Labor Berlin

Kompetenz von Charité und Vivantes

Mikrobiologische Diagnostik

ABS Fellow Kurs - Berlin

Dr. Tassilo Kruis, MHBA

2. November 2021

CHARITÉ Vivantes

Labor Berlin

Agenda

- Wiederholung mikrobiologischer Grundlagen
- Bedeutung von Untersuchungsmaterial und –auftrag
  - Sterile vs. nicht sterile Materialien
- Workflow Blutkulturdiagnostik
  - Einordnung des Gramverhaltens und Rückschlüsse auf mögliche Erreger in Abhängigkeit des vermuteten Fokus
- Erregerspektren
  - Residente Flora oder fakultatives Pathogen
  - Ambulante oder nosokomiale Infektion
  - Syndromisches Testen mit Multiplex-PCRs
- SIR-Klassifikation nach EUCAST

Labor Berlin

Wozu mikrobiologische Diagnostik?

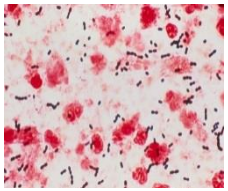
Optimierung der antimikrobiellen Therapie

- Morphologie / Gramfärbung
- Speziesidentifizierung
- Empfindlichkeitstestung

Labor Berlin

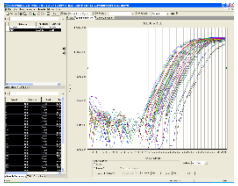
Welche Methoden?

Mikroskopie
(Gram-Färbung u.a.)



Serologische Tests
(Antigen- und Antikörperdetektion)

Molekulardiagnostik
(Einzel-PCR, Multiplex-PCR,
Spezies-übergreifende PCR/NGS)



Erregerkultur mit Resistogramm!

Labor Berlin

ZNS-Infektion

Abdominelle Infektion

Blutstrominfektion

Welches Erregerspektrum?
Welches Material?
Welcher Untersuchungsauftrag?

Weichteil-/ Knocheninfektion

Harnwegsinfektion

Fremdkörper-infektion

Eingesandtes Material und Untersuchungsauftrag bestimmen die im Labor durchgeführte Diagnostik (und damit auch das Untersuchungsergebnis)

Labor Berlin

Wie das Material den Workflow bestimmt

Materialart
(Untersuchungsauftrag E+R)

Nicht-steriles Kompartiment

Nur aerobe Kultur

Reguläre Bebrütungsdauer (2d)

Bsp.:
- Urin
- Urogenitalabstrische
- Oberflächliche Wundabstriche
- Respiratorische Sekrete

Identifizierung und Resistenztestung nur typischer pathogener Mikroorganismen

Steriles Kompartiment

Aerobe und anaerobe Kultur

Reguläre Bebrütungsdauer (2-5d)

Bsp.:
- Kathether
- Punktate
- Tiefe Wundabstriche
- OP-Abstriche
- Liquor

Langzeitbebrütung (14d)

Bsp.:
- Biopsien
- Punktate/Abstriche aus ZNS, Knochen, Gelenken
- Fremdkörper / Sonicate

Identifizierung und Resistenztestung aller nachgewiesenen Mikroorganismen (obligate und fakultative Pathogene)

Labor Berlin

Oberflächlicher Wundabstrich
nicht steril
keine Hautflora, Anaerobier
Identifizierung/ Resistenztestung typischer Wunderreger:
S.aureus
Str.pyogenes u.a. β-hämolysierende Streptokokken
Gram-negative Stäbchen
Bei dominantem Wachstum auch Enterokokken, Bacillus, Corynebakterien

Tiefer Wundabstrich
unter sterilen Kautelen
auch Hautflora, Anaerobier
Identifizierung/ Resistenztestung aller Bakterien

„Erreger und Resistenzen (E+R)“

Nachweis kulturell wenig anspruchsvoller, schnellwachsender Bakterien und Pilze:

- Staphylokokken
- Streptokokken
- Enterokokken
- Enterobakterien
- Pseudomonas
- Acinetobacter
- Candida
- u.v.m.

Kein sicherer Nachweis von Erregern, die besondere Kulturbedingungen benötigen (z.B. Spezialmedien, längere Bebrütungsdauer)!

Labor Berlin

Gezielte Anforderung nötig bzw. sinnvoll

	Spezial-kultur	PCR	Antigen-nachweis	Antikörper-nachweis
Gonokokken	X	X		
Treponema		(X)		X
Borrelia		(X)		X
Leptospira		X		X
Brucella	X	X		X
Francisella	X	X		X
H.pylori	X		X	(X)
Legionellen	(X)	X	X	(X)
Bordetellen		X		(X)
Chlamydien		X		(X)
Mycoplasmen	(X)	X		(X)
Ureaplasmen	(X)	X		
Coxiellen		(X)		X
Mykobakterien	X	X		
Aktinomyzeten	X			
Nokardien	X			
T.whipplei		X		
Cryptokokken	X	(X)	X	
Aspergillus	X	(X)	X	
Candida	X		(X)	

Fallvignette – primäre Bakteriämie

- Aufnahme eines 76 jährigen Patienten mit Fieber und reduziertem Allgemeinzustand. Bekannte terminale Niereninsuffizienz mit ambulanter Dialyse über AV-Shunt.
- Abnahme von Blutkulturen und Beginn einer empirischen Antibiose mit Ceftriaxon 1x 2g i.v.
- Am Folgetag Nachricht von der Pflege, dass die Mikrobiologie angerufen hätte. Bei dem Patienten sei *S.aureus* in mehreren Blutkulturen gewachsen. Zu diesem Zeitpunkt zeigt der Patient allenfalls ein partielles Ansprechen auf die Therapie.

- Was tun Sie als nächstes?
  a) ein transösophageales Echo anmelden
  b) die Therapie auf Vancomycin i.v. umstellen
  c) den MRSA-Schnelltest in der Mikrobiologie erfragen
  d) Folgeblutkulturen abnehmen

Blutkulturdiagnostik

- Bei V.a. bakterielle Infektionen oder Sprosspilzinfektionen
  (bzw. zur Verlaufskontrolle bei *S.aureus*, Candida und anderen komplizierten Bakteriämien)
- Möglichst vor Antibiotikagabe
- Mindestens 2 BK-Pärchen aus separaten Punktionsstellen
- Ggf. zusätzlich Abnahme aus intravasalen Kathetern
  (Cave: höhere Kontaminationsrate)
- Wenn möglich 10ml pro Flasche (für Kinder Extraflaschen für geringere Blutvolumina)

Häufigkeit bakteriämischer Verläufe

Endokarditis	80-90%
Meningitis	60-70%
Cholangitis	40-60%
Osteomyelitis	20-50%
Eitrige Arthritis	30-40%
Pyelonephritis	20-30%
Pneumonie	10-15%

Blutkulturen - Sensitivität

Steigt mit zugegebenem Blutvolumen!

Erwartete Sensitivität bei Bakteriämien:

- 1 BK-Pärchen 70%
- 2 BK-Pärchen 90%
- 3 BK-Pärchen > 95%
- 4 BK-Pärchen > 99%

Zeitpunkt (z.B. im Fieberanstieg) und Abstand zwischen Abnahmen unerheblich.

