



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

Kommentar zum Ringversuch B9 Mikrobiologie 2024-1

Probe A: Mittelstrahlurin / HWI
Anforderung: Potenziell 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.

Bei unserem Stamm handelte es sich um eine *E. coli* mit einer Carbapenemase der Klasse D vom Typ OXA-48-like.

OXA-48 wurde erstmals im Jahr 2001 in der Türkei entdeckt, bevor es sich über die Mittelmeerländer nach Westeuropa verbreitete. Als Besonderheit zeigt diese Carbapenemase eine schwache hydrolytische Aktivität im Vergleich zu anderen Carbapenemase Typen wie KPC oder NDM. Eine Reihe von Punktmutationen führt zur Entstehung zahlreicher Varianten innerhalb der OXA-48-Gruppe.

Bei unserem Stamm handelt es sich um eine besondere OXA-48-Variante, nämlich OXA-244. In einem Schreiben vom 29. Oktober 2019 macht das NARA darauf aufmerksam, dass seit Anfang 2019 vermehrt OXA-244-Produzenten in *E. coli* aus verschiedenen Teilen der Schweiz nachgewiesen wurden. OXA-244 hat im Vergleich zu OXA-48 eine noch schwächere Carbapenemase-Aktivität und der Nachweis im Labor kann schwierig sein.

Obwohl die meisten OXA-48-like Isolate eine ESBL vom CTX-M-Typ ko-exprimieren, besass unser Stamm keine ESBL. Bei diesem Isolat waren in der konventionellen Testung alle Penicilline resistent (inkl. Kombination mit β -Lactamase-Hemmern), die Cephalosporine sensibel, Ertapenem resistent aber Imipenem und Meropenem ebenfalls sensibel. Eine Piperacillin-Tazobactam und Temocillin-Resistenz sind hochempfindliche Surrogat-Marker für die Anwesenheit von OXA-48-like. Allerdings sind sie sehr unspezifisch, da auch andere Resistenzmechanismen zu deren Resistenz führen können. Obwohl OXA-244 Temocillin weniger hydrolysiert als OXA-48, war unser Stamm eindeutig resistent gegen Temocillin. Die Variante konnte mit gängigen Antigen-Schnelltests wie derjenige von NG Biotech problemlos nachgewiesen werden.

Obwohl es sich um einen schwierigen Stamm handelte, konnten fast alle Teilnehmer (49/54) das Vorhandensein dieser Carbapenemase erfolgreich vermuten oder bestätigen.

Wir verweisen für weitere Informationen auf die Dokumente: "EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance; Version 2.0; July 2017" und "Carbapenemase OXA-244 in *E. coli* in Switzerland; Prof. Patrice Nordmann, Dr. Julie Kessler, Dr. Laurent Poirel; NARA Warning, 29.10.2019".

Identifikation	Anzahl
<i>Escherichia coli</i>	54

Probe B: Oberflächlicher Wundabstrich / Mamma-Abszess
Anforderung: Potenziell pathogene Bakterien (Genus + Spezies) + Resistenzprüfung

In dieser oberflächlichen Wunde bei einem Mamma-Abszess konnte *Staphylococcus lugdunensis* isoliert werden. Die Identifikation stellte für die Teilnehmer, die MALDI TOF MS verwendeten, kein Problem dar. *S. lugdunensis* gehört zur Gruppe der Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS). Für eine phänotypische Identifikation sind die positive Ornithindecaboxylase- und PYR-Reaktion ausschlaggebend.

Der Name *S. lugdunensis* leitet sich von der Stadt Lyon (lateinisch «Lugdunum») ab, wo er erstmals beschrieben wurde. Obwohl *S. lugdunensis* zur normalen Hautflora gehört, nimmt er aufgrund von diversen Virulenzfaktoren eine Sonderstellung unter den KNS ein, so dass

Infektionen mit diesem Keim im Allgemeinen denjenigen von *S. aureus* ähnlicher sind als denen, die durch andere KNS hervorgerufen werden.

Jedoch wird in einem Minireview von Argemi et al. aus 2017 (J Clin Microbiol. 2017 Nov;55(11):3167-3174) unter dem Titel «Is *Staphylococcus lugdunensis* Significant in Clinical Samples?» die klinische Relevanz des Nachweises von *S. lugdunensis* nochmals diskutiert.

Die Autoren schlagen vor, dass *S. lugdunensis* in Reinkultur aus tiefen klinischen Proben wie z. B. Blutkulturen oder Knochen- und Gelenkproben zumindest so lange als pathogen angesehen werden sollte, bis eine andere Diagnose nachgewiesen wird, selbst dann, wenn nur eine Probe positiv ist. Sie raten jedoch zur Vorsicht bei der Interpretation einzelner positiver Proben aus Haut, Weichgewebe oder Proben die aus der Nähe einer typischen Kolonisationsstelle dieses Bakteriums (Leiste, Axilla und Nasenbereich) stammen. In diesen Fällen müssen mindestens zwei tiefen Proben positiv sein, um das Bakterium als klinisch relevant einzustufen.

