



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

Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2023-4

Probe A: Sputum / Pneumonie
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung

Der Nachweis der Pneumokokken im Sputum ist allen Teilnehmern gelungen; die Gallelöslichkeit war positiv und Optochin war sensibel. Auf Schaffblutagar zeigten sich nach 18- bis 24-stündiger Bebrütung vergrünende, schleimige Kolonien.

Der Stamm war empfindlich gegenüber Penicillin und andere β -Laktam-Antibiotika.

Gemäss EUCAST wird das Screening auf β -Laktam Resistenz entweder mit Oxacillin (1 μ g) Blättchentest oder mittels Penicillin MHK-Bestimmung durchgeführt (negatives Screening: Oxacillin Hemmhofdurchmesser ≥ 20 mm oder Penicillin MHK ≤ 0.06 mg/L). So werden mögliche veränderte Penicillin-bindende Proteine, welche zu einer verminderten Penicillin-Empfindlichkeit führen zuverlässig detektiert. Oxacillin soll aber dem Auftraggeber nicht berichtet werden, da es sich nur um einen indirekten Resistenztest handelt. In der EUCAST Breakpoint Tabelle (EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.1, valid from 2023-06-29) ist auf Seite 57 ein Diagramm eingebunden, welches die Interpretation des Screenings für die β -Laktam-Resistenz bei *Streptococcus pneumoniae* aufzeigt.

Die Empfindlichkeit gegenüber Fluorochinolonen kann von Norfloxacin abgeleitet werden, welches aber nur als Screening-Substanz verwendet werden darf und bei Pneumokokken-Infektionen nicht als Therapie verabreicht wird. Ciprofloxacin soll gemäss EUCAST bei Pneumokokken resistent gesetzt werden. Für Levofloxacin darf nur die Empfindlichkeit bei erhöhter Dosierung «I» (increased exposure) angegeben werden. Im Fall einer Resistenz gegenüber Norfloxacin muss die Empfindlichkeit von Levofloxacin oder Moxifloxacin separat getestet werden. Alle Teilnehmer, die ein empfindliches Ergebnis («S») für Levofloxacin meldeten, erhielten nur die Hälfte der Punktzahl.

Gentamicin wurde nicht bewertet. Für Aminoglykoside (inkl. Gentamicin high-level) und Pneumokokken gibt es keine Breakpoints bei EUCAST und sie sollten entweder resistent gesetzt oder nicht berichtet werden.

Identifikation	Anzahl
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	55

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

In dieser Probe einer Blutkultur bei Sepsis konnte *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Chester (oder kurz *Salmonella* Chester) isoliert werden. Es handelt sich dabei um eine enteritische Salmonelle der Serogruppe B.

Mittels MALDI-TOF MS, API 20E, hauseigener Biochemie und VITEK 2 konnte nur eine Identifikation auf Genusebene erzielt werden.

Bei der Salmonellen-Agglutination zeigten folgende Antiseren eine Agglutination: Anti-Poly A-E, anti-Poly H und anti-O:4 (Gruppe B). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Chester wurde weltweit aus verschiedenen Tierarten und Lebensmitteln isoliert, wird aber bei der Überwachung von Krankheitsausbrüchen beim Menschen nicht häufig identifiziert (weniger als 0.1% aller jährlich gemeldeten Salmonellose Fälle in Europa, gemäss ECDC). Wir haben alle Resultate mit der Angabe *Salmonella* sp. akzeptiert, weisen aber darauf hin, dass zumindest angegeben werden sollte, ob die typhösen Salmonellen ausgeschlossen sind. Die Angabe von *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Enteritidis ergaben jeweils nur einen Punkt, da es sich um die falsche Serovar-Bestimmung handelte.

Das Isolat war empfindlich gegenüber allen getesteten Antibiotika.

Aminoglykoside wurden nicht bewertet. Da Salmonellen während ihres Infektionszyklus auch intrazellulär vorkommen und Aminoglykoside nicht in die Zellen eindringen können, gelten Aminoglykoside als unwirksam. Gemäss der EUCAST Expert Rules v 3.2 für *Salmonella* spp. sollen Aminoglykoside als resistent berichtet werden, selbst wenn die in vitro Testung empfindlich ausfällt.