Bei Endokarditisverdacht bzw. V.a. anspruchsvolle Erreger (z.B. Brucellen) ggf. verlängerte Bebrütungszeit von 14d.

Mylotte JM, Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000
Lee A, J Clin Microbiol. 2007

Labor Berlin

Blutkultur aerob/anaerob „E+R“

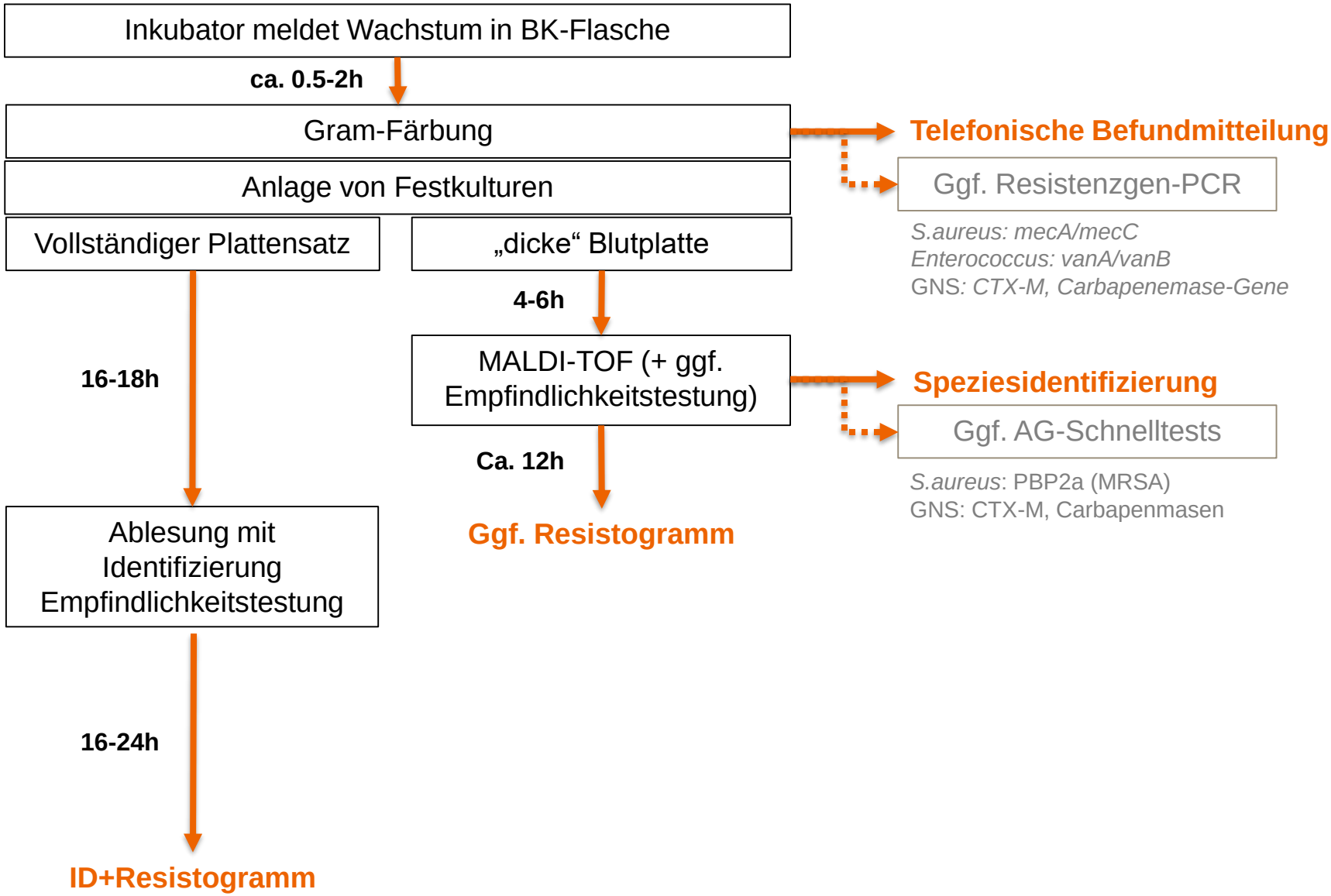
Geeignet (Auswahl)	Nicht geeignet
Staphylokokken	Mycobakterien
Enterokokken	Aspergillen
Streptokokken	Legionellen
Enterobakterien	Mycoplasmen
Nonfermenter	Chlamydien
Hämophilus	Coxiellen
Meningokokken	Bartonellen
Gonokokken	T.whipplei
Anaerobier	
Candida	
Cryptokokken	

Labor Berlin

Workflow - Blutkulturdiagnostik

Labor Berlin

Beispiel – Workflow Blutkulturdiagnostik



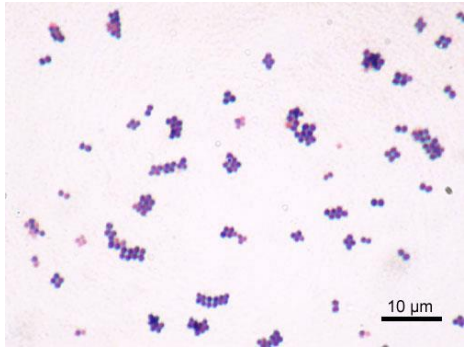
Labor Berlin

Beispiel – Workflow Blutkulturdiagnostik

Inkubator meldet Wachstum in BK-Flasche

ca. 0.5-2h

Gram-Färbung



Tel.: GPHK

Anlage von Festkulturen

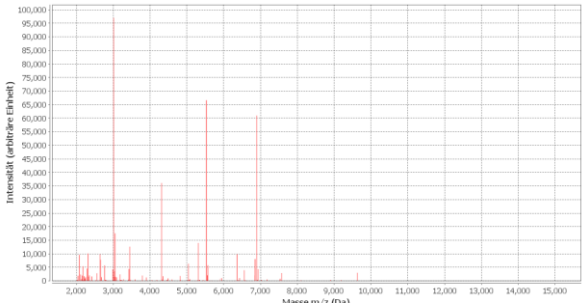
Vollständiger Plattensatz

„dicke“ Blutplatte

16-18h

4-6h

MALDI-TOF (+ ggf. Empfindlichkeitstestung)



Vorbefund:
S.aureus
MRSA-Schnelltest negativ

Ca. 12h

Ablesung mit Identifizierung Empfindlichkeitstestung

16-24h

ID+Resistogramm

Endbefund:
S.aureus
Oxacillin S
Vancomycin S
Daptomycin S…

Labor Berlin

Wichtige Resistenzmechanismen

	E.coli, K.pneumoniae	*P.aeruginosa*	*A.baumannii*
Resistenz	**3.Gen.-Cephalosporine**	**Carbapeneme**	**Carbapeneme**
Mechanismus	in ca. 80% CTX-M extended spectrum β-Laktamasen	sehr variabel: Porinveränderungen (i.bes. OprD) AmpC-Überexpression Effluxpumpen selten Carbapenemasen (ca. 10%)	OXA-23 u.a. Carbapenemasen
	Carbapeneme		
	in ca. 60-70% Carbapenmasen am häufigsten OXA-48, KPC, NDM, VIM		
Detektion	PCR, AG-Schnellteste	-	PCR, AG-Schnellteste

