

## Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2017-1

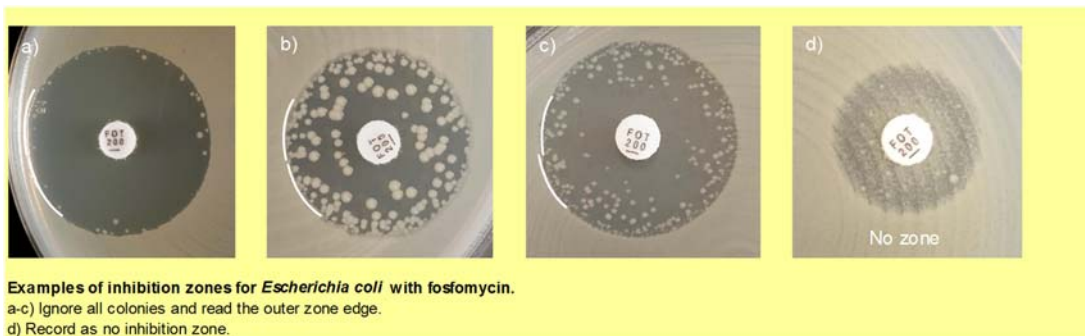
**Probe A: Harnwegsinfekt**

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

Die in dieser Probe enthaltene *Escherichia coli* konnte von allen Teilnehmern identifiziert werden. *E. coli* ist der häufigste Erreger unkomplizierter Harnwegsinfektionen. Bis auf die Chinolone war unser Stamm für alle getesteten Antibiotika sensibel.

Wir wollten darauf hinweisen, dass die Breakpoints der Chinolone bei EUCAST 2017 verschärft wurden; die Hemmhof-Grenzwerte für Ciprofloxacin, Ofloxacin und Levofloxacin wurden angehoben und dementsprechend die MHK-Grenzwerte um eine Stufe erniedrigt. Es ist zu erwarten, dass weitere Anpassungen erfolgen, weil die ECOFFs für Chinolone den Wildtyp einiger Spezies der *Enterobacteriaceae* nicht korrekt von den resistenten Stämmen abgrenzen. Möglicherweise wird es in Zukunft für jede einzelne Spezies eigene Grenzwerte geben müssen, wie dies bereits jetzt bei den Staphylokokken teilweise der Fall ist (siehe Probe B).

Änderungen gab es auch bei Fosfomycin. Für *E. coli* sind ab 2017 bei EUCAST auch die Hemmhöfe zugelassen; es muss nicht zwingend eine MHK gemacht werden. Wichtig ist aber, dass dies nur für *E. coli* bei unkomplizierten HWI gilt. Bei allen anderen *Enterobacteriaceae* muss weiterhin eine MHK bestimmt werden. Wir wollten auf die Ablesung von Fosfomycin hinweisen. Laut EUCAST 2017 sollen Einzelkolonien im Hemmhof ignoriert werden; der äussere Hof wird abgelesen:



Einigen Teilnehmern war dies vielleicht nicht bewusst. Dies könnte der Grund für die sehr unterschiedlichen Resultate bei Fosfomycin sein. Wir haben alle Werte gelten lassen. Bitte beachten Sie, dass bei der Testung von Fosfomycin Glucose-6-Phosphat vorhanden sein muss; im 200 µg Disc sollten 50 µg Glucose-6-Phosphat enthalten sein.

### Identifikation

*Escherichia coli*

### Anzahl

65

**Probe B: Katheter assoziierte Infektion**

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

In dieser Probe konnte *Staphylococcus epidermidis* identifiziert werden, was den meisten Teilnehmern keine Schwierigkeiten bereitete. Die genaue Identifikation auf Speziesebene ist wichtiger geworden, da es seit diesem Jahr bei EUCAST spezielle Cefoxitin-Hemmhöfe für *S. epidermidis* gibt. In der EUCAST Version 7.0 vom 1. 1. 2017 sind die Hemmhofdurchmesser von <28 mm als ‚resistent‘ und von ≥28 mm als ‚sensibel‘ interpretiert. In der **Nachversion 7.1 vom 10. 3. 2017** sind allerdings die Grenzwerte für Cefoxitin wieder auf 25 mm (wie 2016) heruntergenommen worden. Jost et al. haben am Institut für Medizinische Mikrobiologie zeigen können, dass insbesondere Stämme von *S. epidermidis* mit Cefoxitin-Hemmhöfen von 25-28 mm durchaus Methicillin-resistent sein können, also für *mecA* positiv sind (Jost G, Bloemberg GV, Hombach M. Improved sensitivity for methicillin resistance detection in coagulase-negative staphylococci by moxalactam antibiotic discs or a cefoxitin investigation zone. J Med Microbiol. 2016 65:566-68).