Bei unserem Stamm handelte es sich um einen Methicillin-resistenten *S. lugdunensis* oder MRSL, welcher von allen Teilnehmern als solches erkannt wurde. Aufgrund der Methicillin-Resistenz sind alle Beta-Laktam-Antibiotika als 'resistent' zu bewerten. Da es sich nicht um *S. aureus* handelte, wurde der Resistenzmechanismus 'MRSA' nicht bewertet. Solche MRSL-Isolate werden in Routineproben immer häufiger beobachtet.

Ciprofloxacin und Levofloxacin waren beide 'I' (empfindlich bei erhöhter Dosierung) für die Angabe 'sensibel' gab es noch die Hälfte der Punktzahl.

Wir haben Fosfomycin und Ofloxacin nicht bewertet, da sie laut EUCAST nicht für Staphylokokken getestet werden sollten. Nitrofurantoin wurde ebenfalls nicht bewertet, da es gemäss EUCAST nur für unkomplizierte Harnwegsinfektionen und *S. saprophyticus* definiert ist.

Identifikation	Anzahl
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	46
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4
<i>Staphylococcus hominis</i>	1
<i>Staphylococcus</i> Koagulase negativ	2
<i>Staphylococcus</i> species	1

Probe C: Konjunktivalabstrich / Konjunktivitis
Anforderung: Potenziell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Haemophilus influenzae ist ein Gram-negatives, Oxidase-positives Stäbchen. *Haemophilus* spp. zählen zu den anspruchsvollen Keimen, da sie Wachstumsfaktoren aus Erythrozyten, den so genannten X- (Hämin) und V-Faktor (NAD) für das Wachstum benötigen. Nur wenn die Erythrozyten wie im Kochblutagar durch Erhitzen lysiert werden, wird genügend V-Faktor freigesetzt, um ein gutes Wachstum dieses Keims zu ermöglichen. Auf Schafblutagar wächst er in unmittelbarer Nähe von *Staphylococcus aureus*, welcher V-Faktor produziert und an die Umgebung abgibt (sog. Ammenphänomen).

Unser Stamm konnte mittels Api NH oder MALDI-TOF MS gut identifiziert werden.

Natürlicher Standort der *Haemophilus* spp. sind die Schleimhäute des oberen Respirationstrakts einschliesslich der Mundhöhle. *H. influenzae* kann verschiedene, leichte bis schwere Erkrankungen verursachen. Dazu gehören Otitis media, Sinusitis, Pneumonie, Epiglottitis, Meningitis und Sepsis. Akute und invasive Infektionen wie eitrige Meningitis und Sepsis werden ausschliesslich durch den Kapseltyp b verursacht. Die Einführung eines spezifischen Impfstoffs gegen Typ-b-Stämme hat invasive Infektionen, welche durch diesen Typ verursacht werden, deutlich reduziert.

Identifikation	Anzahl
<i>Haemophilus influenzae</i>	52
<i>Haemophilus influenzae</i> Biotyp III	1
Kein Wachstum	1

Probe D: Vaginalabstrich / bakterielle Vaginose
Anforderung: Potenziell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Bei dem Keim in dieser Probe handelte es sich um *Gardnerella* species, genauer *Gardnerella swidsinskii* (siehe Abbildung 1).