	S.aureus	*E.faecium*
Resistenz	**β-Laktame**	**Vancomycin**
Mechanismus	mecA/C verändertes PBP2a mit herabgesetzter Bindung	vanA/vanB veränderte Peptidoglycane mit herabgesetzter Bindung
Detektion	PCR, AG-Schnellteste	PCR

Labor Berlin

Beispiel – Workflow Blutkulturdiagnostik

Inkubator meldet Wachstum in BK-Flasche

ca. 0.5-2h

Gram-Färbung

Anlage von Festkulturen

Vollständiger Plattensatz

„dicke“ Blutplatte

16-18h

Ablesung mit Identifizierung Empfindlichkeitstestung

16-24h

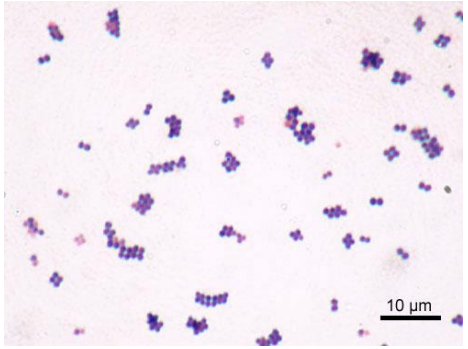
ID+Resistogramm

4-6h

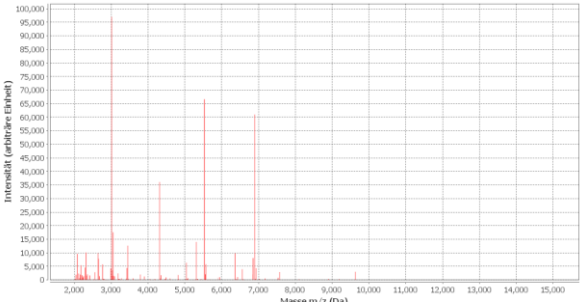
MALDI-TOF (+ ggf. Empfindlichkeitstestung)

Ca. 12h

Endbefund:
S.aureus
Oxacillin S
Vancomycin S
Daptomycin S…



Tel.: GPHK



Vorbefund:
S.aureus
MRSA-Schnelltest negativ

Labor Berlin

Gram-Präparat

Gram-positiv

Haufenkokken

- *S.aureus*
- KNS

  Bsp.:
  - *S.epidermidis*
  - *S.hominis*
  - *S.capitis*
  - *S.haemolyticus*
  - *S.lugdunensis*

Kettenkokken

- Streptokokken

  Bsp.:
  - *S.pneumoniae*
  - *S.pyogenes*
  - *S.dysgalactiae*
  - *S.agalactiae*
  - *S.anginosus-Gr.*
  - *S.mitis/oralis*
  - andere *viridans*-Streptokokken
- Enterokokken

  Bsp.:
  - *E.faecalis*
  - *E.faecium*

Stäbchen

- Listerien
- Corynebakterien
- *Bacillus spp.*
- Cutibakterien
- Clostridien

aerob | **anaerob**

Labor Berlin

Gram-Präparat

Gram-negativ

- **Stäbchen**
  - Enterobakterien
    Bsp.:
    - *E.coli*
    - *Klebsiella spp.*
    - *Enterobacter spp.*
    - *Citrobacter spp.*
    - *Proteus spp.*
    - *Serratia spp.*
    - *Morganella spp.*
    - *Providencia spp.*
    - *Hafnia spp.* u.a.
  - Nonfermenter
    Bsp.:
    - *Pseudomonas spp.*
    - *Acinetobacter spp.*
    - *S.maltophilia*
  - Bacteroides
    u.a. gram-negative anaerobe Stäbchen
- **Kokken**
  - Neisserien
    Bsp.:
    - *N.meningitidis*
    - *N.gonorrhoe*

aerob | anaerob

Labor Berlin

Häufige Erreger – abhängig von Fokus und Gramfärbung – und mögliche Optionen für die empirische Therapie

Klinischer Fokus	GP-Haufenkokken	GP-Kettenkokken	GP-Stäbchen	GN-Stäbchen	GN-Kokken
Primäre Sepsis	*S.aureus*	Enterokokken, Streptokokken	*L.monocytogenes*	Enterobakterien	*N.gonorrhoe, N.meningitidis*
	Flucloxacillin, (Vanco)	Vanco, Ampicillin	Ampicllin (+ Genta)	Pip/Tazo, (Meropenem)	Cefotaxim, Ceftriaxon
Neonatale Sepsis	*S.aureus*	*S.agalactiae, (Enterokokken)*	*L.monocytogenes*	*E.coli* u.a. Enterobakterien, (*H.influencae)*	-
	Flucloxacillin, (Vanco)	Ampicillin, (Vanco)	Ampicllin (+ Genta)	Pip/Tazo, Cefotaxim	
Katheter, Sonden u.a. Fremdkörper	KNS, *S.aureus*	*E.faecium*	Corynebakterien, *B.cereus, C.acnes*	Enterobakterien, *P.aeruginosa, A.baumannii*	-
	Vanco, (Flucloxacillin)	Vanco	Vanco	Meropenem	
CAP	*S.aureus*	*S.pneumoniae*	-	*H.influencae, M.catarrhalis*	-
	Amp/Sulbactam, (Vanco)	Penicillin, Amp/Sulbactam		Amp/Sulbactam	
HAP	*S.aureus*	-	-	Enterobakterien, *P.aeruginosa, A.baumannii*	-
	Amp/Sulbactam, (Vanco)			Pip/Tazo, Meropenem	
Harnwege	*S.saprophyticus, (S.aureus)*	Enterokokken	-	Enterobakterien, *P.aeruginosa*	*N.gonorrhoe*
	Amp/Sulbactam	Vanco, Ampicillin		Pip/Tazo, (Meropenem)	Cefotaxim, Ceftriaxon
Abdomen	-	Enterokokken, *viridans*-Streptokokken	*Clostridium spp.*	Enterobakterien, *Bacteroides spp.*	-
		Vanco, Pip/Tazo	Pip/Tazo	Pip/Tazo, (Meropenem)	
Weichteile, Knochen, Gelenke	*S.aureus,* (KNS)	*S.pyogenes, S.dysgalactiae, S.agalactiae,* (Enterokokken)	*C.perfringens*	Enterobakterien, *P.aeruginosa, Bacteroides* u.a. Anaerobier	*N.gonorrhoe*
	Flucloxacillin, (Vanco)	Peniclin (+ Clinda), (Vanco)	Pip/Tazo (+ Clinda)	Pip/Tazo, (Meropenem)	Cefotaxim, Ceftriaxon
ZNS	*S.aureus*	*S.pneumoniae*	*L.monocytogenes*	Enterobakterien	*N.meningitidis*
	Flucloxacillin (+ Fosfo), (Vanco)	Cefotaxim/Ceftriaxon	Ampicllin (+ Genta)	Meropenem	Cefotaxim, Ceftriaxon

Labor Berlin

Intrinsische Resistenzen und *expert rules*

https://www.eucast.org/

Bereits die Speziesidentifikation erlaubt Rückschlüsse auf die Empfindlichkeit einzelner Erreger!