Für die anderen Koagulase-negative Staphylokokken war der Grenzwert von 25 mm zu hoch; hier gilt neu wie bei *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* und *Staphylococcus saprophyticus* als Grenze 22 mm. Werden Koagulase-negative Staphylokokken nicht auf Speziesebene identifiziert, gelten die gleichen Hemmhöfe wie bei *S. epidermidis*; die häufigsten Koagulase-negative Staphylokokken sind ja *S. epidermidis*. Allerdings waren in der Version 7.0 vom 1. 1. 2017 die vorgeschlagenen Cefoxitin-Hemmhöfe bei nicht ausdifferenzierten Koagulase-negativen Staphylokokken für Resistenz <22 mm und für Empfindlichkeit ≥ 25 mm; Isolate mit Hemmhofdurchmessern von 22-24 mm sollten als ‚resistent‘ berichtet oder die Anwesenheit von *mecA* ausgeschlossen werden. Diese Vorgehensweise ist jetzt nicht mehr erwähnt. Unser Stamm war Ampicillin, Penicillin, Clindamycin sowie Tetracyclin resistent. Auf die übrigen getesteten Antibiotika war er sensibel. Es war kein MLS-Phänomen sichtbar. Bei Tetracyclin-Resistenz im Blättchentest muss eine allfällige Empfindlichkeit von Doxycyclin laut EUCAST mittels MHK ermittelt werden. Nur Tetracyclin-sensible Werte können ohne Testung auf Doxycyclin übertragen werden. Unser Stamm zeigte für Tetracyclin eine MHK von 1.5 mg/L und war somit intermediär; sensibel wurde auch akzeptiert.

Achtung: für *Staphylococcus* sp. haben sich die Hemmhöfe der Chinolone auch geändert. Bereits früher waren die Hemmhöfe für Aminoglykoside bei Koagulase-negativen Staphylokokken verschieden zu denjenigen von *S. aureus*. Nun finden wir diese Trennung auch bei Chinolonen; – insbesondere für Koagulase-negative Staphylokokken sind die Grenzwerte verschärft worden.

Koagulase-negative Staphylokokken sind oft sehr resistent, so dass vermehrt Daptomycin eingesetzt wird. Eine generelle Angabe von Daptomycin (MHK) fördert aber den Missbrauch. Daptomycin ist weiterhin ein Reservemedikament, welches nicht primär berichtet werden sollte.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	61
<i>Staphylococcus Koagulase negativ</i>	2
Gram-positive Kokken	1
Keine Angabe	1

#### Probe C: Infekt

#### Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) COLISTIN TESTEN

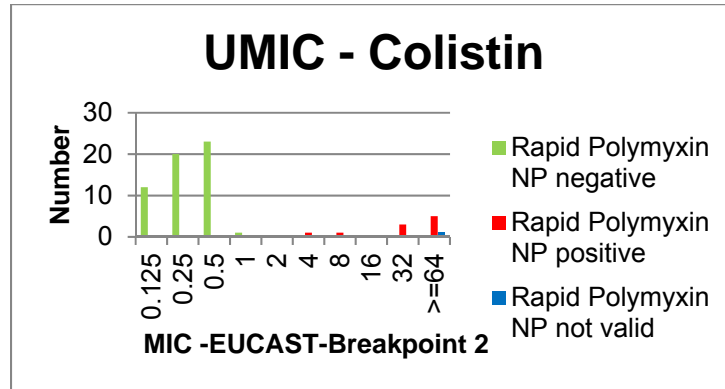
Die in dieser Probe enthaltene *Klebsiella pneumoniae* wurde von den meisten Teilnehmern korrekt identifiziert. Im Gegensatz zu *K. oxytoca* ist sie Indol negativ. Vitek2, API20E, hauseigene Bio und MALDI-TOF ergaben alle korrekte Resultate.

Es handelte sich um eine multiresistente *K. pneumoniae*. Sie besitzt eine Carbapenemase der Klasse A vom Typ KPC. Die ESBL- und AmpC-Abklärungen waren negativ. Wir haben nur um die Testung von Colistin gebeten. Wir machen Sie darauf aufmerksam, dass in der externen QK vermehrt auch resistente Bakterien verschickt werden. Prinzipiell sind diese resistenten *Enterobacteriaceae* in der Schweiz weiterhin in der Gruppe 2 eingeteilt und können mit UN 3373 verschickt werden. Wir bitten Sie aber, diese Stämme nach der Verarbeitung zu entsorgen oder sicher aufzubewahren.

