

# Fallstricke beim Austesten und Ableesen

**E. coli – Mecillinam**  
**H. influenzae –  $\beta$ -Laktam-Antibiotika**

EUCAST reloaded 2.0, BMG Wien, 22.03.2012

BMA Alexandra Wojna

Gabe von Antibiotika					
Akute unkomplizierte Zystitis, rezidivierende Zystitis*					
1. Wahl		Alternative		Patienten mit Penicillinallergie	
Substanz	Dosierung	Substanz	Dosierung	Substanz	Dosierung
Pivmecillinan	2 x 200 mg (7 Tage)	Cefalexin	3 x 250–500 mg	Ciprofloxacin	2 x 250 mg
	2 x 400 mg (3 Tage)	Cefuroxim	2 x 250–500 mg	Levofloxacin	1 x 250 mg
Amoxicillin/ Clavulansäure	2 x 625–1000 mg	Cefixim	2 x 400 mg	Cotrimoxazol	2 x 160/800 mg
Sultamicin	2 x 375 mg	Cefpodoxim	2 x 100 mg	Trimethoprim	2 x 200 mg
		Norfloxacin	2 x 400 mg	Fosfomycin- Trometamol	1 x 3 g (Einzelgabe)
		Ciprofloxacin	2 x 250 mg	Norfloxacin	2 x 400 mg
		Levofloxacin	1 x 250 mg		
		Cotrimoxazol	2 x 160/800 mg		
		Trimethoprim	2 x 200 mg		
		Fosfomycin- Trometamol	1 x 3 g (Einzelgabe)		
		Fluoridoxacin	1 x 600 mg (Einzelgabe)		

\*bei rezidivierender Zystitis: Kultur vor Therapiebeginn

# AURES-Daten 2008 - 2010

## E. coli Gesamt (Harn)

Antibiotika- gruppe	2008						2009						2010					
	Krankenhaus			Niedergelassen			Krankenhaus			Niedergelassen			Krankenhaus			Niedergelassen		
	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R
Pivmecillinam	2.782	0,1	10,6	4.361	2,1	12,2	6.027	0,4	8,6	4.893	0,3	6,8	8.051	0,3	6,3	6.886	0,2	5,2

## E. coli ESBL (Harn)

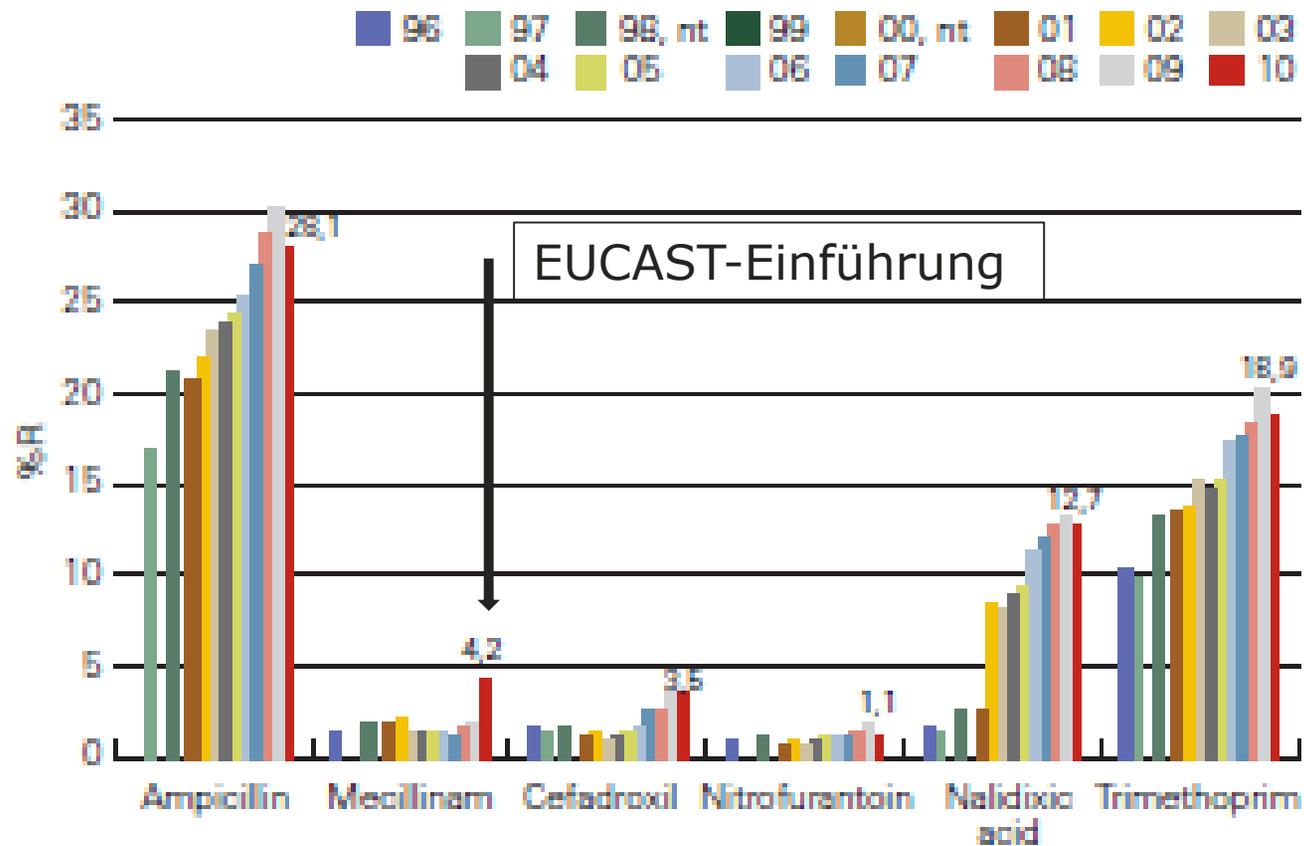
Antibiotikagruppe	2008						2009						2010					
	Krankenhaus			Niedergelassen			Krankenhaus			Niedergelassen			Krankenhaus			Niedergelassen		
	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R	N	%I	%R
Pivmecillinam	435	1,2	14,5	524	3,4	20,4	561	0,0	15,9	504	0,8	12,3	576	0,5	13,0	671	0,9	11,3

