoxitin abgeleitet. Es ist darauf zu achten, dass im Blättchentest für *S. saprophyticus* die gleichen Cefoxitin-Grenzwerte wie für *S. aureus* und die meisten anderen Koagulase-negativen Staphylokokken ( $\geq$  22 mm empfindlich,  $\leq$  21 mm resistent) gelten. Bei *S. saprophyticus* gilt eine Cefoxitin MHK  $>$  8 mg/L als eine Methicillin-Resistenz (Cave: für *S. aureus* und *S. lugdunensis* gelten MHK-Werte  $>$  4 mg/L schon als resistent). Unser Stamm war Cefoxitin empfindlich und deshalb empfindlich gegen Cephalosporine. Wenn vom Cefoxitin-Resultat Cephalosporine abgeleitet werden, muss unbedingt darauf geachtet werden, dass Cefotaxim und Ceftriaxon nur als empfindlich mit erhöhter Dosierung angegeben werden dürfen; bitte konsultieren Sie die diesbezüglichen EUCAST-Angaben, wenn Sie diese Angaben machen.

Für Ciprofloxacin und Levofloxacin gilt bei Empfindlichkeit die erhöhte Dosierung; Ofloxacin haben wir nicht bewertet, da nach EUCAST nur noch topisch empfohlen. *S. saprophyticus* ist gegenüber Fosfomycin erwarteterweise (intrinsisch) resistent, während Nitrofurantoin speziell bei HWI empfohlen ist. Fusidinsäure darf im Urin für *S. saprophyticus* nicht berichtet werden. Unser Stamm war gegen Erythromycin resistent und gegen Clindamycin empfindlich, aber phänotypisch keine induzierbare MLS-Resistenz; Clindamycin wird zur Therapie von Haut und Weichteilinfekten eingesetzt, nicht bei Harnwegsinfektionen. Die Angabe des Resistenzmechanismus 'MLS' wurde aus diesem Grund nicht bewertet. Aminoglykoside waren empfindlich, bei EUCAST in Klammern gesetzt; siehe die Besprechung bei Probe B.

Die Angabe von Glykopeptiden (Vancomycin und Teicoplanin) ist bei einer Harnwegsinfektion an sich nicht sinnvoll. Es gibt uns aber die Gelegenheit, eine weitere SAC-EUCAST Diskrepanz zu besprechen. Der Blättchentest für die Bestimmung der Empfindlichkeit der Staphylokokken gegenüber Vancomycin ist nicht genügend. Die Angaben beruhen jeweils auf der MHK. Wir haben aber zusammen mit dem SAC empfohlen, das Teicoplanin-Blättchen als Screening einzusetzen, um nicht gleich immer eine MHK durchführen zu müssen. In Anbetracht, dass CLSI auch keine Hemmhöfe für Teicoplanin bei Staphylokokken mehr anbietet, haben wir bei der gleichen SAC-Sitzung ebenfalls beschlossen, dass das SAC sich bezüglich Glykopeptid-Testung bei Staphylokokken ebenfalls EUCAST anschliesst. Wir empfehlen mit SAC nur noch die MHK für den Nachweis der Glykopeptidresistenz bei Staphylokokken.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	54
<i>Staphylococcus hominis</i>	1

**Probe B: Trachealsekret / Respiratorassoziierte Pneumonie**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung**

In diesem Trachealsekret bei Respirator-assoziierte Pneumonie konnte *Serratia marcescens* isoliert werden. *S. marcescens* ist ein typischer Wasser- und Umgebungskeim, der zu nosokomialen Infektionen führt. Die Identifikation auf Genusebene stellte mittels Maldi-TOF, Api 20E und hauseigener Bio kein Problem dar. *S. marcescens* kann mit der OF-Xylose von *S. liquefaciens* unterschieden werden. *S. marcescens* baut die OF-Xylose oxidativ ab, wohingegen *S. liquefaciens* OF-Xylose fermentativ verwertet. Dies zeigt sich mit einer Gelbfärbung nach 24h Bebrütung im OF-Xylose-Röhrchen mit und ohne Paraffin-Öl Beschichtung. *S. marcescens*, *Serratia nematodiphilia* und *Serratia ureilytica* haben sehr ähnliche Spektren und können mittels Maldi-TOF nicht unterschieden werden. Wir haben für alle angegebenen *Serratia* – Angaben die volle Punktzahl erteilt.