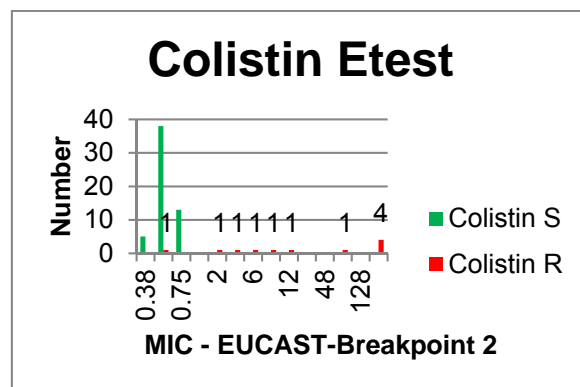
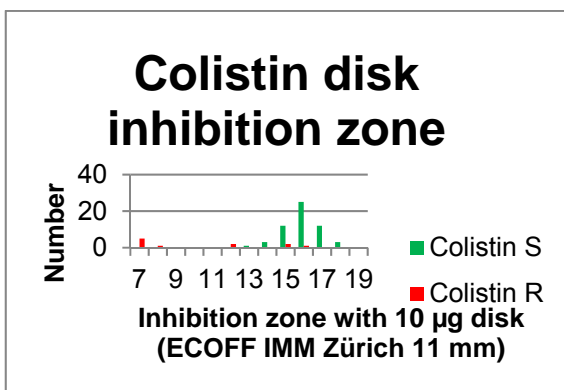
Im Rahmen einer Diplomarbeit der HöFa (S. Zryd) wurden über 50 – in der Regel multiresistente – *Enterobacteriaceae* mit verschiedenen Methoden auf Colistin getestet; darunter waren auch einige natürlicherweise Colistin-resistente Spezies wie *Serratia* sp. Insgesamt gab es mittels Blättchentest (10 µg Colistin) mit einem hausinternen ECOFF von 11 mm (Daten von mehreren Tausend Stämmen von verschiedenen *Enterobacteriaceae*) bei 5 Colistin-resistenten Bakterien falsch empfindliche Hemmhöfe; mit einem kommerziellen ETest war nur 1 Resultat falsch empfindlich. Es ist aber zu ergänzen, dass keiner unserer getesteten Stämme die plasmidische Colistin-Resistenz trug.

Als Goldstandard haben wir eine von EUCAST empfohlene MHK-Methode bzw. eine neue Schnellmethode eingesetzt, welche eine 100% Übereinstimmung zeigten (siehe Graphiken):

## Resultate von einer MHK – Methode (EUCAST) und einer Schnellmethode



## Resultate mit dem Blättchentest und Etest



Es ist dringend empfohlen, bei einer Colistin-Therapie eine allfällige Colistin-Resistenz mit einer der obigen Referenzmethoden (MHK oder Schnelltest) zu suchen. Sie werden demnächst vom BAG über die Möglichkeit informiert, solche Untersuchungen im Nationalen Referenzlaboratorium zur Früherkennung neuer Antibiotikaresistenzen und Resistenzmechanismen (NARA) überprüfen zu lassen. Die Qualitätskontrolle für Colistin sollte laut EUCAST mit einem Colistin-sensiblen (*Escherichia coli* ATCC 25922 oder *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) und einem Colistin-resistenten Stamm (*E. coli* NCTC 13846, *mrc1* positiv) durchgeführt werden.

Der vorliegende *K. pneumoniae*-Stamm war Colistin-resistent (MHK 2-3 mg/L, Grenze bei 2 mg/L).

2 Teilnehmer hatten eine MHK von 0.5 bzw. 1.5 mg/L gemessen; 3 eine MHK von 2 mg/L. Weitere Teilnehmer hatten folgende MHK-Resultate: 3 mg/L bei 6 Teilnehmern, 4 mg/L bei 4 Teilnehmern, >4 mg/L bei 8 Teilnehmern und  $\geq 16$  mg/L (Vitek) bei 9 Teilnehmern.

Identifikation	Anzahl
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Colistin resistant	38
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Colistin sensibel	10
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
Gram-negative Stäbchen	1
Keine Angabe	1

**Probe D: Biss**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

Bei *Eikenella corrodens* handelt es sich um schlanke, gerade und kulturell anspruchsvolle (kein Wachstum auf MacConkey-Agar) Gram-negative Stäbchen, welche am häufigsten aus Proben des oberen Respirationstraktes und des Mundes (Mensch und Tier) isoliert werden. Beim Eindringen ins Gewebe (wie z.B. durch einen Biss) kann *E. corrodens* Infektionen hervorrufen.