Ampicillin %R: 42,6  
Amoxicillin/Clav. %R: 10,2

Tabelle 1: Teilnehmende Laboratorien/Zentren und Ansprechpartner

Zentrum	AnsprechpartnerIn
Medizinische Universität Innsbruck	Dr. Manfred Fille
Medizinische Universität Graz	Dr. Gebhard Feierl
Medizinische Universität Wien	Dr. Alexander Blacky
Krankenhaus der Elisabethinen Linz*	Mag. Ingrid Hinterleitner
Landesnervenklinik Wagner-Jauregg - Gespag	Dr. Stefan Doppler
Medizinische Universität Salzburg	Dr. Markus Hell
Labor Dr. Mustafa/Dr. Richter Salzburg*	BMA Alexandra Wojna

# SWEDRES 2010



**FIGURE 4.16.** Resistance rates for UTI antibiotics in *E. coli* 1996-2010. Between 1996-2001 fluoroquinolone resistance was detected with norfloxacin, from 2002 and onwards with nalidixic acid.

# Tipps Mecillinam – worauf achten?

- ◆ Inokulum + Inokulation der Platten
- ◆ Ablesung
- ◆ Testmethodik (Plättchendiffusion, MHK)

Mecillinam (uncomplicated UTI only)

5/E. Mecillinam (pivmecillinam) breakpoints relate to *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *P. mirabilis* only.  
F. Ignore isolated colonies within the inhibition zone for *E. coli*.

# Einflussgröße Inokulum

- ◆ Inokulumherstellung
  - ◆ McF 0.5 > Tupfer verwerfen!
- ◆ Inokulation der Platten
  - ◆ Neuen Tupfer in die Suspension eintauchen – überschüssige Flüssigkeit am inneren Röhrchenrand ausdrücken – gleichmäßig ausstreichen.