Für extraintestinale Salmonella-Isolate wie das Vorliegende gelten besondere Grenzwerte für Fluorochinolone, insbesondere Ciprofloxacin. Der Grund dafür ist, dass es Hinweise auf ein klinisches Versagen der Chinolontherapie gibt, wenn das Isolat eine oder mehrere Zielmutationen im *gyrA*-Gen erworben hat. Das Screening auf low-level Ciprofloxacin Resistenz bei extraintestinalen Salmonella-Isolaten erfolgt mit einem Pefloxacin (5 µg) Blättchentest. Alternativ kann eine MHK-Bestimmung von Ciprofloxacin durchgeführt werden (Grenzwert bei ≤ 0.06 mg/L). Unser Isolat zeigte keine low-level Chinolonresistenz (Wildtyp).

Identifikation	Anzahl
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Chester	1
<i>Salmonella</i> Chester	1
<i>Salmonella enterica</i>	10
<i>Salmonella enterica</i> Gruppe B	3
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	9
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Gruppe B	1
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1
<i>Salmonella</i> Gruppe	2
<i>Salmonella</i> Gruppe B	8
<i>Salmonella</i> species	18
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1

Probe C: Herzklappengewebe / Endocarditis
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Es handelte sich um *Erysipelothrix rhusiopathiae*, den Erreger des Erysipeloids, einer zoonotischen Infektion. Dieses Gram-positive Stäbchen ist vor allem bei Tierarten wie Schweinen, Schafen, Fischen oder Geflügel zu finden. *E. rhusiopathiae* zeigt sich im Gram-Präparat als gerade, oft fädige, gelegentlich kurze Ketten-bildende sporenlose Gram-positive Stäbchen. Die Kolonien sind <0.5 mm im Durchmesser, grauweiss, zeigen eine α-Hämolyse und sind Katalase-negativ. Der Erreger kann aufgrund der Morphologie im Grampräparat als auch der Koloniemorphologie leicht mit Lactobacillen verwechselt werden.

E. rhusiopathiae ist bekannt als Erreger des Schweinerotlaufs, einer mitunter akut septischen und häufig letal endenden Infektionskrankheit des Schweines. Bei berufsexponierten Personen (Tierärzte, Metzger, Landwirte, Fischer, Fischhändler, Köche) kann sich bei Hautverletzungen das klinische Bild einer lokalisierten Cellulitis, das sogenannte Erysipeloid manifestieren: schmerzhafte blaurötliche Verfärbung mit Schwellung und Bläschenbildung, aber ohne Eiterproduktion. Im Gegensatz zum klassischen Erysipel (Erreger: *Streptococcus pyogenes*) ist das Erysipeloid umschrieben und Allgemeinsymptome wie Fieber oder Beteiligung von Lymphbahnen sind seltener. Die Läsionen heilen nach 1-3 Wochen spontan ab.

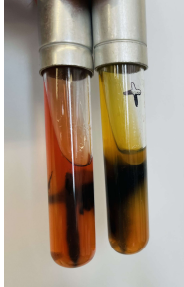


Erysipeloid bei einer 58-jährigen Veterinärlaborantin die sich bei der Sektion einer Gans mit einem Gänserippenfragment in den Handschuh und die darunter liegende Haut gestochen hatte (Quelle: NRGK, Vetsuisse, UZH).

Wenn der Erreger in Blutkulturen nachgewiesen wird, sollte sofort an eine Endokarditis gedacht werden. Risikofaktoren für eine systemische Infektion sind Immunschwäche, Diabetes mellitus und chronische Nierenerkrankungen. Die *E. rhusiopathiae*-Endokarditis hat eine hohe Mortalität, daher ist eine sofortige medizinische oder chirurgische Behandlung von grösster Bedeutung.

Der Keim ist durch MALDI-TOF MS, API Coryne und VITEK 2 leicht zu identifizieren. Die richtige Diagnose konnte von den meisten Teilnehmern gestellt werden. Charakteristisch für *E. rhusiopathiae* ist die H₂S-Bildung im TSI. Aus Kohlenhydraten wird kein Gas gebildet.

