



Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2023-3

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

Die in dieser Probe enthaltene *Klebsiella oxytoca* konnte von allen Teilnehmern problemlos identifiziert werden.

Bei unserem Stamm handelte es sich um einen K1 Beta-Laktamase Produzenten. Dabei kommt es zu einer Überproduktion der für *K. oxytoca* spezifischen, chromosomal kodierten Beta-Laktamase vom Typ OXY (Ambler Klasse A). Dieser Phänotyp ist das Ergebnis einer Mutation in der Promotorregion des *bla_{OXY}*-Gens und wird bei etwa 10% aller Spitalisolate von *K. oxytoca* beobachtet. Neben Amoxicillin-Clavulansäure, Piperacillin-Tazobactam, Cefpodoxim und Cefotaxim sind K1-Bildner zusätzlich resistent gegenüber Ceftriaxon und Aztreonam; die Resistenz gegenüber Cefepim kann variieren. K1-Bildner sind typischerweise Ceftazidim-empfindlich.

Die K1-Beta-Laktamase ist aber NICHT mit einer Extended-Spectrum Beta-Laktamase (ESBL) zu verwechseln oder gleichzusetzen. Die Angabe 'ESBL positiv' ergab aus diesem Grund einen Abzug. Für das Erreichen der vollen Punktzahl musste die Angabe 'ESBL nein' ersichtlich sein. Eine phänotypische ESBL-Abklärung kann bei Anwesenheit einer K1-Beta-Laktamase zu Schwierigkeiten führen, da die Synergietests mit Cefotaxim und Cefepim oft falsch positiv ausfallen können, nicht aber mit Ceftazidim (Potz, Livermore et al. False-positive extended-spectrum β -lactamase tests for *K. oxytoca* strains hyperproducing K1 β -lactamase; J Antimicrob Chemother. 2004;53(3)).

Folgende Antibiotika wurden nicht bewertet:

- Nitrofurantoin: Da Nitrofurantoin gemäss EUCAST nur bei unkomplizierten Harnwegsinfektionen (HWI) mit *E. coli* definiert ist, wurde es von uns, wie schon in den Ringversuchen zuvor, nicht bewertet. CLSI hingegen legt Grenzwerte für alle *Enterobacterales* fest; zu beachten ist, dass bei Disc-Diffusion mit CLSI eine andere Nitrofurantoin Disc-Ladung (50 μ g) als bei EUCAST (100 μ g) gilt.
- Colistin: Für Colistin ist nur eine Bestimmung mittels Bouillon-Mikrodilutionsmethode zulässig. Wir haben die Angabe von Colistin nicht bewertet.
- Doxycyclin: Keine Bewertung gab es ebenfalls für Doxycyclin, da EUCAST keine Grenzwerte angibt.
- Fosfomycin: Breakpoints für oral verabreichtes Fosfomycin sind bei EUCAST (und bei CLSI) nur für unkomplizierte HWI mit *E. coli* definiert. Breakpoints für Fosfomycin bei intravenöser Verabreichung (iv) gelten hingegen für alle *Enterobacterales*. In den neuen EUCAST Breakpoint Tables Version 13.1 (Juni 2023) ist Fosfomycin oral bei PK-PD (Non-species related) Breakpoints definiert, aber nur für unkomplizierte HWI und für die MHKs.

Identifikation	Anzahl
<i>Klebsiella oxytoca</i>	54
<i>Klebsiella oxytoca</i> Komplex	1

Probe B: Leberabszesspunktat / Cholangitis
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung

Enterococcus faecium bildet einen Teil der physiologischen Darmflora von Menschen und Tieren. In unserem Fall stammt das *E. faecium*-Isolat aus einem Leberabszesspunktat bei Cholangitis.

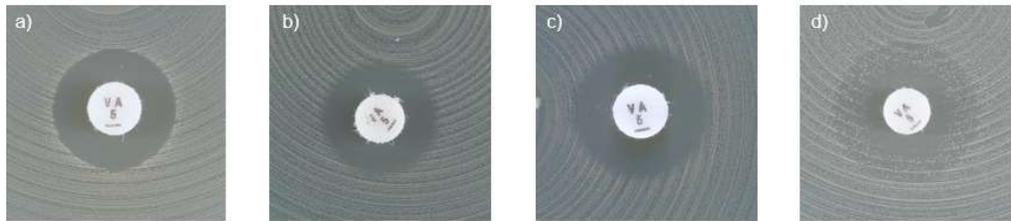
Enterococcus spp. ist eines der am häufigsten isolierten Gram-positiven Bakterien aus Gallenflüssigkeit von Patienten mit akuter Cholangitis. Dabei handelt es sich um eine potenziell lebensbedrohliche bakterielle Infektion, welche rasch in einer Sepsis münden kann und bei welcher eine rechtzeitige antimikrobielle Behandlung unerlässlich ist.