Qualitätskontrolle E. coli ATCC 25922  
Speziell bei selektiver Testung

# Inokulumeffekt



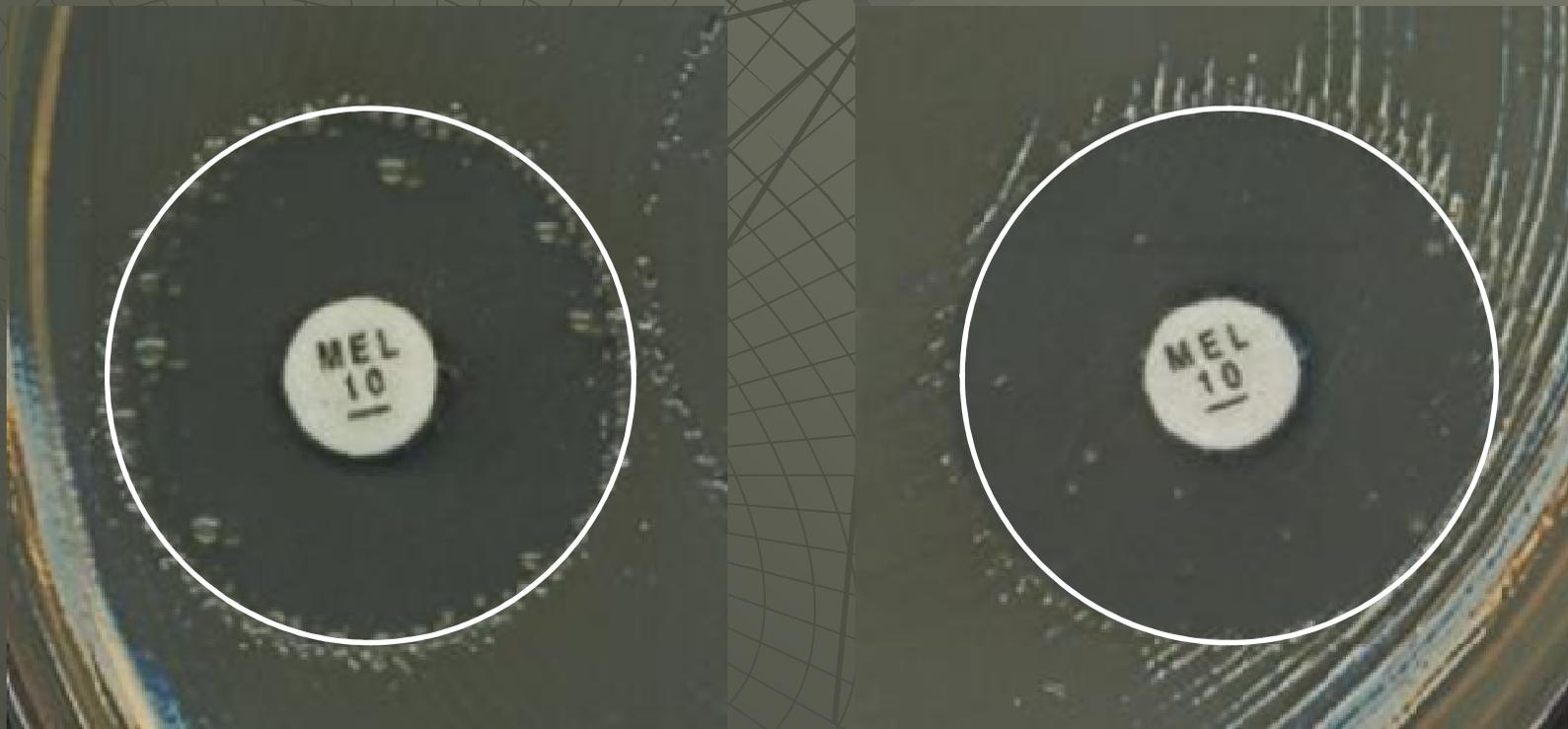
McF 0.5

McF 1.5

ohne Tupferwechsel

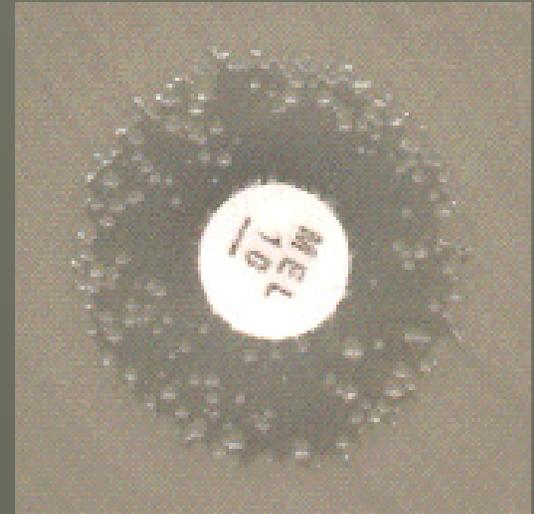
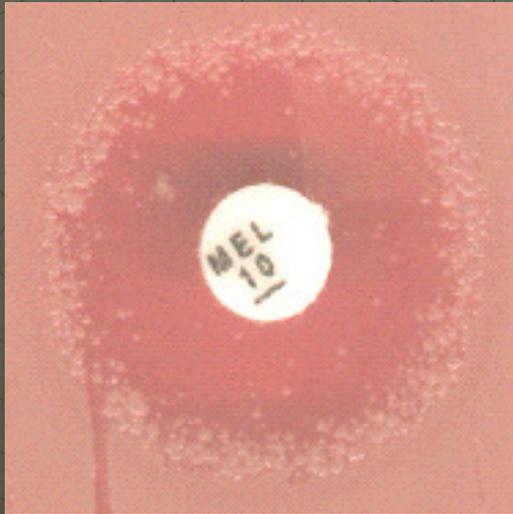
# Ablesung: **Empfindlich**