H₂S-Bildung im TSI- Röhrrchen



Links:

Charakteristische H₂S-Bildung im TSI-Röhrrchen ohne Zusatz von Kaninchenserum.

Rechts:

Charakteristische H₂S-Bildung im TSI-Röhrrchen mit Zusatz von Kaninchenserum – durch das Kaninchenserum wird die Beurteilung von fermentativen und nichtfermentativen Bakterienstämmen einfacher, da es zur Wachstumsunterstützung beiträgt.

E. rhusiopathiae ist intrinsisch resistent gegenüber Vancomycin, ist aber auf Penicillin empfindlich.

Identifikation	Anzahl
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	53
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2

Probe D: Tiefen Wundabstrich / Posttraumatische Wundinfektion
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei *Bacillus mycoides* handelt es sich um Gram-positive Stäbchen der *Bacillus cereus*-Gruppe. *B. mycoides* und seine Sporen kommen ubiquitär in der Umwelt vor.

Erreger der *B. cereus*-Gruppe findet man daher häufig in Wunden. Insbesondere der virulentere *B. cereus* verursacht häufig Weichteil- und Knocheninfektionen nach einem penetrierenden Trauma oder Schleimhautverletzungen (Schusswunden, offene Frakturen, Tierbisse, Verbrennungen). Ein weiteres typisches Krankheitsbild ist die *B. cereus* Endophthalmitis - dieser Erreger kann ein infiziertes Auge schnell zerstören, insbesondere im Falle eines penetrierenden Traumas mit einem Fremdkörper.

Obwohl *B. mycoides* im Gegensatz zu *B. cereus* keine Virulenzfaktoren besitzt, soll die Relevanz seines Nachweises in unserer Probe aus klinischer Sicht beurteilt werden.

Auf Schafblutagar wächst *B. mycoides* als mattgraue Kolonien mit starker β -Hämolyse. Katalase, Oxidase und Lecithinase waren positiv. *Bacillus mycoides* und *Bacillus anthracis* differenzieren sich von *Bacillus cereus* und *Bacillus thuringiensis* durch die fehlende Motilität im hängenden Tropfen. Das rhizoide Kolonienwachstum (sogenanntes Medusahaupt) auf Nährmedien kann hingegen bei allen vier oben genannten Spezies vorkommen. Das Vorhandensein der Hämolyse und die Penicillin-Resistenz sind weitere diagnostische Merkmale, mit welchen sich *B. anthracis* mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschliessen lässt.



“Medusahaupt” im bakteriellen und historischen Kontext

Identifikation	Anzahl
<i>Bacillus mycoides</i>	17
<i>Bacillus cereus</i> Gruppe	25
<i>Bacillus cereus</i> Komplex	3
<i>Bacillus cereus</i>	3
<i>Bacillus cereus/thuringiensis</i> Gruppe	1
<i>Bacillus mycoides/thuringiensis</i>	1
<i>Bacillus species</i>	2
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
<i>Sphingomonas species</i>	1

Probe E: Mittelstrahlurin / Harnwegsinfektion, Frage nach VRE
Anforderung: Potentiell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Enterococcus faecium ist Bestandteil der physiologischen Darmflora von Menschen und Tieren. Darüber hinaus kann *E. faecium* oft aus Urin bei Harnwegsinfektionen isoliert werden. In unserem Fall stellten wir zusätzlich die Frage nach VRE. *E. faecium* konnte von allen Teilnehmern problemlos identifiziert werden.

Bei unserem Stamm handelte es sich erneut um Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). In der PCR konnte dieses Mal das *vanA*-Gen detektiert werden. 92% der Teilnehmer stellten mit der Angabe von VRE die richtige Diagnose. Die Schwierigkeit bestand in der Erkennung der auslaufenden Hemmzone des Vancomycin-Discs. Bei unserem Stamm handelt es sich um einen *E. faecium* VRE mit schwach ausgeprägter Vancomycin-Resistenz, bei dem der grösste Teil der Population einen Vancomycin MHK-Wert von 3 oder 4 mg/L (empfindlich) zeigte. Dies ist ungewöhnlich für ein *vanA*, da sie im Gegensatz zu *vanB* normalerweise höhere Vancomycin MHKs aufweisen (>64 mg/L). Teicoplanin war bei diesem Isolat resistent, was typisch für *vanA* ist.