*S. marcescens* besitzt natürlicherweise eine  $\beta$ -Laktamase vom Typ AmpC. Die Angabe des Resistenzmechanismus AmpC war für das Erreichen der vollen Punktzahl zwingend. Es sollte aber gemäss den Expertenregeln von EUCAST die Warnung einer Resistenzentwicklung bzw. Selektion resistenter Mutanten gegenüber 3. Generations-CF stehen. Hingegen ist es nach EUCAST nicht vorgesehen, dass man die empfindlich getesteten Ceftriaxon, Cefprozidim, und Cefotaxim auf resistent setzt. Diese Vorgehensweise führt dazu, dass sofort Carbapeneme verabreicht werden, was die generelle Carbapenem-Resistenz fördert, welche nicht nur auf Carbapenemasen, sondern auch auf Zellwandveränderungen beruht. Bei Piperacillin/Tazobactam war der Messwert um den Breakpoint, so dass wir alle Resultate gelten liessen.

Für Ampicillin/Amoxicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, 1. und 2. Gen. Cephalosporine, Colistin und Nitrofurantoin besteht bei *S. marcescens* eine intrinsische Resistenz. Bitte beachten Sie, dass nach der neuen Terminologie von EUCAST statt von der intrinsischen Resistenz von einer erwarteten Resistenz gesprochen wird. Wenn Sie bei den EUCAST-Tabellen direkt unter den jeweiligen Bakteriennamen den Vermerk «Expert Rules and Expected Phenotypes» anklicken, dann kommen Sie direkt zum Dokument mit den Expertenregeln; beim Weiterklicken auf «Expected Phenotypes» kommen Sie zum Dokument mit den Definitionen. Sie können auch über die Hauptseite von EUCAST über Anklicken von «Expert Rules and Expected Phenotypes» in der Randleiste dorthin gelangen. Im Wesentlichen wird intrinsisch resistent nicht mehr benützt, sondern erwarteter resistenter Phänotyp, wenn über 90% einer Spezies gegenüber einem bestimmten Antibiotikum eine MHK haben, welche über dem Spezies-unabhängigen (Pharmakokinetik/-dynamik)-MHK Grenzwert für empfindlich liegt.

Die klinischen Grenzwerte für Aminoglykoside wurden von EUCAST 2019 überarbeitet und sind bei *Enterobacterales* nur noch für Harnwegsinfektionen gültig. Für andere Infektionen sind die Grenzwerte in Klammer gesetzt, was generell bedeutet, dass diese Antibiotika bei systemischen Infektionen nur in Kombination eingesetzt werden sollen. Bei *S. saprophyticus* der Probe A sind die Aminoglykoside ebenfalls in Klammer. Die Grenzwerte in Klammer entsprechen im Wesentlichen den ECOFFs bzw. eines ECOFF-Kompromisses innerhalb mehrerer Spezies desselben Genus. Die früheren Expertregeln für Aminoglykoside wurden aus verschiedenen Gründen aus den Richtlinien entfernt. Wir haben bei *S. marcescens* die Aminoglykoside wegen der Unsicherheit der Expertenregeln nicht bewertet.

Identifikation	Anzahl
<i>Serratia marcescens</i>	50
<i>Serratia nematodiphila</i>	1
<i>Serratia marcescens</i> complex	1
<i>Serratia marcescens</i> Gruppe	2
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1

**Probe C: Blutkultur / Bakteriämie, 1 von 4 Flaschen**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

*Pseudomonas stutzeri*, ein Gram-negatives nichtfermentierendes Stäbchen, war für die meisten Teilnehmer gut identifizierbar. Allerdings ist die Identifizierung ohne MALDI-TOF nicht ganz einfach. Mit der GN-Vitek-Karte gelang eine sehr gute Identifizierung, was mit dem API NE nicht der Fall war; hier wurde *Ralstonia pickettii* als erste Möglichkeit genannt.

Sowohl *P. stutzeri* wie auch *R. pickettii* sind in der Umwelt weit verbreitet, besiedeln verschiedene ökologische Systeme und wurden als opportunistische Erreger beim Menschen beschrieben. Beide können Pseudobakteriämien wegen kontaminierten Infusionen wie auch nosokomiale Infektionen verursachen. Die meisten diesbezüglichen Arbeiten für *R. pickettii* wurden noch unter dem alten Namen *Pseudomonas pickettii* publiziert. Zudem können beide gefaltete trockene Kolonien bilden. Wir haben für die Nennung *R. pickettii* ebenfalls einen Punkt gegeben.

Nichtsdestotrotz sei hier auf Unterschiede mit konventionellen Tests hingewiesen. Beide sind Gram-negative, oxidase-positive Nonfermenter ohne Pyoverdin; H<sub>2</sub>S - Bildung und die Indolproduktion sind negativ. Diese genannten Tests sind zum Beispiel in der 11. Auflage des Manual of Clinical Microbiology der American Society of Microbiology als entscheidende Kriterien für die Differenzierung der Gram-negativen Nonfermenter aufgeführt.

