



LGL

Resistenztestung von *Corynebacterium diphtheriae* und anderen Vertretern des *C. diphtheriae* Komplexes nach EUCAST

BARDa-Netzwerktreffen 2023

Anja Berger, GI2.2 Humanbakteriologie, Mykologie, Konsiliarlabor für Diphtherie

C. diphtheriae und der *C. diphtheriae* Komplex

	Toxin	Human	Animal
<i>C. diphtheriae</i> (<i>phitis, gravis, intermedius</i>)	+/-/NTTB	+++	sporadic (n=13)
<i>C. beltantii</i>	-	+	?
<i>C. rouxii</i>	-	n=6 (skin)	n=6 (skin, otitis; dogs, cats)
<i>C. ulcerans</i>	+/-/NTTB	++	++ (19 species)
<i>C. ramonii</i> (<i>C. ulcerans</i> , lineage 2)	+/-/NTTB	n=19	n=1 (dog)
<i>C. silvaticum</i> (ehemals „NTTB wildlife cluster“)	NTTB	n=2 (unpublished)	n=34 (wild boar, deer)
<i>C. pseudotuberculosis</i>	+/-	sporadic	+++

zoonotische Übertragung

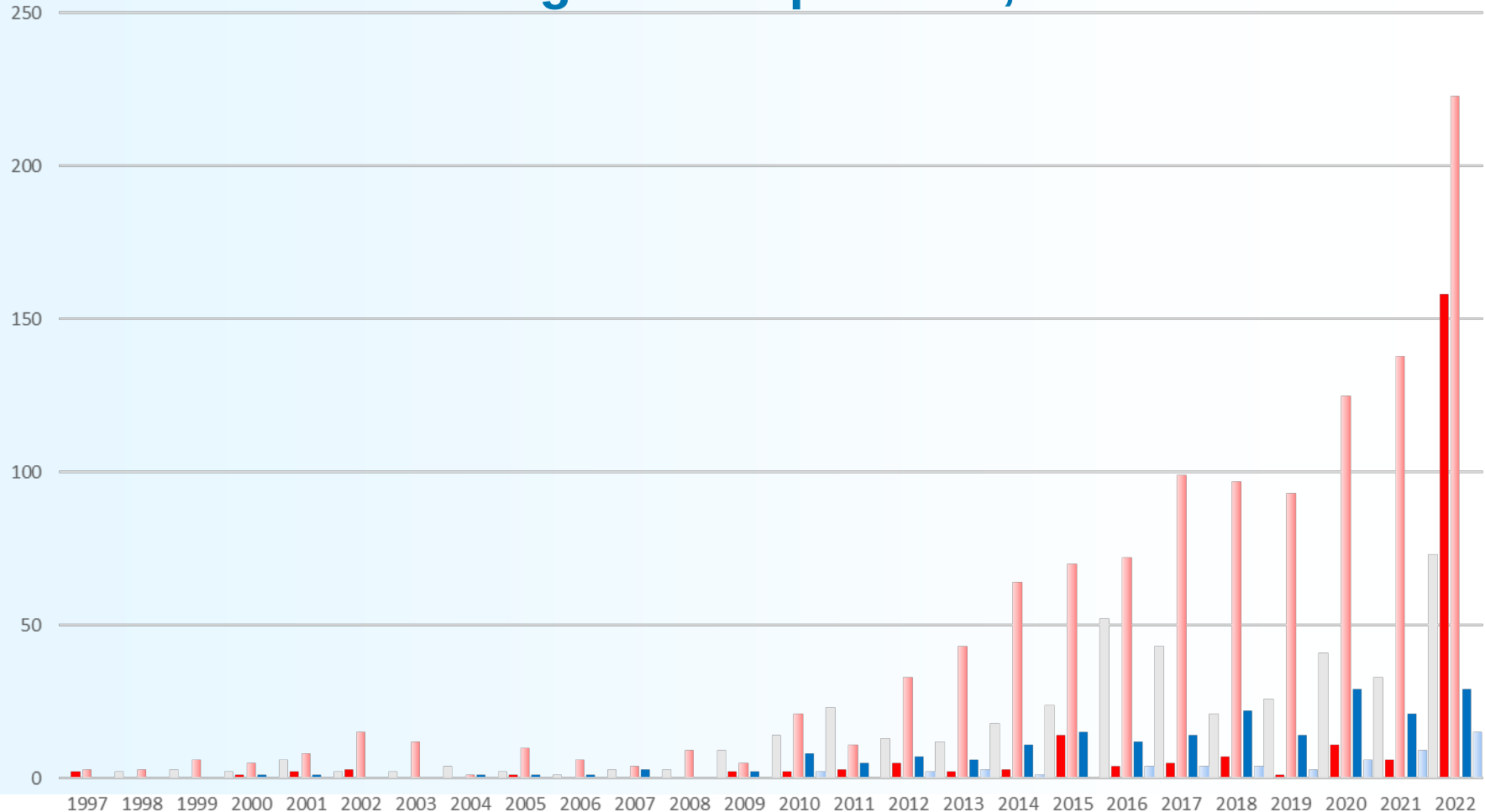
NTTB: nontoxicogenic, *tox* gene bearing= PCR positiv, Elek-Test negativ