- Organization
- Consultations
- EUCAST News
- New definitions of S, I and R
- Clinical breakpoints and dosing
- Rapid AST in blood cultures
- Expert rules and intrinsic resistance
- Resistance mechanisms
- SOPs and Guidance documents
- MIC and zone distributions and ECOFFs

EUCAST EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

- Intrinsische Resistenz: der überwiegende Teil der Wildtyp-Isolate einer Spezies sind resistent gegenüber einer Substanz.
- *Expert rules*: Empfehlungen einzelne Substanzen bei einer Spezies zu vermeiden, da ein erhöhtes Risiko für ein Therapieversagen angenommen wird.

Labor Berlin

Intrinsische Resistenzen und *expert rules*

https://www.eucast.org/

Spezies	DON'Ts - Nicht empfohlen	Hintergrund
Klebsiella spp. *Raoultella spp.*	Ampicillin, Piperacillin	Expression von β-Laktamasen
Enterobacter spp. *Klebsiella aerogenes* *Citrobacter freundii-* Gruppe *Hafnia alvei*	Cefuroxim Ceftriaxon, Cefotaxim, Ceftazidim	AmpC-Derepression
Serratia marcescens *Morganella morganii* *Providencia spp.*	Cefuroxim Vorsicht bei Ceftriaxon, Cefotaxim, Ceftazidim als Monotherapie Tigecyclin	erhöhte Cefuroxim-MHKs Selten AmpC-Derepression Unzureichende Wirksamkeit
Pseudomonas aeruginosa	Ceftriaxon, Cefotaxim Ertapenem Tigecyclin	AmpC-Expression Multiple Effluxsysteme Unzureichende Wirksamkeit
Acinetobacter baumannii- Gruppe	Amoxicillin/Clavulansäure, Ceftriaxon, Cefotaxim Ertapenem	Expression verschiedener β-Laktamasen
Stenotrophomonas maltophilia	Ampicillin/Sulbactam, Piperacillin/Tazobactam Ceftriaxon, Cefotaxim Meropenem, Imipenem, Ertapenem	Expression von Metallo-β-Laktamasen

Labor Berlin

Intrinsische Resistenzen und *expert rules*

https://www.eucast.org/

Spezies	DOs - i.d.R. wirksame emprirische Therapie
Klebsiella spp. *Raoultella spp.*	Ceftriaxon, Cefotaxim
Enterobacter spp. *Klebsiella aerogenes* *Citrobacter freundii*- Gruppe *Hafnia alvei*	Meropenem (Piperacillin/Tazobactam?, Cefepim?)
Serratia marcescens *Morganella morganii* *Providencia spp.*	Meropenem (Piperacillin/Tazobactam?, Cefepim?)
Pseudomonas aeruginosa	Piperacillin/Tazobactam, Ceftazidim, Meropenem
Acinetobacter baumannii- Gruppe	Meropenem
Stenotrophomonas maltophilia	Cotrimoxazol

Labor Berlin

Intrinsische Resistenzen und *expert rules*

https://www.eucast.org/

Spezies	DON'Ts - Nicht empfohlen	Hintergrund
Staphylococcus aureus	Penicillin, Ampicillin	Expression von Penicillinasen
Koagulase-neg. *Staphylococcus spp.*	β-Laktame	Expression von PBP2a
Enterococcus spp.	Cephalosporine Meropenem	Geringe Affinität zu Penicillin-Bindeproteinen
Enterococcus faecium	β-Laktame	Expression von PBP5r
Listeria monocytogenes	Cephalosporine	Geringe Affinität zu Penicillin-Bindeproteinen

Spezies	DOs - i.d.R. wirksame emprirische Therapie
Staphylococcus aureus	Flucloxacillin, Ampicillin/Sulbactam, Cefazolin
Koagulase-neg. *Staphylococcus spp.*	Vancomycin
Enterococcus spp. (nicht *E.faecium)*	Ampicillin, Piperacillin, Imipenem
Enterococcus faecium	Vancomycin
Listeria monocytogenes	Ampicillin

Fallvignette - Aspirationspneumonie

- Alkohol- und Nikotinabhängiger Patient vom Notarzt hypoton und tachypnoeisch vorgefunden
- Röntgenologisch Infiltrat im rechten Unterlappen
- Empirische Therapie: Piperacillin/Tazobactam 4x4.5g als prolongierte Infusion
- Mikrobiologischer Befund – „Tracheobronchialsekret“ (eigentlich im Schockraum tief nasopharyngeal abgesaugt)
  - Gramfärbung: reichlich Leukozyten, reichlich gram-positive Kokken, reichlich gram-negative Stäbchen
  - Erreger:
    Keim 1: mäßig *S.aureus;* Oxacillin S (0.5mg/l), Cefoxitin-Screen neg., Vanco S, Clinda S, Cotrim S, Levofloxacin S, Doxy S)
    Text zur Kultur: reichliches Wachstum oropharyngealer Flora

Frage: Anpassung der Antibiose nach mikrobiologischem Befund bei klinischem Ansprechen auf die Therapie?

a) Piperacillin/Tazobactem weiter
b) Deeskalation auf Flucloxacillin
c) Deeskalation auf Ampicillin/Sulbactam
d) eine andere empfindliche Substanz

Pathogen oder Flora?

- Unterschiedliche Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Viren) Haut und Schleimhäute des gesunden Menschen

- Unterscheidung in
  - permanente (residente) Flora
  - temporäre (transiente) Flora
  - Kontamination (Anflugkeime)

  → Finden sich gleichermaßen im Probenmaterial wie Pathogene

- Unterscheidung zwischen
  - Symbionten
  - fakultativen Pathogenen - abhängig vom klinischen Kontext (Material, Krankheitsbild, Immunstatus u.a.)
  - obligaten Pathogenen

Labor Berlin

Mundrachenflora oder Pathogen?

Fakultativ pathogen (Auswahl)

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus anginosus*
- *Streptococcus constellatus*
- *Streptococcus intermedius*
- *Staphylococcus aureus*
- *Haemohilus influencae*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Enterobacterales*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Actinomyces spp.*
- *Gram-positive anaerobe Kokken*
- *Gram-negative anaerobe Stäbchen*

Eigentlich immer getestet

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Haemohilus influencae*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Enterobacterales*

Seltener getestet
(bei dominierendem Wachstum)

- *Streptococcus anginosus*
- *Streptococcus constellatus*
- *Streptococcus intermedius*