Bei unserem Stamm handelte es sich um einen Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE). In der PCR konnte das *vanB*-Gen detektiert werden. *vanA* und *vanB* sind beide plasmidisch und können auf andere Stämme übertragen werden. Sie sind deshalb spitalhygienisch von grosser Bedeutung.

Ist bei Vancomycin die Hemmzone auslaufend, muss entweder molekularbiologisch ein VRE ausgeschlossen oder Vancomycin als 'resistent' berichtet werden.

In den EUCAST-Richtlinien finden Sie zu diesem Thema folgende Interpretationshilfe:

(EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.1, valid from 2023-06-29)



b) Scharfer Hemmhofrand und Durchmesser von ≥ 12 mm. → als 'empfindlich' berichten.

b-d) Auslaufender Hemmhofrand oder Kolonien in der Hemmzone: Bestätigung mittels PCR oder als 'resistent' berichten, selbst wenn der Durchmesser ≥ 12 mm beträgt.

Für die Bewertung musste VRE zwingend erwähnt werden, um die volle Punktzahl zu erreichen.

Folgende Antibiotika wurden nicht bewertet:

- Clindamycin: Obwohl Isolate von *E. faecium* für Clindamycin in vitro empfindlich erscheinen, ist der therapeutische Nutzen des Medikamentes bei dieser Spezies nicht bekannt. Daher sollte das Ergebnis als resistent oder gar nicht berichtet werden.

- Die Angabe für MLS_B-Resistenz ist nicht anwendbar und wurde nicht bewertet.

- Oxacillin haben wir nicht bewertet, es ist für *Enterococcus* species nicht anwendbar.

Gentamicin wird bei Enterokokken zum Screening auf High-Level Resistenz (HLR) verwendet. Im Laborbericht muss bei Enterokokken der Hinweis der High-Level Resistenz unbedingt zusätzlich erfolgen. Auch wenn bei unserem Ringversuch Gentamicin sensibel angegeben war (ohne den HL-Hinweis), hielten wir dies trotzdem für korrekt.

Für Sulfamethoxazol/Trimethoprim ist für Enterokokken nur der ECOFF definiert. Richtige Grenzwerte existieren nicht, da die Aktivität gegenüber Enterokokken unklar ist und klinische Ergebnisse nicht vorhersehbar sind. Mit dem ECOFF kann einzig zwischen Wildtyp und Nicht-Wildtyp unterschieden werden. Wir haben 'resistent' als Angabe akzeptiert.

Identifikation	Anzahl
<i>Enterococcus faecium</i>	54
<i>Enterococcus</i> species	1

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

Der *Burkholderia cepacia*-Komplex, kurz BCC, besteht aus über einem Dutzend verschiedener Spezies einschliesslich *Burkholderia cenocepacia*, welche aus dieser Probe isoliert werden konnte.

Es handelt sich um Gram-negative nicht-fermentierende Stäbchen, die als fakultativ pathogen gelten. Besonders bei Patienten mit zystischer Fibrose sind sie als Erreger von pulmonalen Infekten gefürchtet, wobei der klinische Verlauf variieren kann von asymptomatischem Trägerstatus bis hin zur schwersten Verlaufsform, dem sog. Cepacia-Syndrom. Dabei handelt es sich um eine schwere progressive Atemwegserkrankung, die mit einer drastischen Verschlechterung der Lungenfunktion und einer Bakteriämie einhergeht und tödlich verlaufen kann. Das Cepacia-Syndrom wurde erstmals 1980/81 in Toronto bei einer Epidemie unter Mukoviszidose-Patienten beschrieben und ist am häufigsten durch die Spezies *B. cenocepacia* und *B. multivorans* verursacht. Patienten, die mit *B. cenocepacia* infiziert sind, haben zudem eine signifikant schlechtere Prognose (höhere Sterblichkeit) nach Lungentransplantation.

Alle Spezies des Genus *Burkholderia* sind ubiquitär verbreitet. Sie finden sich im Wasser, im Erdboden und auf Pflanzen. *B. cenocepacia* ist gegen einige Desinfektionsmittel und Antiseptika resistent und kann über einen längeren Zeitraum auf Oberflächen, einschliesslich menschlicher Haut und Schleimhautoberflächen, überleben.