Breakpoint table 2.0: ignore single colonies for E. coli  
Scharfer Hemmhofrand + wenige isolierte Kolonien

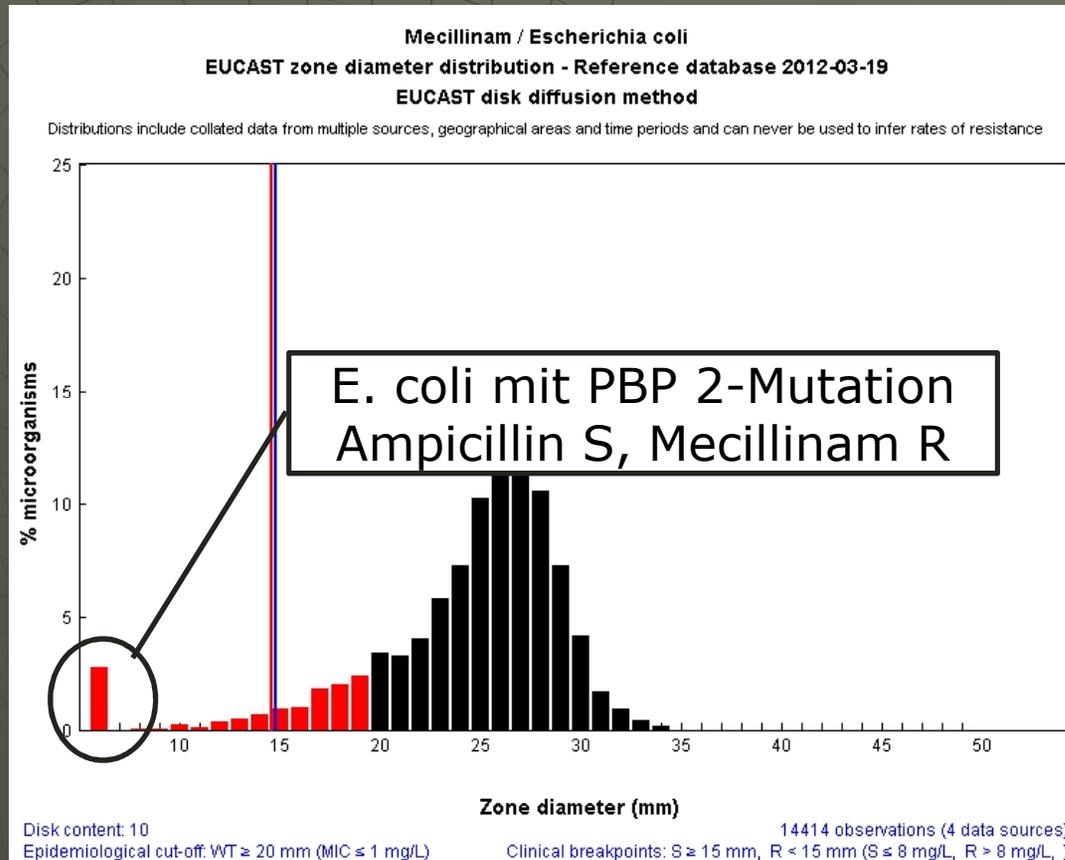


Bilder zur Verfügung gestellt von Erika Matuschek , Clinical Microbiology, Central Hospital, Växjö, Schweden