Meist gar nicht kultiviert

- *Fusobacterium spp.*
- *(i.bes. F.necrophorum)*
- *Peptostreptococcus spp.*
- *Prevotella spp.*
- *Actinomyces spp.*
- *und viele Anaerobier mehr*

unter „oropharyngeale Flora“ subsummiert

aerob

anaerob

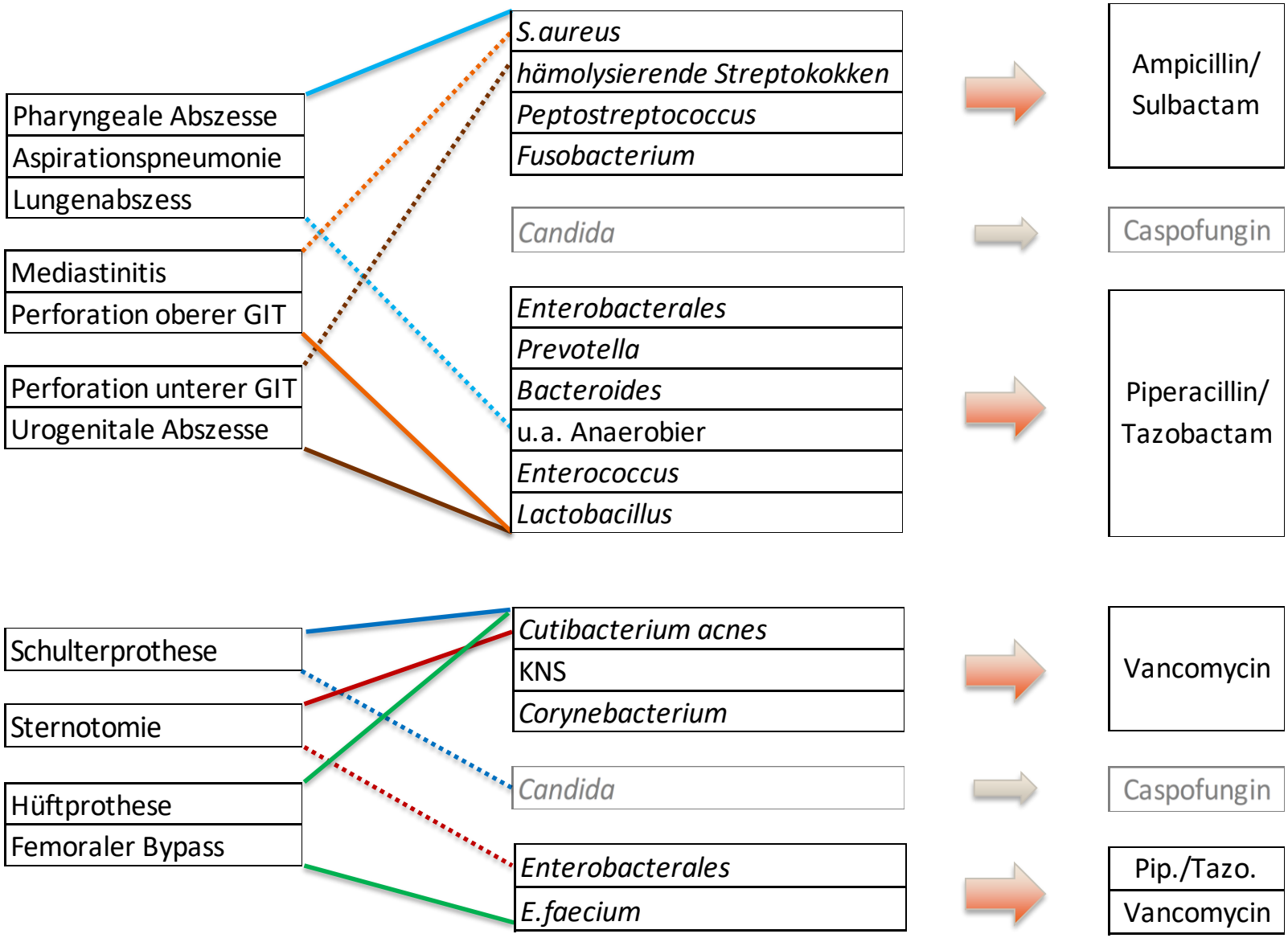
Wann sollte die Flora berücksichtigt werden – auch wenn im Befund nicht ausgetestet?

Bei Verschleppung oder Barrierestörung wie

- Aspiration
- Perforation eines Hohlorgans
- Eröffnung von Gelenken und offenen Frakturen
- Einbringen von Fremdmaterial

Labor Berlin

Mit welchen (fakultativen) Pathogenen muss gerechnet und wie könnten sie empirisch berücksichtigt werden?



Labor Berlin

Erregerspektrum im Wandel der Liegezeit (bzw. Antibiotikatherapie)

Respirationstrakt	*S.pneumoniae* *H.influencae* *M.catarrhalis* Viren	*Enterobacterales* *P.aeruginosa* *S.aureus* *S.pneumoniae* *H.influencae*	*Enterobacterales* (MRGN) *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *S.aureus* (MRSA) *S.maltophilia*
Abdomen	*Enterobacterales* *Enterococcus spp.* *Streptococcus spp.* Anaerobier	*Enterobacterales* *E.faecium* *Candida spp.*	*Enterobacterales* (MRGN) *E.faecium (VRE)* *Candida spp. (non-albicans)*
Harnwege	*Enterobacterales* *Enterococcus spp.*	*Enterobacterales* *E.faecium* *P.aeruginosa*	*Enterobacterales (MRGN)* *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *E.faecium* (VRE)
Wunden	*S.aureus* *S.pyogenes* *S.dysgalactiae*	*S.aureus* *Enterobacterales* *P.aeruginosa*	*Enterobacterales* (MRGN) *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *S.aureus* (MRSA) *S.maltophilia*

Labor Berlin

Erregerspektrum im Wandel der Liegezeit (bzw. Antibiotikatherapie)

Respirationstrakt	*S.pneumoniae* *H.influencae* *M.catarrhalis* Viren	*Enterobacterales* *P.aeruginosa* *S.aureus* *S.pneumoniae* *H.influencae*	*Enterobacterales* (MRGN) *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *S.aureus* (MRSA) *S.maltophilia*
Abdomen	*Enterobacterales* *Enterococcus spp.* *Streptococcus spp.* Anaerobier	*Enterobacterales* *E.faecium* *Candida spp.*	*Enterobacterales* (MRGN) *E.faecium (VRE)* *Candida spp. (non-albicans)*
Harnwege	*Enterobacterales* *Enterococcus spp.*	*Enterobacterales* *E.faecium* *P.aeruginosa*	*Enterobacterales (MRGN)* *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *E.faecium* (VRE)
Wunden	*S.aureus* *S.pyogenes* *S.dysgalactiae*	*S.aureus* *Enterobacterales* *P.aeruginosa*	*Enterobacterales* (MRGN) *P.aeruginosa* (MRGN) *A.baumannii* (MRGN) *S.aureus* (MRSA) *S.maltophilia*

Fallvignette – atypische Pneumonie

- 70 jähriger, kachektischer Patient mit respiratorischer Insuffizienz
- Röntgenologisch Bild einer atypischen Pneumonie
- Empirische Therapie: Moxifloxacin 400mg/d i.v.
- Mikrobiologie:
  - TBS: kein Wachstum bzw. geringes Wachstum von oropharyngealer Flora
  - Legionella-AG (Urin): 1x negativ

- Im Verlauf partielles Ansprechen auf Moxifloxacin, abgesetzt nach 10d. Wenige Tage später erneute respiratorische Verschlechterung

- Was nun?
  a) Moxifloxacin wieder ansetzen
  b) TBS und BKs abnehmen und Pip/Tazo 4x4.5g prolongiert ansetzen
  c) Diagnostik atypischer und viraler Erreger erweitern
  d) CT Hals-Thorax-Abdomen-Becken zur Fokussuche veranlassen

Fallvignette – atypische Pneumonie

- Erweiterte Infektionsdiagnostik:
  - PJP-IFT (BAL): negativ
  - Aspergillus-AG (BAL, Serum): negativ
  - Legionellen-AG (Urin): negativ
  - Respiratorische Multiplex-PCR: Bocavirus positiv