Wie schon im letzten Ringversuch (2023-3) erwähnt, muss bei einem auslaufenden Vancomycin-Hemmhof entweder molekularbiologisch ein VRE ausgeschlossen werden oder Vancomycin muss als 'resistent' berichtet werden. Die Interpretationshilfe zu diesem Thema finden Sie in den EUCAST-Richtlinien (EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.0, valid from 2023-01-01).

Sogenannte Vancomycin-variable Enterokokken (VVE) sind ein Beispiel für eine weitere diagnostische Herausforderung, die sich am Horizont abzeichnet. In Dänemark beispielsweise wurden in den letzten Jahren Ausbrüche mit dem VVE *vanA E. faecium* Klon ST1421-CT1134 gemeldet (Hammerum et al, Euro Surveill. 2019 Aug 22; 24(34)). Es handelt sich dabei um Enterokokken-Stämme, die eine «silent copy» vom Vancomycin-Resistenzgen tragen, aber phänotypisch vollkommen empfindlich gegenüber Vancomycin sind. Diese Stämme sind in der Lage, während einer Antibiotikabehandlung in einen resistenten Phänotyp (VVE→VRE) überzugehen, was den Therapieerfolg erheblich beeinträchtigt. Besonders herausfordernd für die Diagnostik ist, dass der VVE nur mit molekularen Methoden nachgewiesen werden kann und sich auf selektiven Vancomycin-haltigen Medien nicht kultivieren lässt.

Identifikation	Anzahl
<i>Enterococcus faecium</i>	55

Mit freundlichen Grüßen

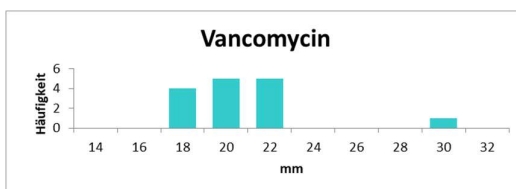
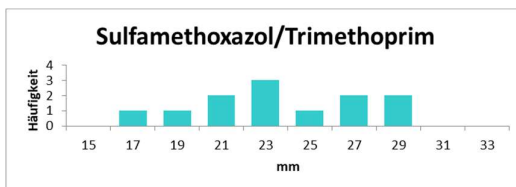
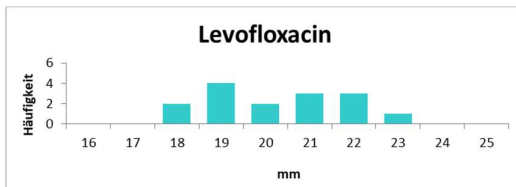
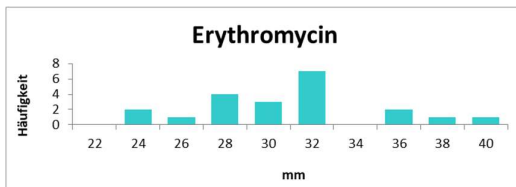
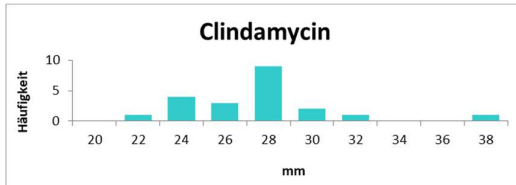
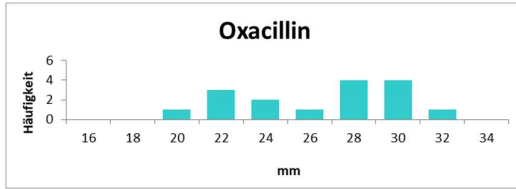


Dr. med. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Resistenzprüfung Probe A



Resistenzprüfung Probe B