Die Spezies der BCC sind resistent gegen viele geläufige Antibiotika. Sie sind meist empfindlich gegenüber Ceftazidim und Cotrimoxazol. Die Empfindlichkeit gegenüber Carbapenemen ist variabel. Für Colistin und Aminoglycoside besteht eine intrinsische Resistenz. Bei EUCAST existieren keine Grenzwerte für eine Resistenztestung. Für BCC wird auf ein Begleitdokument verwiesen. [BCC susceptibility testing 130719.pdf \(eucaast.org\)](#).

MALDI-TOF MS erzielt innerhalb des Komplexes keine gute Abgrenzung zwischen den jeweiligen Spezies. Für eine zuverlässige Speziesidentifizierung ist die *recA*-Gen Sequenzierung weiterhin unerlässlich.

In der Datenbank von Api20NE ist *B. cenocepacia* nicht enthalten.

Identifikation	Anzahl
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	22
<i>Burkholderia cepacia</i> Komplex	23
<i>Burkholderia cepacia</i> group	5
<i>Burkholderia cepacia</i>	4
<i>Burkholderia species</i>	1

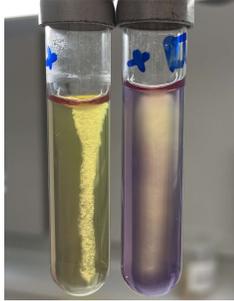
Probe D: Liquor / Eitrige Meningitis bei einem Neugeborenen
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Aus diesem Liquor bei eitriger Meningitis eines Neugeborenen konnte *Listeria monocytogenes* isoliert werden. Dies bereitete fast allen Teilnehmern keine Schwierigkeiten. *Listeria species* sind in der Umwelt weit verbreitet. *L. monocytogenes* wurde aus zahlreichen Säugetieren, Vögeln, Fischen, Krustentieren und Insekten isoliert, dennoch ist ihr primäres Habitat die Erde und verfaulendes pflanzliches Material.

Durch die grosse Verbreitung hat *L. monocytogenes* viele Möglichkeiten, in die Lebensmittelkette zu gelangen und so auch eine Infektion beim Menschen auszulösen. Dies wird durch eine besonders erfolgreiche Vermehrung der Listerien bei 4°C (psychrophil) begünstigt.

Als Infektionsquelle kommen einerseits tierische Lebensmittel (z.B. Fleisch und Wurstwaren, Fisch, Rohmilch und Milchprodukte, insbesondere Käse), aber auch pflanzliche Lebensmittel (z.B. vorgeschnittene Salate) in Frage. Es erkranken vor allem Personen mit einer geschwächten Immunabwehr, sowie schwangere Frauen, Neugeborene und ältere Personen. Bei Frauen, die sich während der Schwangerschaft mit Listerien infizieren, kann es zu einer Ansteckung des Kindes kommen.

Beweglichkeitstest im ODC (Ornithin-Decarboxylase) – Röhrrchen



Links:

Negative Beweglichkeit (keine Trübung und klar ersichtlicher Impfstrich) nach 24h Bebrütung bei 37°C ohne CO₂.

Rechts:

Positive Beweglichkeit (Trübung im Röhrrchen ersichtlich) nach 24h Bebrütung bei Raumtemperatur.

Bei unserem Isolat handelte es sich um Gram-positive Stäbchen, welche auf Schafblutagar milchige Kolonien mit einer leichten Hämolyse zeigten. Es war Katalase positiv, bei 22°C beweglich und zeigte einen für *L. monocytogenes* typischen positiven CAMP. Mittels MALDI-TOF MS, Api Coryne und CTA-Bio konnte unser Stamm als *L. monocytogenes* identifiziert werden. Laut Typisierung handelt es sich um eine *L. monocytogenes* 1/2a. *L. innocua* ist CAMP-negativ, macht keine Beta-Hämolyse und kann so von *L. monocytogenes* unterschieden werden, falls bei manchen Stämmen in MALDI-TOF MS diese Abgrenzung Schwierigkeiten bereitet.

Alle Cephalosporine weisen eine Wirkungslücke gegenüber Listerien auf. Aus diesem Grund sollte prinzipiell beim Vorliegen einer Meningitis bei Immunsupprimierten oder Patienten mit entsprechenden Risikofaktoren in der Initialtherapie neben Ceftriaxon ein Listerien wirksames Antibiotikum gegeben werden (wie z.B. Ampicillin).