# Ablesung: **Resistent**



# Ablesung: Resistent

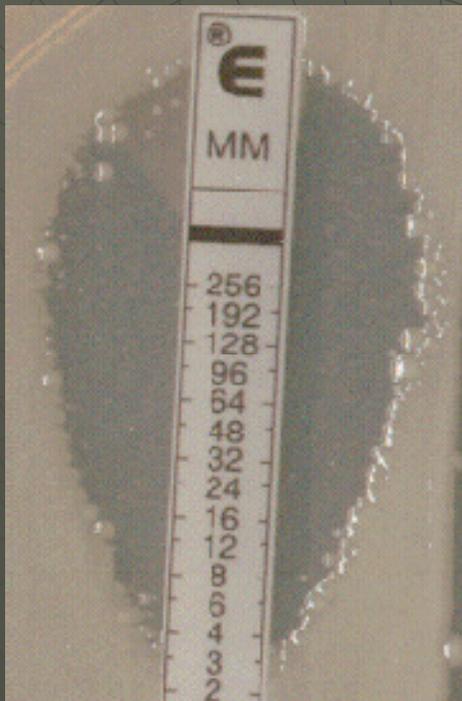


Small colonies

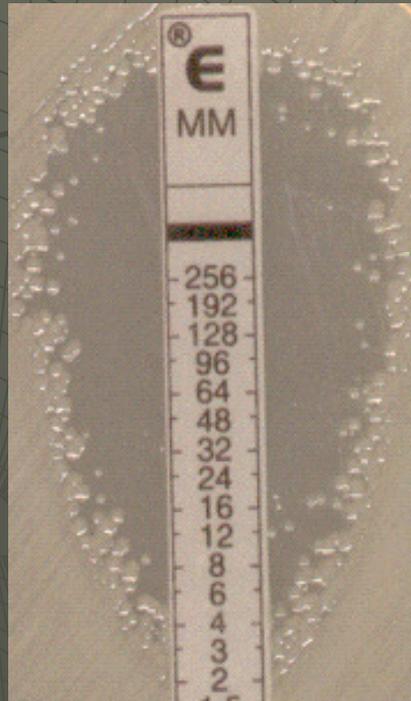


# Ableitung Gradienten-Streifen

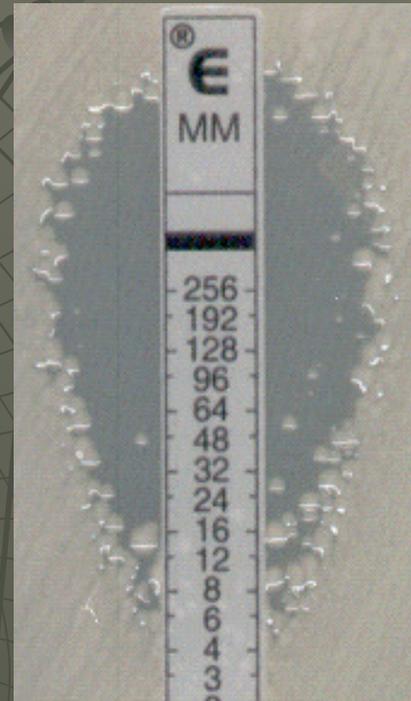
nahe am Grad.-Streifen gewachsene Kolonien ablesen