Warum eigene Grenzwerte für *Corynebacterium diphtheriae* Komplex?

1. Diphtherie ist selten (Meldezahlen), Antibiotikatherapie (unterstützend zu Antitoxingabe) und Postexpositionsprophylaxe (Kontaktpersonen)
2. *tox- C. diphtheriae* (keine Meldezahlen vorhanden) invasive Infektionen (Sepsis, Endokarditis, Gelenkinfektionen) möglich
3. Zoonotische Diphtherieerreger *Corynebacterium ulcerans* im Vormarsch (Wundinfektionen, selten Diphtherie der oberen Atemwege)

→ sichere Therapieempfehlungen nötig

Probeneinsendungen KL Diphtherie, 1997 - 2022



C. diphtheriae

■ tox positiv
 ■ tox negativ

C. ulcerans

... Weitere Gründe für eigene Grenzwerte?

Diphtherietherapie

- Penicillin und Erythromycin: Mittel der ersten Wahl
- Postexpositionsprophylaxe: Penicillin, Erythromycin

Beobachtung im KL Diphtherie:

- EUCAST Grenzwerte passen nicht für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* (Bsp. Penicillin, Clindamycin)
 - **Vermutung:** bisherige EUCAST MHK/HHD-Daten basieren auf Analysen von Corynebakterien mit anderen Resistenzraten/Wildtypverteilungen
- Keine Grenzwerte für Erythromycin nach EUCAST
 - Labore weichen aus auf CLSI- Grenzwerte oder Auswertung von Agardiffusionstest/E-Etest nach anderen Kriterien

Diphtherie: Empfindlichkeitsprüfung

CLSI

- seit 2006 standardisiertes Test-Verfahren für *Corynebacterium species* einschließlich *C. diphtheriae*) (Mikrobouillondilutionsverfahren, MHKs)
→ Wegen unterschiedlicher Dosierungsempfehlungen/Zusammensetzung der Präparate nicht 1:1 übertragbar auf den europäischen Raum → EUCAST

EUCAST

- seit Version v.4, 2014 breakpoints für *Corynebacterium sp.* (außer *C. diphtheriae*) und ohne Makrolide (MHKs, HHDs)
- Version v. 6, 2016 *Corynebacterium sp.* einschließlich *C. diphtheriae*
- Seit v. 9.0, 2019 keine Bewertungskriterien für *C. diphtheriae* (bzw. partiell ausgeschlossen: Penicillin und Rifampicin)

Begriffe

ECOFF (Epidemiological Cut-Off Value):

MHK-Wert, der eine gegenüber einem Antibiotikum sensible Population gegen eine resistente Population abgrenzt; minimaler klinischer Grenzwert, der phänotypisch bestimmt wird. Er sagt aus unterhalb welchen Wertes es zu Problemen zwischen Korrelation von MHK- und Therapieerfolg kommen kann.