- Verlauf:
  - Moxifloxacin erneut begonnen, nach PCR-Ergebnis wieder abgesetzt
  - Prednisolonstoßtherapie (500-250-250mg über 3d)
  - Langsame Besserung und erfolgreiches Weaning ohne erneute Antibiotikatherapie

Syndromisches Testen

- Gleichzeitiges Testen auf Erreger mit überlappendem Krankheitsbild in einem Untersuchungsauftrag
- Untersuchungspanel sollte häufige/ besonders wichtige (nicht-kultivierbare) Erreger umfassen

- Häufigstes Testverfahren:
  - Multiplex-Plex-PCR = mehrere speziesspezifische PCRs in einem Untersuchungsansatz

- Kommerzielle Panels verfügbar für:
  - Meningitis/Encephalitis
  - Respiratorische Infektionen
  - Gastroenteritis

Labor Berlin

Beispiel – Respiratorisches Panel

Viral Targets		
Influenza A	Respiratory Syncytial Virus A	SARS-CoV-2
Influenza B	Respiratory Syncytial Virus B	Coronavirus HKU1
Rhinovirus/Enterovirus	Parainfluenza virus 1	Coronavirus NL63
Adenovirus	Parainfluenza virus 2	Coronavirus 229E
Human Metapneumovirus	Parainfluenza virus 3	Coronavirus OC43
Human Bocavirus	Parainfluenza virus 4	
Bacterial Targets		
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Legionella pneumophila*

- 20 Erreger (ambulanter!) Atemwegsinfekte in einem Ansatz
- Zusätzlich zur kulturellen Erregerdiagnostik (E+R) – kein Ersatz!
- Cave: Kosten und Überdiagnostik

Labor Berlin

Beispiel – kommerzielles Meningitis/Encephalitis Panel

Erreger	Risikogruppe
S.agalactiae	Neonaten
S.pneumoniae	-
N.meningitidis	-
H.influencae	-
L.monocytogenes	Immunsuppremierte
E.coli K1	Neonaten
Enterovirus	-
HSV1	-
HSV2	-
CMV	Immunsuppremierte
VZV	-
HHV6	Immunsuppremierte
Parechovirus	Kinder
Cryptococcus	Immunsuppremierte

- 14 Erreger der (ambulanten) Meningitis bzw. Encephalitis
- Häufigste Erreger enthalten
- Nur geringes Liquorvolumen (ca. 200µl) nötig
- Kurze Analysedauer (ca. 1h)

Labor Berlin

Kommerzielles Meningitis/Encephalitis Panel – Performance

Erreger	Erwartet	Gemessen	Übereinstimmung
S.agalactiae	2	3	100%
S.pneumoniae	27	30	100%
N.meningitidis	10	10	100%
H.influencae	40	39	98%
L.monocytogenes	0	1	-
E.coli K1	1	1	100%
Enterovirus	43	41	95%
HSV1	26	20	77%
HSV2	55	49	89%
CMV	3	3	100%
VZV	29	30	100%
HHV6	5	7	100%
Parechovirus	0	0	-
Cryptococcus	50	26	52%
Bakterien	80	78	98%
Viren	161	145	90%

Liesman RM, J Clin Microbiol, 2018

- Untersuchung von Liquores mit bekanntem Erreger
- Bei HSV1/2 Übereinstimmung in <90%
- In Einzelfällen Mehrfachinfektionen mit ZNS-Panel diagnostiziert
- Selten falsch-positive Ergebnisse, am häufigsten *S.pneumoniae, S.agalactiae*
- **Cave – Cryptokokken:** geringere Sensitiviät als Cryptokokken-AG

Fazit:

– gute Ergänzung zur Kultur!

– bei HSV-Verdacht ggf. Einzel-PCR wiederholen

– bei Cryptokokkenverdacht immer AG-Nachweis aus Liquor!

Erregerspektrum beachten – unnötige Diagnostik vermeiden

- **Triviales Beispiel – nosokomial erworbene Diarrhoe**
  - Klassische Enteritis-Erreger wie *Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia* spielen kaum eine Rolle
  - In erster Linie ursächlich
    - *C.difficile*
    - Norovirus

S I R – Bewertung von Antibiotika

- Spezifische Bewertung für einzelne Erreger-Substanz-Paare
- Kategorien:
  - **S – sensibel bei Standardexposition:** Hohe Wahrscheinlichkeit für therapeutischen Erfolg bei Standarddosierung der Substanz
  - **I – sensibel bei erhöhter Exposition** (engl. *increased exposure*): Hohe Wahrscheinlichkeit für therapeutischen Erfolg bei hoher Dosierung der Substanz
  - **R – resistent:** hohe Wahrscheinlichkeit für therapeutisches Versagen auch bei hoher Dosierung
- Festsetzung der Grenzwerte (engl. *break points*) durch EUCAST nach
  - Empfindlichkeitsverteilung des Erregers
  - pharmakokinetischen/ pharmakodynamischen (PK/PD) Betrachtungen
  - klinischen Daten zum Therapieansprechen

Beispiel – *Pseudomonas aeruginosa*

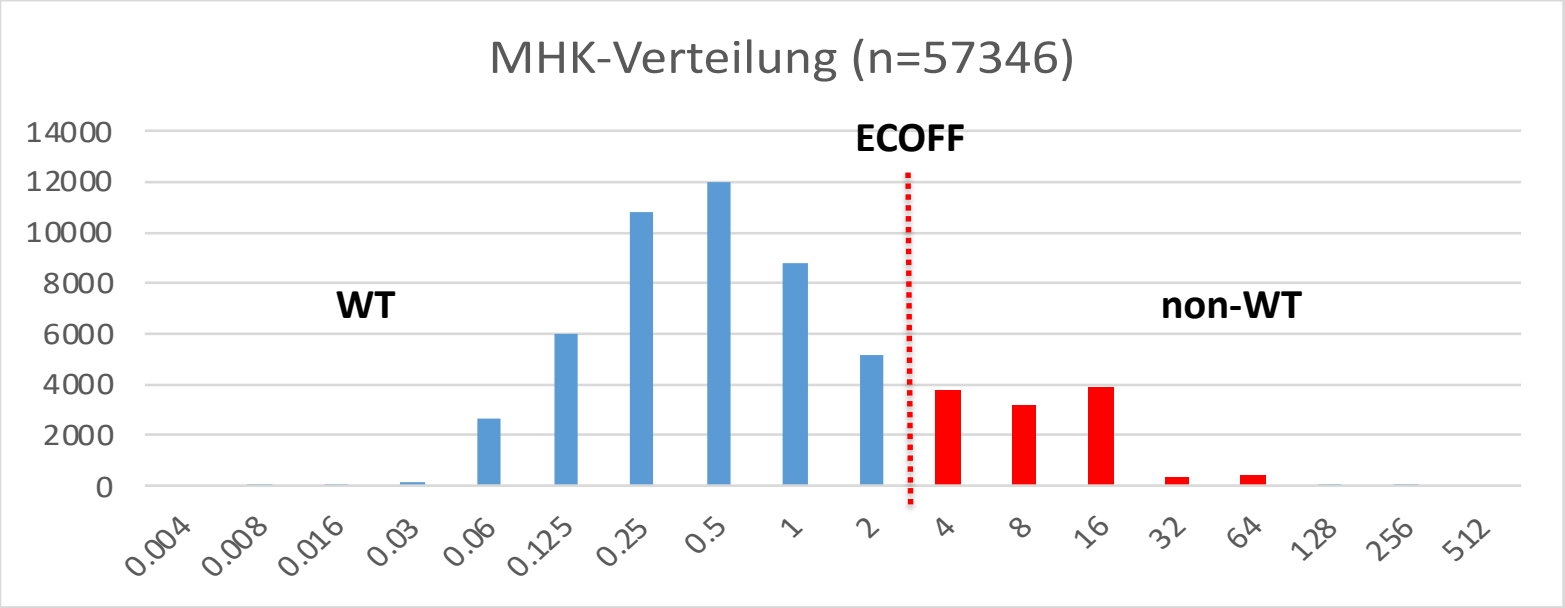
	MHK (mg/L)
Piperacillin	**I** ≤4
Pip/Tazobactam	**I** ≤4
Ceftazidim	**I** ≤1
Cefepim	**I** ≤1
Meropenem	**S** ≤0.25
Imipenem	**I** ≤0.25
Ciprofloxacin	**I** ≤0.25