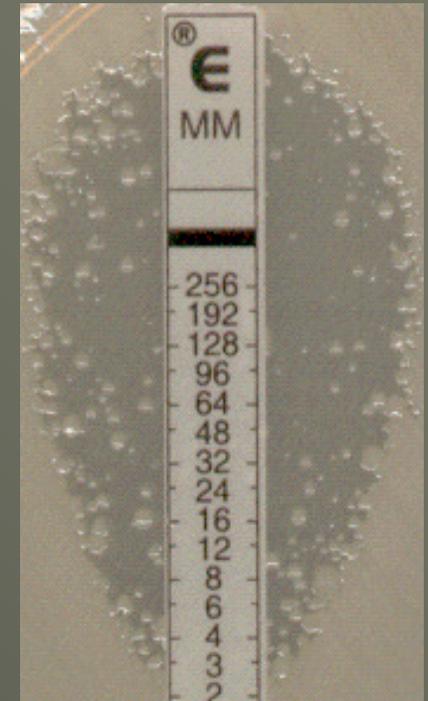
6 mg/L



16 mg/L



64 mg/L

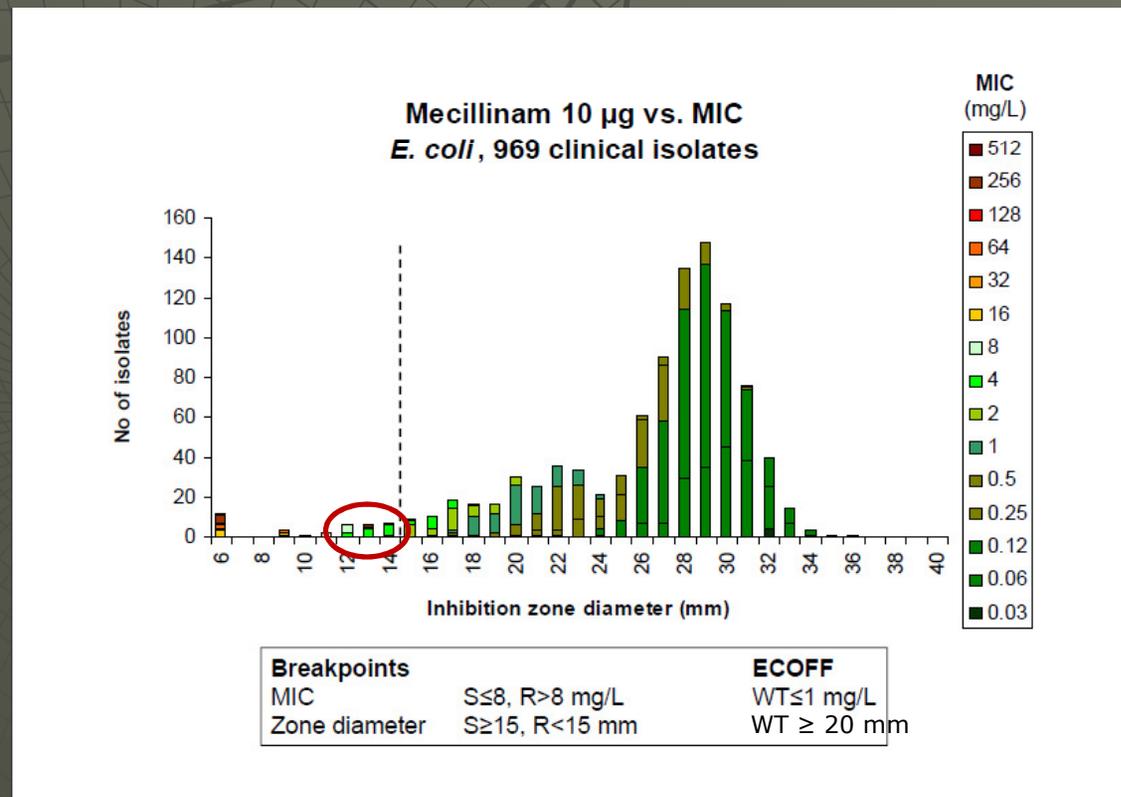


128 mg/L

# Testmethodik

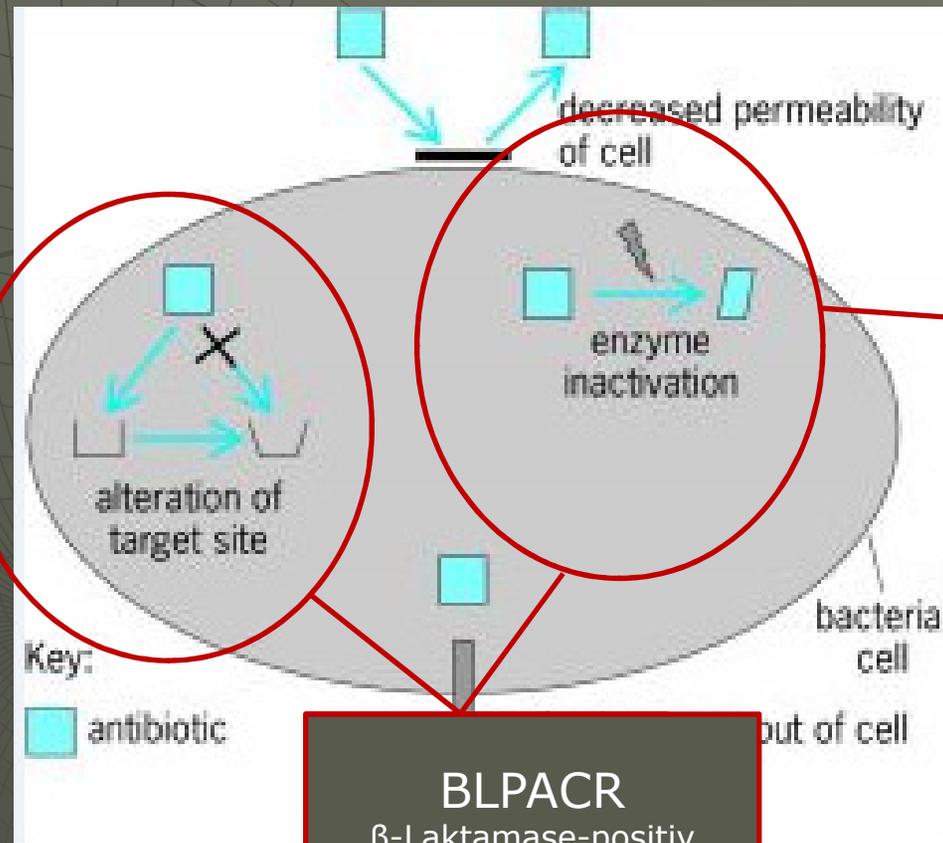
## Wann MHK-Bestimmung?

- ◆ Single colonies?
- ◆ HH 12 – 14 mm?