Folgende weitere Schlüsselreaktionen oder Schlüsselteste sind in diesem Manual (Chapter 33 «Approaches to the identification of aerobic Gram-negative bacteria» von G. Wauters und M. Vaneechoutte aufgeführt, welche bei *P. stutzeri* und *R. pickettii* unterschiedlich sind:

Reaktion	<i>P. stutzeri</i>	<i>R. pickettii</i>
Pyroglutaminyl Aminopeptidase (PYR)	negativ	positiv
Colistin	empfindlich	resistent
Urease	negativ	positiv/ teilweise verzögert
Wachstum in 4% NaCl	nicht vorhanden	vorhanden

Identifikation	Anzahl
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	47
<i>Pseudomonas stutzeri</i> Gruppe	4
<i>Pseudomonas stutzeri</i> complex	1
<i>Ralstonia pickettii</i>	2
Keine Angabe	1

**Probe D: Bursapunktat / Bursitis olecrani**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

In diesem Bursapunktat konnte *Trueperella pyogenes* isoliert werden. *T. pyogenes* kann, wie der Name schon sagt, eitrige Entzündungen auslösen. Der Eitererreger war vor allem schon sehr lange bei Kühen, Geissen, Ziegen und Schweinen bekannt.

Der historische Überblick der Nomenklatur zeigt den Werdegang von *T. pyogenes*: In den 1980er Jahren wurde *Corynebacterium pyogenes* in *Actinomyces pyogenes* (Collins MD and D. Jones (1982) Reclassification of *Corynebacterium pyogenes* (Glage) in the genus *Actinomyces*, as *Actinomyces pyogenes* comb. nov. J Gen Microbiol 128: 901-903) und *Corynebacterium haemolyticum* in *Arcanobacterium haemolyticum* umbenannt (Collins MD, D Jones, GM Schofield (1982) Reclassification of '*Corynebacterium haemolyticum*' (MacLean,

Liebow & Rosenberg) in the genus *Arcanobacterium* gen. nov. as *Arcanobacterium haemolyticum* nom. rev., comb. nov. J Gen Microbiol 128: 1279-1281).

*Actinomyces pyogenes* konnte durch die Agglutination mit Antiseren gegen Gruppe G Streptokokken von *A. haemolyticum* abgegrenzt werden. Wie bei Streptokokken der Gruppe G ist auch die  $\beta$ -Glucuronidase bei *A. pyogenes* positiv. Einfache Informationen können bei der Namensänderung verloren gehen. Am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich konnten dann zusammen mit MD Collins aus Reading, UK, Isolate aus Abszessen beschrieben werden, welche biochemisch *A. pyogenes* sehr ähnlich waren, allerdings keine Kreuzreaktion mit Antiseren gegen Gruppe G Streptokokken, dafür einen schwachen CAMP aufwiesen. Diese Bakterien wurden als *Actinomyces pyogenes*-like angesehen und mit Speziesnamen (Adjektive) von Zürich und Reading versehen (J. Wüst, S. Stubbs, N. Weiss, G. Funke, MD Collins (1995) Assignment of *Actinomyces pyogenes*-like (CDC coryneform group E) bacteria to the genus *Actinomyces* as *Actinomyces radingae* sp. nov. and *Actinomyces turicensis* sp. nov. Lett Appl Microbiol 20: 76–81).

MD Collins hat in den 1990er Jahren aufgrund der 16S rRNA Sequenzen *A. pyogenes* zusammen mit anderen *Actinomyces* spp. in *Arcanobacterium* spp. umbenannt (Ramos CP, G Foster, MD Collins (1997) Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16S rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 47:46-53). Allerdings wurden dann *A. pyogenes* bzw. *A. bernardiae* in *Trueperella pyogenes* bzw. *Trueperella bernardiae* umbenannt (Yassin AF, H Hupfer, C Siering, P Schumann (2011) Comparative chemotaxonomic and phylogenetic studies on the genus *Arcanobacterium* Collins et al. 1982 emend. Lehnen et al. 2006: proposal for *Trueperella* gen. nov. and emended description of the genus *Arcanobacterium*. Int J Sys Evol Microbiol 61: 1265–1274).