→ Standardisiertes Verfahren (techn. und biologische Variation muss abgebildet sein, d.h. verschiedene Labore, Anzahl der Stämme, Referenzverfahren etc.)

TECOFF (Tentative= vorläufiger ECOFF)

Wenn Daten nicht vollständig erhoben werden können (z.B. seltener Erreger, nur ein Studienzentrum o.Ä.)

Klinischer Grenzwert S/I (sensibel/intermediär)

Hohe Wahrscheinlichkeit des Therapieerfolgs bei richtiger Dosierung

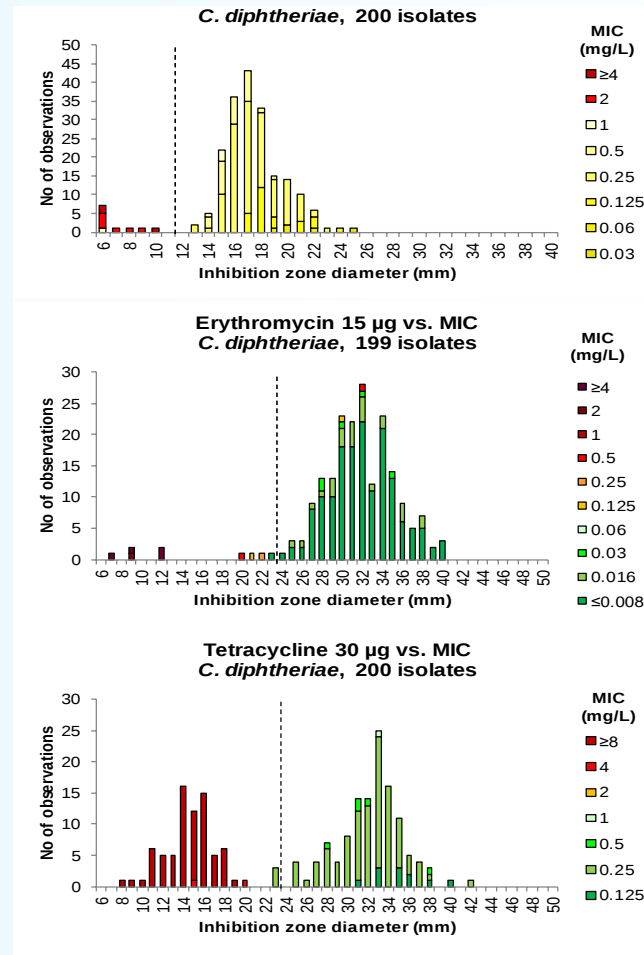
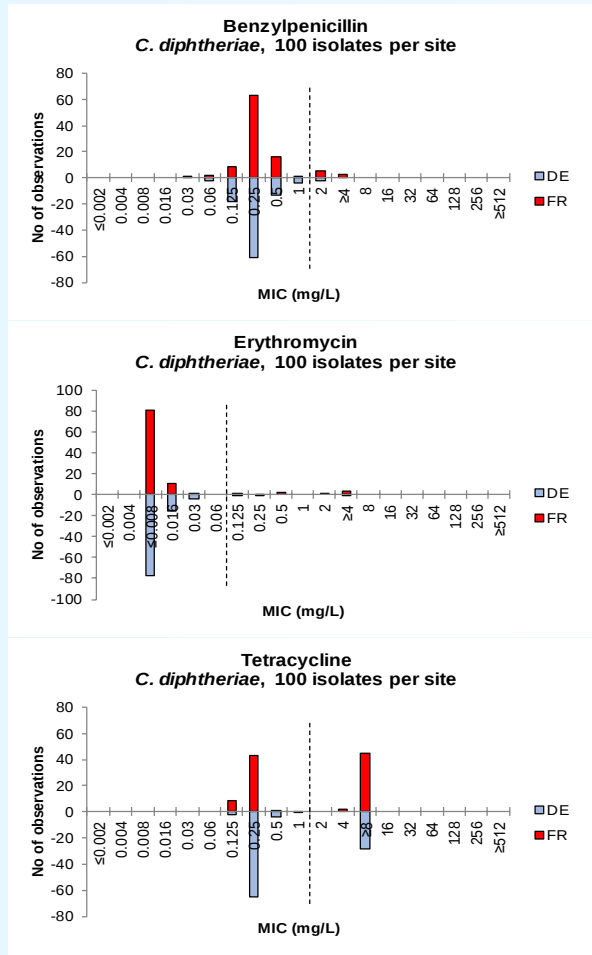
Daten aus dem KL Diphtherie 2011-2017



Der Weg zu spezifischen EUCAST breakpoints für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans*

- 2 Verfahren Agardiffusionstest und Mikrobouillondilution parallel
 - Bestimmung spezies-spezifischer Hemmhofdurchmesser (HHDs) und minimaler Hemmkonzentrationen (MHKs)
 - 2 Studienzentren (Pasteur Institut, NRZ für Diphtherie; LGL OSH, KL für Diphtherie)
 - 100 *C. diphtheriae* und 100 *C. ulcerans* Stämme (*tox+* und *tox-* Klinikisolate von Mensch und Tier) je Zentrum (Gesamt n= 400 Stämme)
 - 13 Antibiotika: Benzylpenicillin, Ampicillin, Amoxicillin, Cefotaxim, Meropenem, Ciprofloxacin, Erythromycin, Clindamycin, Tetrazyklin, Doxyzyklin, Linezolid, Rifampicin, Trimethoprim-Sulfamethoxazol
 - Ziel: Festsetzung klinischer breakpoints für *C. ulcerans* und *C. diphtheriae*
 - Vorversuche und Beginn der Harmonisierung im April 2021
- fertige breakpoints Sept 2022 (noch Fragen der Darstellung etc);
- vorzeitig veröffentlicht Okt 2022, offiziell **implementiert in EUCAST v. 13.0, Jan 2023**

EUCAST breakpoints für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans*



Ähnliche Wildtypverteilungen
in beiden Studienzentren

Hervorragende Korrelation
zwischen Agardiffusion und
MHK Testung.

Gestrichelte Linie: breakpoint

MHK Verteilungen waren
ähnlich für *C. diphtheriae*
und *C. ulcerans*
(Ausnahme Clindamycin)

Statistische („ECOFFinder“)
und visuelle ECOFF
Bestimmung durch EUCAST

A. Berger, E. Badell, J. Ahmann, E. Matuschek, N. Zidane, G. Kahlmeter, A. Sing, S. Brisse (2023, in submission)

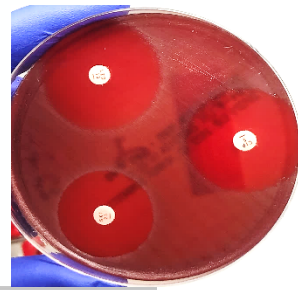
EUCAST (C. diph/C. ulc v.13, 2023) versus EUCAST (alle C. species v.13, 2023) versus CLSI (M45-ED3:2016)

Antibiotikum	EUCAST (C. diph / C. ulc) S ≤ / R >	EUCAST (andere C. sp.) S ≤ / R >	CLSI (alle C. sp.) S ≤ / R >
Benzylopenicillin	0.001 / 1	0.125 / 0.125	0.12 / 2
Cefotaxim	0.001 / 2	-	1 / 2
Ciprofloxacin	0.001 / 0.5	0.001 / 1	1 / 2
Clindamycin	0.5 / 0.5 (ohne <i>C. ulcerans</i>)	0.5 / 0.5	0.5 / 2
Erythromycin	0.06 / 0.06	IP	0.5 / 1
Rifampicin	0.06 / 0.06	0.06 / 0.5	1 / 2
Tetrazyklin	1 / 1	2 / 2	4 / 8
Trimethoprim- Sulfamethoxazol	0.5 / 0.5	.	2 / 4

Zusammenfassung

- Etablierte EUCAST Methoden (MHK, HHD-Bestimmung) für *Corynebacterium* spp. können für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* verwendet werden
- Hervorragende Korrelation zwischen MHK- und HHD-Daten bei allen getesteten Substanzen
- Korrelation von Benzylpenicillin-HHD und anderen getesteten β -Laktamantibiotika: HHD < 12mm erkennt alle Resistenzen gegen β -Laktame (Amoxicillin, Cefotaxim, Meropenem)
- Konsistente MHK- und HHD-Verteilungen beider Studienzentren
- MHK-Verteilungen für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* ähnlich für alle Substanzen außer Clindamycin
- Generierung eigener Grenzwerte für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* waren notwendig, v.a. für Penicillin und Erythromycin
- Basierend auf diesen Studienergebnissen konnte EUCAST klinische MHK und HHD-breakpoints für *C. diphtheria* und *C. ulcerans* festlegen

Diphtherie: Empfindlichkeitsprüfung



→ ↻ 🏠 🔒 https://www.eucast.org/clinical_breakpoints

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters

Version 13.0, valid from 2023-01-01

This document should be cited as "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. <http://www.eucast.org>."

Content	Page	Additional information
Changes	1	
Notes	6	
Guidance on reading EUCAST Breakpoint Tables	8	
Dosages used to define breakpoints	9	
Information on technical uncertainty	13	
Enterobacterales	15	
Pseudomonas spp.	22	
Stenotrophomonas maltophilia	27	Link to Guidance Document on Stenotrophomonas maltophilia
Acinetobacter spp.	29	
Staphylococcus spp.	34	
Enterococcus spp.	41	
Streptococcus groups A, B, C and G	46	
Streptococcus pneumoniae	51	
Viridans group streptococci	57	
Haemophilus influenzae	62	
Moraxella catarrhalis	68	
Neisseria gonorrhoeae	72	
Neisseria meningitidis	76	
Anaerobic bacteria	80	
Helicobacter pylori	83	
Listeria monocytogenes	84	
Pasteurella spp.	86	
Campylobacter jejuni and C. coli	88	
Corynebacterium spp. other than C. diphtheriae and C. ulcerans	89	
Corynebacterium diphtheriae and C. ulcerans	91	
Aerococcus sanguinicola and A. urinae	93	
Kingella kingae	95	
Aeromonas spp.	97	
Achromobacter xylosoxidans	99	

ice

methods from

- 8
- 4
- 2
- 1
- 0.5
- 0.25
- 0.125
- ≤0.06

Vielen Dank



LGL OSH Humanbakteriologie und NGS Core Unit

Andreas Sing

Alexandra Dangel

DJ Marosevic

Regina Konrad

Cengiz Dedeoglu

Annika Sprenger

Wolfgang Schmidt

Sabine Lohrer

Katja Bengs

Gabriele Margos

Helga Kocak

Jasmin Fräßdorf

Andrea Seifarth

Vyacheslav Melnikov

Bernhard Hobmaier

Stefan Hörmansdorfer

EUCAST

Gunnar Kahlmeter, Jenny Ahmann, Erika Matuschek

Grants



StMGP

Institut Pasteur (NRZ für Diphtherie, Paris)

Silvain Brisse, Edgar Bardell, Nora Zidane

**... an alle Einsender, Gesundheitsämter, Veterinärämter
und Kooperationspartner!**