# H. influenzae

## β-Laktam-Resistenz



**BLNAR**  
β-Laktamase-negativ Ampicillin resistant  
Modifikation PBP3  
Low level BLNAR  
High level BLNAR

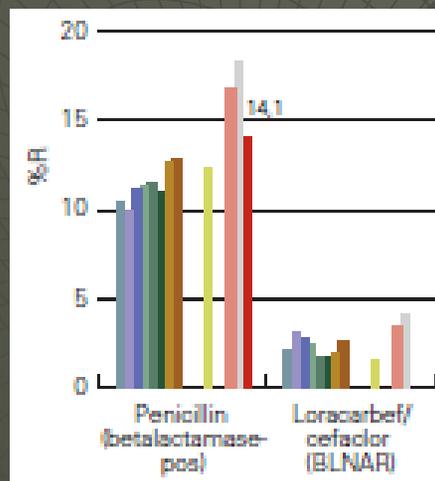
**BLPAR**  
β-Laktamase-positiv Ampicillin resistant  
 $bla_{TEM}$ ,  $bla_{ROB}$

**BLPACR**  
β-Laktamase-positiv Amoxicillin/Clavulansäure resistant

# AURES-Daten 2010

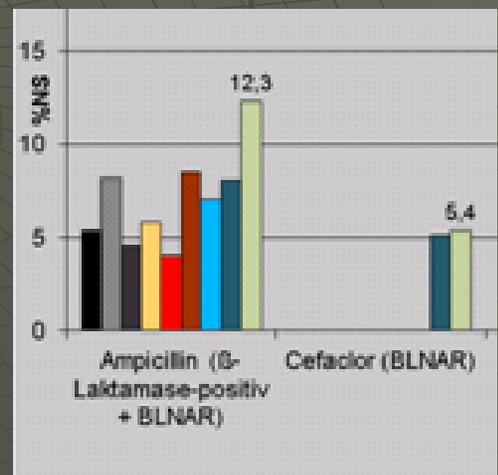
Antibiotikagruppe
Ampicillin oder Amoxicillin
Aminopenicilline + Betalactamaseinhibitor

2010					
Krankenhaus			Niedergelassen		
N	%I	%R	N	%I	%R
1.077	0,4	12,0	1.161	0,0	9,9
850	0,0	2,4	1.158	0,0	0,1



Swedres 2010  
BLPAR: 14,1 %  
BLNAR: 4 %

Kein BLNAR-Marker!  
AMC-R = HL-BLNAR



Lab MR 2010/11  
BLNAR: 5,4 %  
Low Level BLNAR (AMC30)

# Detektion $\beta$ -Laktam-Resistenz EUCAST

Penicillin-Screen (P1)	< 12 mm	BLPAR/BLNAR
$\beta$ -Laktamase-Test (Cefinase)		BLPAR
Cefaclor-Screen (BT V1.0-1.3)	< 23 mm (lt. Erika Matuschek 02/2012)	Hinweis BLNAR
Cefuroxim axetil	< 26 mm	Hinweis BLNAR
Amoxicillin/Clav. (2-1 $\mu$ g) „The amoxicillin-clavulanic acid 3 ug disk results in better separation than the 30 ug disk between resistant and susceptible isolates, but the zone diameter breakpoint is set to avoid reporting resistant isolates susceptible.“ (E. M. 02/2012)	< 17 mm	Hinweis BLNAR
Nicht ablesen, wenn $\beta$ -Laktamase positiv und Cefaclor-Screen negativ (falsch resistente Resultate) BLNAR: MHK Bestimmung empfohlen		

# Interpretationshilfe

Zone diameter Benzylpenicillin 1 unit	$\beta$ -lactamase test	Zone diameter Cefaclor 30	Mechanisms of resistance to $\beta$ -lactam agents	Interpretation for $\beta$ -lactam agents
$\geq 12$ mm	Do not test	Do not interpret	None	<p><b>R:</b> None</p> <p><b>I:</b> Cefuroxime axetil</p> <p><b>S:</b> other <math>\beta</math>-lactam agents with clinical breakpoints.</p>
$< 12$ mm	Negative	$< 23$ mm*	PBP mutations	<p><b>R:</b> Cefuroxime axetil and cefuroxime</p> <p><b>Report only after MIC determination:</b> other <math>\beta</math>-lactam agents with clinical breakpoints.</p> <p><b>Comment:</b> This isolate harbours <math>\beta</math>-lactam resistance mechanisms which may affect other <math>\beta</math>-lactam agents (penicillins, cephalosporins, carbapenems) than those tested.</p>
$< 12$ mm	Positive	$\geq 23$ mm	$\beta$ -lactamase	<p><b>R:</b> Ampicillin and amoxicillin</p> <p><b>I:</b> Cefuroxime axetil</p> <p><b>S:</b> other <math>\beta</math>-lactam agents with clinical breakpoints.</p>
$< 12$ mm	Positive	$< 23$ mm	$\beta$ -lactamase and PBP mutations	<p><b>R:</b> Ampicillin, amoxicillin, cefuroxime axetil and cefuroxime</p> <p><b>Report only after MIC determination:</b> other <math>\beta</math>-lactam agents with clinical breakpoints.</p> <p><b>Comment:</b> This isolate harbours <math>\beta</math>-lactam resistance mechanisms which may affect other <math>\beta</math>-lactam agents (penicillins, cephalosporins, carbapenems) than those tested.</p>
Erika Matuschek	Feb 12	* mod. A. Wojna		