*E. corrodens* bildet keine Säure aus Zuckern, ist Oxidase positiv, jedoch Katalase und Indol negativ, reduziert Nitrat zu Nitrit und decarboxyliert Ornithin und meistens auch Lysin. Die Kolonien vieler Stämme graben sich in den Agar ein und haben eine Tendenz zum Schwärmen. Dies war bei unserem Stamm jedoch nicht der Fall. Beim Zusammenschieben der Kolonien zeigt sich ein gelbliches Pigment. Auf TSI-Agar sieht man häufig wenig bis gar kein Wachstum; Schrägfläche und Stich bleiben unverändert.

Mittels CTA-Bio, MALDI-TOF und Api20E (!) konnte sie gut identifiziert werden. Wir haben früher publiziert, dass auch die Vitek 2 NH Karte *E. corrodens* ausgezeichnet identifizieren kann (de Melo et al. BMC Microbiology 2013 13:162).

Identifikation	Anzahl
<i>Eikenella corrodens</i>	60
<i>Pasteurella species</i>	1
Gram-negative Stäbchen	2
Keine Angabe	2

**Probe E: Lungentransplantation bei CF**  
**Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)**

Bei *Raoultella* sp. handelt es sich um ein Gram-negatives Stäbchen der Familie der *Enterobacteriaceae*. Sie ist der *Klebsiella pneumoniae* sehr ähnlich. Mit 99% Wahrscheinlichkeit gelang mittels Vitek 2 die Identifikation für *R. planticola*. Api20E gab einen Hinweis für *R. planticola*, aber die Identifikation ergab *K. pneumoniae* mit einer Wahrscheinlichkeit von 97.3% und einem T-Wert von 1.0. Mittels MALDI-TOF konnte die Spezies nicht bestimmt werden, da mit einem Score von 2.17 (*R. planticola*) und 2.11 (*Raoultella ornithinolytica*) der Keim nur als *Raoultella* sp. berichtet werden darf. Die negative Ornithindecaboxylase spricht gegen *R. ornithinolytica*. Die Sequenzierung (16S RNA Gen) ergab bei uns aufgrund geringer Sequenzunterschiede keine deutliche Abgrenzung von *R. planticola*, *R. ornithinolytica* und *Enterobacter aerogenes*. Mit diesem Stamm wollten wir erneut zeigen, dass oft nur die Kombination mehrerer Methoden die Identifizierung erlaubt.

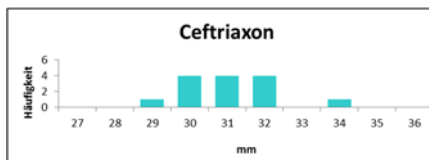
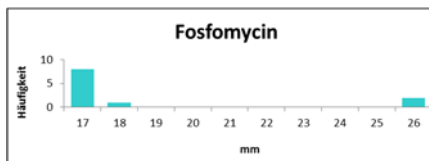
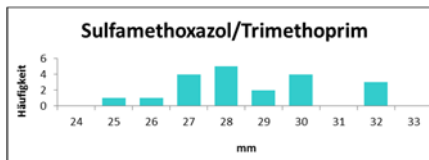
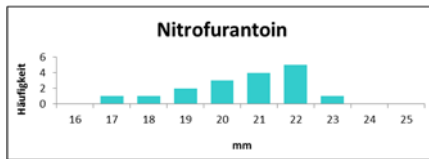
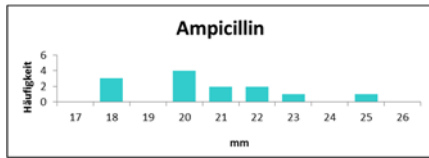
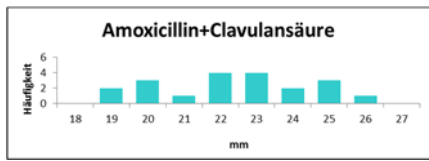
Identifikation	Anzahl
<i>Raoultella planticola</i>	47
<i>Raoultella species</i>	2
<i>Raoultella ornithinolytica/planticola</i>	4
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
Gram-negative Stäbchen	1
Keine Angabe	2

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. R. Zbinden

F.S. Hufschmid-Lim

## Resistenzprüfung der Probe A



## Resistenzprüfung der Probe B