Der Nachweis von *Listeria monocytogenes* ist meldepflichtig und die Isolate sind an das vom BAG bezeichnete Referenzzentrum weiterzuleiten.

Identifikation	Anzahl
<i>Listeria monocytogenes</i>	52
<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>	1
<i>Listeria species</i>	2

Probe E: Blutkultur / Immunsupprimierter Patient mit Bakteriämie
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei *Roseomonas mucosa* handelt es sich um ein Gram-negatives, Oxidase-positives Stäbchen, welches in der Umwelt verbreitet ist und relativ selten aus klinischen Proben isoliert wird. Obwohl der Keim eine niedrige Virulenz aufweist, kann er schwere systemische Infektionen, insbesondere bei Patienten mit Grunderkrankungen oder Immunsuppression verursachen.

Roseomonas bekam seinen Namen durch das pinkfarbene Pigment auf Schafblutagar. Die Speziesbezeichnung leitet sich vom lateinischen *mucosa* (mukös, schleimig) ab und bezieht sich auf die schleimigen, fast flüssigen Kolonien. Dieses typische Wachstum ist erst nach längerer Bebrütung (ab dem 2.-3. Tag) zu erkennen.

In der Resistenzprüfung ist *R. mucosa* meistens empfindlich auf Aminoglycoside, Chinolone und Carbapeneme.

Die Identifikation mit MALDI-TOF MS gelingt gut, in der Datenbank von Api20NE ist *R. mucosa* nicht enthalten.

Identifikation	Anzahl
<i>Roseomonas mucosa</i>	39
<i>Roseomonas gilardii</i>	7
<i>Roseomonas gilardii subsp. rosea</i>	1
<i>Roseomonas gilardi/mucosa</i>	2
<i>Roseomonas species</i>	2
<i>Ralstonia pickettii</i>	1
<i>Rhizobium radiobacter</i>	1
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1
Gram negative Diplokokken	1

Mit freundlichen Grüßen

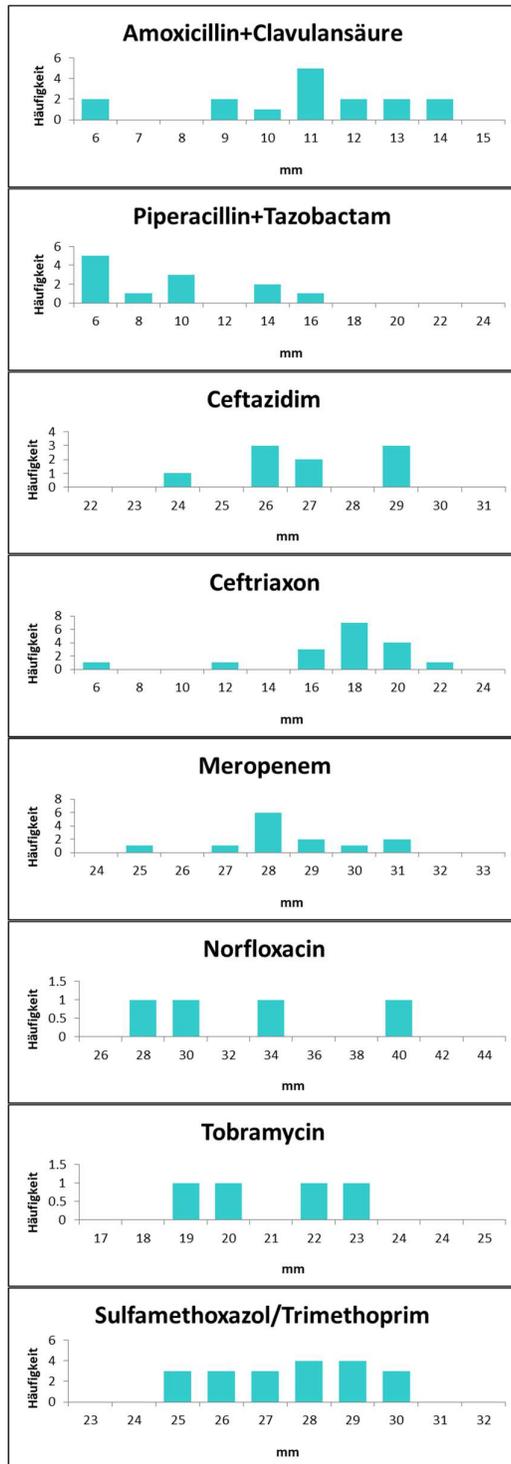


Dr. med. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Resistenzprüfung Probe A



Resistenzprüfung Probe B