# EUCAST calibration & validation



## *Haemophilus influenzae*

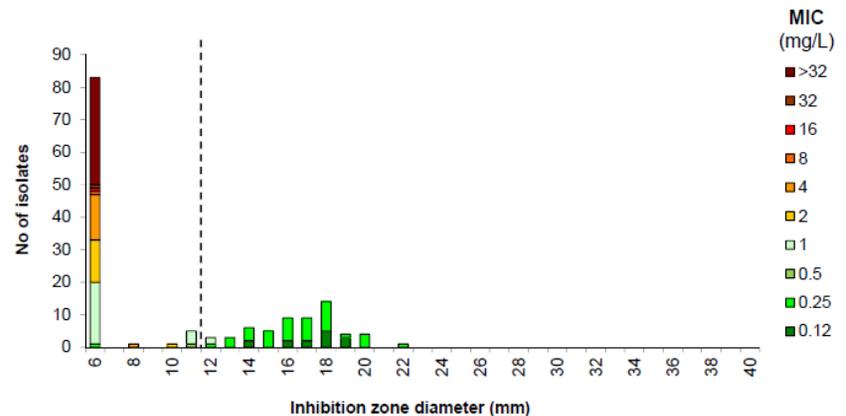
Benzylpenicillin 1 unit as screen for beta-lactam resistance

Version 1.0  
December 2011

Penicillin-R:	60 %
Ampicillin-R:	42 %
Amoxi/Clav.-R:	23 %
Cefaclor-R:	31 %
Cefuroxim-R:	34 %

A collection of 148 *H.influenzae* from the Sentry collection at JMI Laboratories (US), biased towards beta-lactam resistant isolates, were tested with the EUCAST disk diffusion method and MICs were determined with the ISO broth microdilution method.

Benzylpenicillin 1 unit vs. Ampicillin MIC  
*H. influenzae*, 148 clinical isolates



Breakpoints		ECOFF
Ampicillin MIC	S ≤ 1, R > 1 mg/L	WT ≤ 1 mg/L
Benzylpenicillin zone diameter (screen)	S ≥ 12, R < 12 mm	

# Daten 1. Quartal 2012

Antibiotikum	R	I	S	n Isolate
Penicillin-Screen	33,30%	-	66,70%	126
Ampicillin	13,70%	-	86,30%	124
Amoxicillin/Clavulansäure	7,30%	-	92,70%	124
Cefaclor-Screen (Haemophilus)	19,80%	-	80,20%	86
Cefuroxim Axetil	19,70%	80,30%	-	127
Cefpodoxim	-	1,60%	98,40%	124

- ◆ Anstieg BLNAR (low level)
- ◆ Anstieg AMC-resistente Isolate (AMC3)
- ◆ Low level BLNAR können gegenüber Ampicillin und Amoxicillin/Clav. empfindlich sein (report as found)
- ◆ Seit März 2012 H. influenzae (BLNAR) + Kommentar (H. influenzae-Isolate mit dem Resistenzphänotyp BLNAR haben eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber der Gruppe der  $\beta$ -Laktam-Antibiotika. Bitte beachten Sie die Testergebnisse im Antibiogramm. Bei Therapieversagen wird die Umstellung auf eine andere Antibiotika-Klasse empfohlen.)

# Tipps

- ◆ Testpanelanpassung
- ◆ Wenn Penicillin-Screen, Cefaclor-Screen und Cefuroxim resistent > V. a. BLNAR
- ◆ bei V. a. BLNAR MHK-Bestimmung für  $\beta$ -Laktam-AB – zumindest bei invasiven Isolaten
- ◆ High level BLNAR – Expert Rule 10.2
- ◆ Low level BLNAR – Report as found (E. M.)
- ◆ AMC 3 nicht ablesen, wenn  $\beta$ -Laktamase-pos. und Cefaclor-Screen empfindl. H. influenzae
- ◆ Befundkommentar überlegen

Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!



Kontakt:  
Alexandra Wojna  
Tel.: 0662/2205-450  
E-Mail: [mikrobiologie@medilab.at](mailto:mikrobiologie@medilab.at)