Die Identifizierung gelang mittels MALDI-TOF problemlos. Das APICoryne ergab eine sehr gute Identifizierung von *T. pyogenes* mit einer 99.9% ID und einem T-Wert von 0.58. Die positive Xylose-Fermentation grenzte gegenüber *T. bernardiae* und *A. haemolyticum* ab. Auf Schafblutagar waren hämolysierende Kolonien sichtbar; der CAMP war negativ. Zur Abgrenzung zeigt *A. haemolyticum* einen umgekehrten CAMP, d.h. eine Abschwächung der Hämolyse durch *S. aureus*, und *T. bernardiae* kann Maltose stärker ansäuern als Glucose.

Identifikation	Anzahl
<i>Trueperella pyogenes</i>	54
Keine Angabe	1

**Probe E:** Port-Material (Katheter) / Port-assoziierte Infektion  
**Anforderung:** Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Koagulase negative Staphylokokken bilden den Hauptbestandteil der menschlichen Hautflora. Eine Studie aus dem Jahr 2020 zeigt, dass auch *Staphylococcus saccharolyticus* häufiger als vermutet als Besiedler der Haut auftritt <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32718033/>. Die ersten Publikationen unter dem Namen *Peptococcus saccharolyticus* konnten dies 1978 auch schon zeigen (Evans CA et al. (1978) J Clin Microbiol 7: 261-4). Diese häufige Hautbesiedelung kann zu Fremdkörper-assoziierten Infektionen führen. Die Identifizierung ist fast allen gelungen.

Bei *S. saccharolyticus* handelt es sich um Gram-positive, Katalase-positive Kokken in Haufen und Tetraden, welche anaerob wachsen. Bei optimalen Bedingungen können Subkulturen auch ein leichtes aerobes Wachstum zeigen. Die Metronidazol-Resistenz bei anaerob wachsenden Gram-positiven Kokken weist konventionell auf diese Identifizierung hin.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	53
<i>Staphylococcus</i> species	1
Keine Angabe	1

Mit freundlichen Grüßen

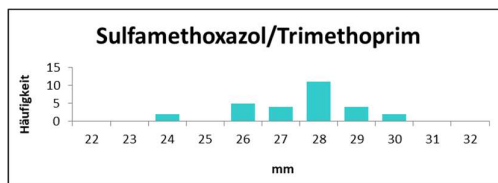
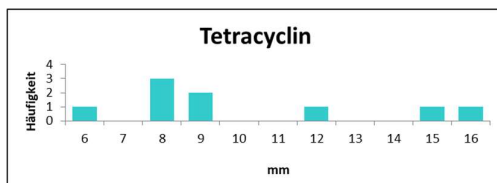
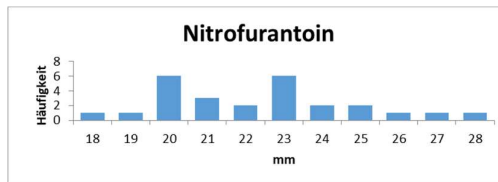
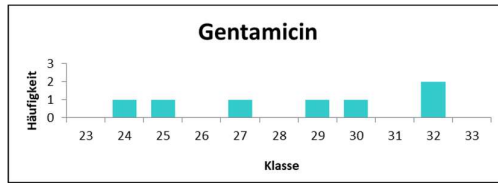
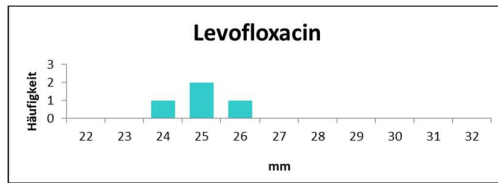
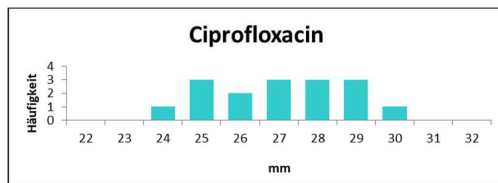
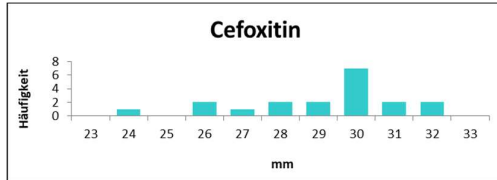
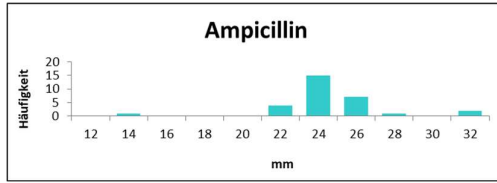
Zbinden

Hufschmid-Lim

Prof. Dr. R. Zbinden

F.S. Hufschmid-Lim

**Resistenzprüfung Probe A**



**Resistenzprüfung Probe B**