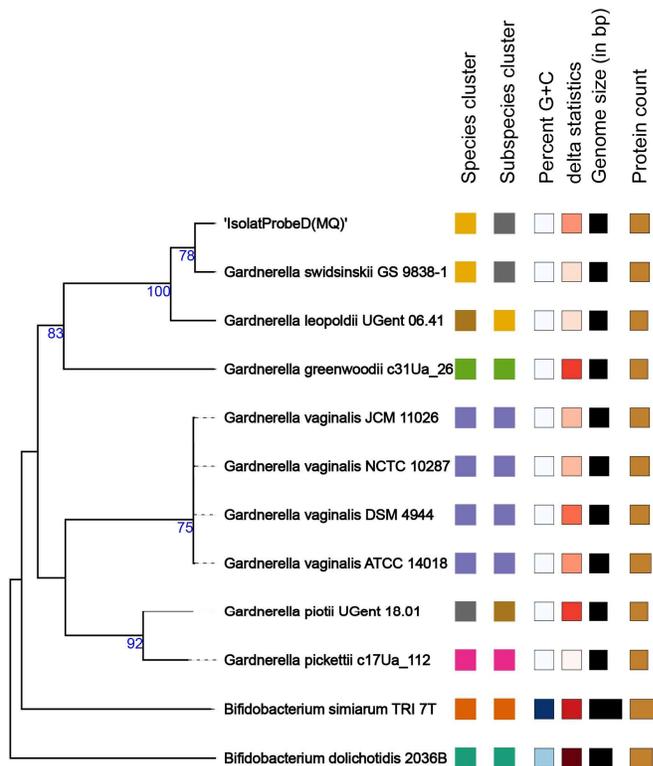
G. vaginalis war bisher die einzige beschriebene Spezies der Gattung *Gardnerella*. Die neusten Entwicklungen in der Molekulargenetik haben ein neues Licht auf die Vielfalt der Gattung *Gardnerella* geworfen, was im Jahr 2019 zu einer Neubeschreibung von zusätzlichen *Gardnerella*-Spezies, nämlich *Gardnerella leopoldii*, *Gardnerella piovii* und *Gardnerella swidsinskii*, geführt hat (Vaneechoutte M. et al.; Int J Syst Evol Microbiol. 2019 Mar;69(3):679-687). Im Jahr 2023 wurde zusätzlich *G. greenwoodii* und *G. pickettii* beschrieben (Sousa et al.; Int J Syst Evol Microbiol 2023; 73:6140).

Bei *Gardnerella* species, handelt es sich um ein Gram-positives Stäbchen, welches jedoch infolge der relativ dünnen Zellwand Gram-labil erscheint. *G. vaginalis* ist bekannt als Leitkeim der bakteriellen Vaginose (BV). *G. vaginalis* wächst auf Schafblutagar, zeigt jedoch nur auf Humanblutagar eine Hämolyse. Die Katalase-Reaktion ist negativ, Hippurathydrolyse positiv. Die Identifikation mit Bruker MALDI-TOF MS ergab bei gut gewachsenen Kolonien (nach 48h Bebrütung) *G. leopoldii_swidsinskii* (mit einer guten Abgrenzung zu *G. vaginalis*).

Es wird spekuliert, ob sich neubeschriebene *Gardnerella*-Spezies in ihrem Virulenzpotenzial unterscheiden. Es gibt Hinweise auf eine höhere Prävalenz der Spezies *G. vaginalis* und *G. piovii* bei Frauen mit BV verglichen mit *G. leopoldii* und *G. swidsinskii*. Dies wirft die Frage auf, ob in Zukunft die genaue Speziesangabe sinnvoll sein könnte, damit man diese Fragestellung besser untersuchen kann.

G. vaginalis, *G. vaginalis* Komplex, *G. leopoldii_swidsinskii* wurden alle mit der vollen Punktzahl bewertet.

Abbildung 1: Die digitale DNA-DNA-Hybridisierungsanalyse, die mit der TYGS-Datenbank erstellt wurde, zeigt die Identifizierung des Isolats als *G. swidsinskii*.



Identifikation	Anzahl
<i>Gardnerella swidsinskii</i>	1
<i>Gardnerella leopoldii/swidsinskii</i>	16
<i>Gardnerella leopoldii</i>	2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	31
<i>Gardnerella vaginalis</i> Komplex	1
<i>Gardnerella</i> species	1
<i>Enterobacterie</i> species	1
Kein Wachstum	1

Probe E: Trachealsekret / Aspirationspneumonie
Anforderung: Potenziell pathogene Bakterien (Genus + Spezies)

Der in dieser Probe enthaltene *Streptococcus pseudopneumoniae* wurde erstmals im Jahr 2004 beschrieben (Arbique et al.; J Clin Microbiol 2004; 42: 4686-4696).

Als Mitglied der *S. mitis*-Gruppe nimmt *S. pseudopneumoniae* im Vergleich zum virulenteren *S. pneumoniae* und dem weniger virulenten *S. mitis* eine Zwischenstellung ein. Obwohl genetisch sehr ähnlich zu *S. pneumoniae*, sind bestimmte Virulenzfaktoren wie Kapsel und das Pneumolysin bei *S. pseudopneumoniae* nicht vorhanden.

Die Isolierung von *S. pseudopneumoniae* aus Atemwegsproben ist in den meisten Fällen nicht von klinischer Bedeutung. Der Keim wurde als opportunistischer Erreger bei Patienten mit verschiedenen chronischen Grunderkrankungen wie COPD oder zystischer Fibrose beschrieben. Eine klinische Relevanz wurde häufig im Zusammenhang mit Aspirationspneumonien gemeldet. In Einzelfällen wurde er auch bei einer Septikämie beschrieben.

Es gibt ein paar phänotypische Merkmale, wodurch sich *S. pseudopneumoniae* von *S. pneumoniae* unterscheiden lässt: keine Kapselbildung, keine Gallelöslichkeit, der Optochin-Hemmhof bei 37°C mit 5% CO₂ ist < 14 mm, wohingegen er bei 37°C ohne CO₂ >14 mm misst. Bei Pneumokokken-Antigentests sind Kreuzreaktionen mit *S. pseudopneumoniae* beschrieben worden.

Zwar kommt es mit MALDI-TOF MS immer noch zu Mischresultaten mit *S. pneumoniae* und *S. mitis*, welche beide einen Score über 2.0 zeigen und somit weitere Abklärungen nötig machen, allerdings ist die Abgrenzung zu Pneumokokken dank neuen Datenbankupdates in den letzten Jahren zuverlässiger geworden.

Identifikation	Anzahl
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	44
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Streptococcus constellatus</i> ssp. <i>pharyngis</i>	1
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	1
<i>Streptococcus viridans</i> Gruppe	1
<i>Gemella morbillorum</i>	1
Oropharyngeale Flora	1
Keine Angabe	2

Mit freundlichen Grüßen



Dr. med. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Auswertung der Empfindlichkeitsprüfung:**Probe A: Escherichia coli**

Antibiotikum	Zielwert	S	I	R	Antibiotikum	Zielwert	S	I	R
Amikacin	S	6			Doxycycline	NB			1
Amoxicillin-Clavulansäure	R		39		Ertapenem	R		1	26
Ampicillin	R		17		Fosfomycin	S	33		1
Aztreonam	NB	1			Gentamicin	S	12		
Cefalotin	NB			1	Imipenem	S//R	13	1	2
Cefepim	S	10			Levofloxacin	R			7
Cefotaxim	S/I	3	1		Meropenem	S/I	18	1	
Cefoxitin	NB	5		1	Nitrofurantoin	S	42		
Cefpodoxim	S	4		1	Norfloxacin	R			9
Ceftazidim	S	11			Ofloxacin	R			1
Ceftazidim-Avibactam	S	3			Pefloxacin	R			1
Ceftriaxon	S	25			Piperacillin-Tazobactam	R			20
Cefuroxim axetil	S/R	2		8	Sulfamethoxazol-Trimethoprim	R			48
Cefuroxim parenteral	R			5	Tetracyclin	NB			2
Ciprofloxacin	R			44	Tigecyclin	S	1		
Colistin	NB	1		1	Tobramycin	S	10		

Resistenz-Mechanismus	Zielwert	Ja	Nein	Keine Angabe
ESBL	Nein	0	52	2
AmpC	Nein	1	48	5
Carbapenemase	Ja**	49	4	1

Zielwert erfüllt

Halbe Punktzahl

Abzug erhalten

Nicht bewertet (NB)

Werte in Tabelle = Anzahl Teilnehmer mit entsprechender Antwort

* **muss zwingend stehen

Auswertung der Empfindlichkeitsprüfung:**Probe B: *Staphylococcus lugdunensis***

Antibiotikum	Zielwert	S	I	R	Antibiotikum	Zielwert	S	I	R
Amikacin	S	1			Imipenem	R	1		2
Amoxicillin-Clavulansäure	R	1	22		Levofloxacin	I	2	19	
Ampicillin	R	1	5		Linezolid	S	9		
Azithromycin	S	2			Moxifloxacin	S	4		
Cefalotin	R		1		Nitrofurantoin	NB	2		
Cefoxitin	R		32		Norfloxacin	S	2		
Ceftriaxon	R		4		Ofloxacin	R			1
Cefuroxim axetil	R		1		Oxacillin	R			19
Cefuroxim parenteral	R		1		Penicillin	R		1	25
Ciprofloxacin	I	1	14		Piperacillin-Tazobactam	R			1
Clarithromycin	S	2			Rifampicin	S	15		1
Clindamycin	S	48			Sulfamethoxazol-Trimethoprim	S	43		
Daptomycin	S	5			Teicoplanin	S	10		
Doxycyclin	S	3			Tetracyclin	S	20		
Erythromycin	S	27			Tigecyclin	S	3		
Fosfomycin	NB	2			Tobramycin	S	4		
Fusidinsäure	S	12			Vancomycin	S	36		
Gentamicin	S	12							

Resistenz-Mechanismus	Zielwert	Ja	Nein	Keine Angabe
MRSA	(MRSL)	11	29	14
MLS _B (induzierbar)	Nein	0	50	4
VRE	--			
Gentamicin high-level	--			

Zielwert erfüllt

Halbe Punktzahl

Abzug erhalten

Nicht bewertet (NB)

Werte in Tabelle = Anzahl Teilnehmer mit entsprechender Antwort

* *muss zwingend stehen