Für die meisten Substanzen auch bei niedrigen MHKs erhöhte Dosierung empfohlen

Minimale Hemmkonzentration (MHK): niedrigste Konzentration einer Substanz, bei der keine Vermehrung des Erregers mehr detektiert werden kann.

Labor Berlin

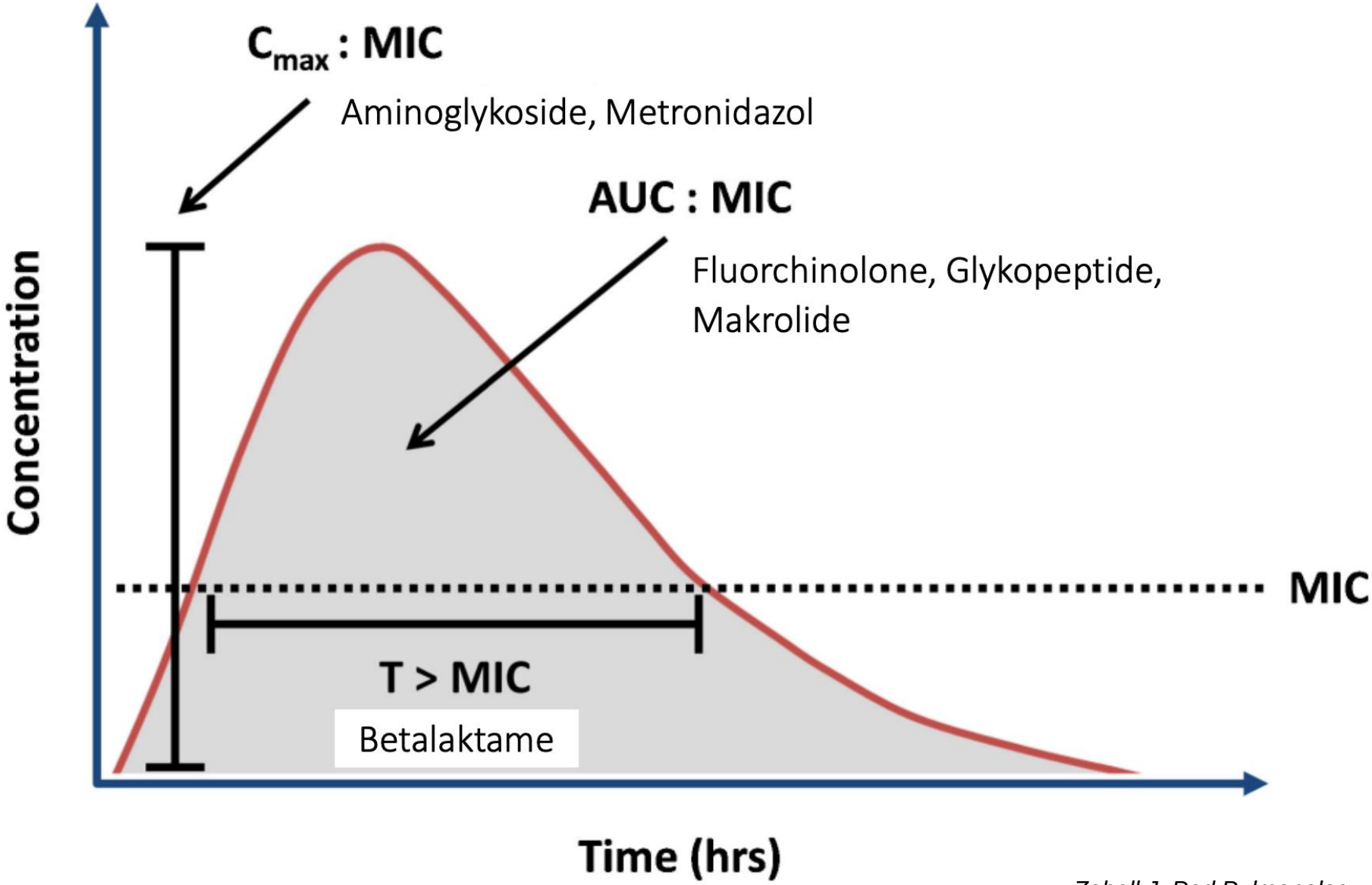
P.aeruginosa - Meropenem



- Wildtyp(WT)-Population: kein erworbener oder durch Mutation entstandener Resistenzmechanismus
- Non-WT-Population: erhöhte MHK durch erworbene oder durch Mutation neu enstandene Resistenzmechanismen

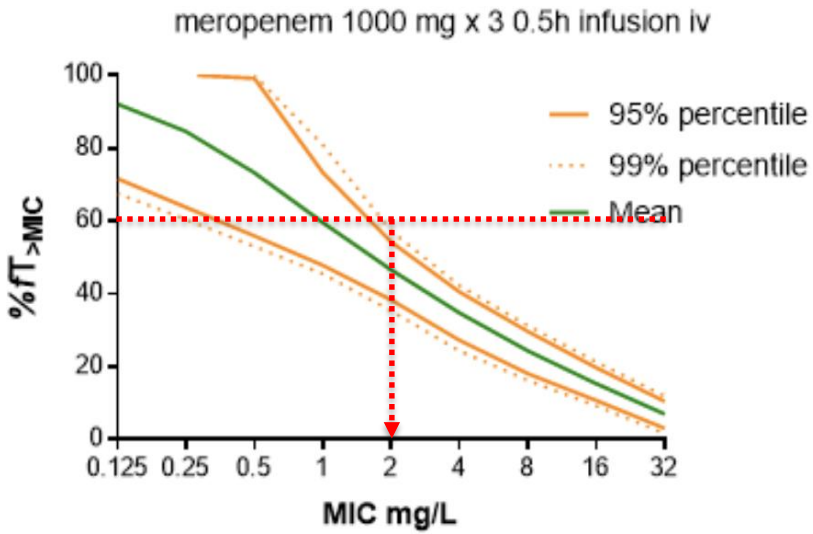
https://mic.eucast.org

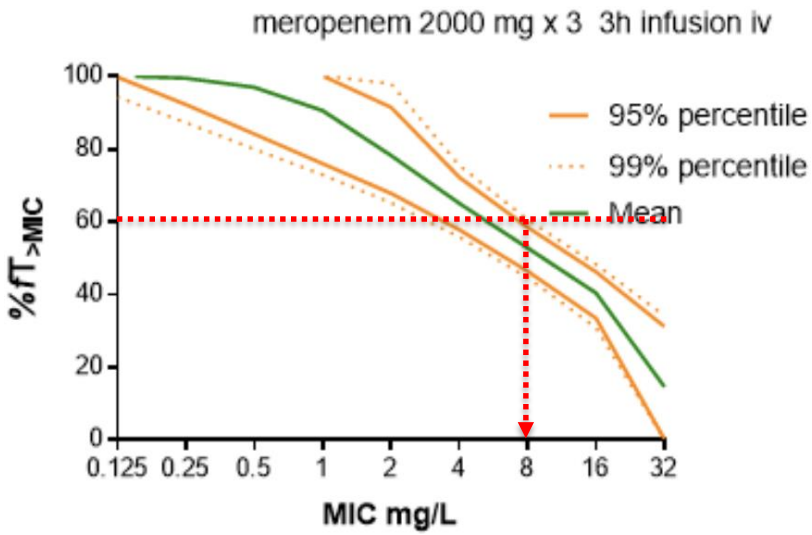
Labor Berlin



Zobell J, Ped Pulmonology, 2012

PK/PD – Meropenem



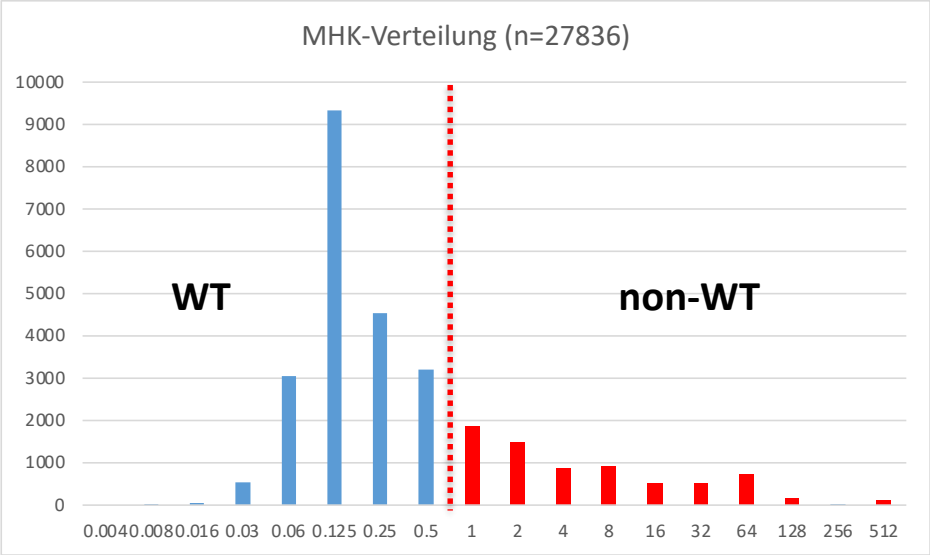


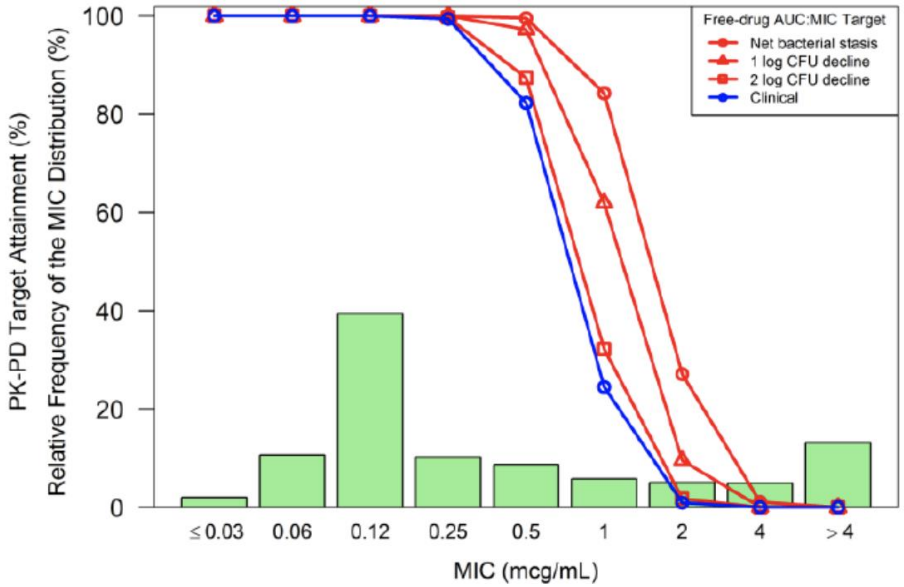
- Pharmakodynamischer Zielwert für bakteriziden Effekt (T>MHK ca. 60%) erreichbar mit
  - Standarddosis 3x1g über 0.5h bis MHK = 2mg/L
  - erhöhter Dosierung 3x2g über 3h bis MHK = 8mg/L
- In Zusammenschau von MHK-Verteilung, PK/PD-Simulationen und klinischen Daten Beurteilung der Empfindlichkeit mit **S** (≤2mg/L), **I**(>2 bis ≤8mg/L) und **R** (>8mg/L)

EUCAST Rationale Document, Meropenem v2.0

Labor Berlin

P.aeruginosa - Ciprofloxacin





- Erreichen einer AUC:MIC, die mit klinischem Erfolg assoziiert ist, nur mit hoher Dosierung von 3x400mg i.v. oder 2x750mg p.o. bis MHK = 0.5 mg/L erreichbar
- Folglich für P.aeruginosa und Ciprofloxacin Beurteilung der Empfindlichkeit nur mit **I / R** (kein S)

https://mic.eucast.org
EUCAST Rationale Document, Ciprofloxacin v2.0

Labor Berlin

Hilfreiche *online*-Ressource – https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

- Organization
- Consultations
- EUCAST News
- New definitions of S, I and R
- Clinical breakpoints and dosing
  - About "Clinical breakpoints".
  - Splitting MIC wild type distributions
  - When there are no breakpoints?
  - Where clinical data is lacking!
  - EUCAST setting breakpoints.
- Rapid AST in blood cultures
- Expert rules and intrinsic resistance
- Resistance mechanisms
- SOPs and Guidance documents

EUCAST EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Clinical breakpoints - breakpoints and guidance

weiter unten auf der website

- **Clinical breakpoints - bacteria (v 11.0) - file for printing** (1 Jan, 2021). Also, see clarification on Staphylococci below.
- **Clinical breakpoints - bacteria (v 11.0) - file for screen** (1 Jan, 2021). Also, see clarification on Staphylococci below.
- **Clinical breakpoints - fungi**
- **Dosages (v 11.0) - file for printing and screen** (1 Jan, 2021)

Labor Berlin

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Anmerkungen & Kritik gerne an
tassilo.kruis@laborberlin.com

Dr. med. Tassilo Kruis, MHBA
Facharzt für Innere Medizin
Arzt in Weiterbildung für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie
ABS-Experte (DGI)

Fachbereich Mikrobiologie & Hygiene
Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH