



Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2013-1

Campione A: Urina getto intermedio, > 100.000 patogeni/ml, infezione delle vie urinarie

Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Resistenza ad almeno 6 antibiotici rilevanti per l'infezione

L'agente infettivo era un ceppo non resistente di *Escherichia coli*. Tuttavia la valutazione delle cefalosporine di prima e seconda generazione non è stata uniforme, poichè le direttive CLSI, ancora in uso presso alcuni rinomati laboratori, non corrispondono del tutto alle direttive EUCAST. EUCAST non prevede l'indicazione di cefalotina, mentre CLSI permette ancora cefalotina come surrogato delle cefalosporine orali nelle infezioni delle vie urinarie. Un partecipante ha riportato il ceppo come resistente a cefalotina e intermediario a cefuroxima, spiegabile con il fatto che secondo CLSI esiste ancora la zona intermedia per cefuroxima (15-22 mm), mentre secondo EUCAST la zona intermedia è stata annullata e vengono indicate solo sensibilità (≥ 18 mm) e resistenza (< 18 mm). Nei futuri commenti ritorneremo sul tema delle zone intermedie a volte assenti in EUCAST e riporteremo esempi concreti. Secondo EUCAST è prevista la somministrazione orale di cefuroxima solo per infezioni urinarie non complicate.

Per ampicillina era da riportare sensibilità secondo entrambe le direttive, per quanto EUCAST ricordi che, in Paesi che riportano per ceppi selvatici la resistenza ad ampicillina come intermedia, è permesso porre il livello limite per la sensibilità a 50 mm; con tale limite *E. coli* non risulterebbe in pratica mai sensibile. Il comitato svizzero per gli antibiogrammi (SAC) ha però adottato il limite EUCAST di 14 mm. Questa complessa analisi deriva dal fatto che tutti i ceppi di *E. coli* possiedono una *ampC* cromosomale, regolata però diversamente da come avviene in *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia*. L'*ampC* in *E. coli* è controllata da un promotore e da un attenuatore in modo tale da non esprimere normalmente alcuna AmpC-beta -lattamasi; sono mutazioni puntiformi nel promotore e/o nell'attenuatore che portano alla produzione di AmpC e quindi eventualmente a una resistenza ad ampicillina, cefalosporine di 1^a generazione e perfino a amoxicillina/acido clavulanico, piperacillina/tazobactam, cefalosporine di 2^a /3^a generazione ed anche di 4^a generazione. Questi ceppi hanno però anche mutazioni nello stesso gene AmpC, si parla in questi casi di Extended Spectrum *ampC* - ESAC (con riferimento a ESBL). Nel 2013 dovremo ancora attenerci ad entrambe le direttive. Sul sito della Società svizzera di Microbiologia si trova un riassunto dei valori limite secondo EUCAST e un confronto con le direttive CLSI. La nuova versione del 2013 sarà disponibile in aprile.

Escherichia coli

Quantità
68

Campione B: Urina da catetere a dimora, infezione delle vie urinarie
Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)
Resistenza a 6 antibiotici rilevanti per l'infezione

L'identificazione di *Citrobacter freundii* è riuscita a quasi tutti i partecipanti. *C. freundii* ha sempre una *ampC* cromosomale, che in questo ceppo era sovraespressa. Tuttavia erano presenti anche resistenze a carbapenemi che potevano essere inibite con EDTA. In biologia molecolare si rilevava una carbapenemasi di classe B (VIM). Questo campione voleva dimostrare che tali ceppi sono presenti anche nel nostro Paese. È importante testare anche i carbapenemi nelle enterobatteriacee; ertapenem è il più sensibile per rilevare la KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemasi), ma in enterobatteriacee con AmpC inducibile la resistenza a ertapenem in genere non è dovuta alle carbapenemasi ma a una perdita accessoria di porina. Si confronti a proposito il commento al campione A del controllo circolare 2012-4. Il SAC, in collaborazione con la SGM, intende sviluppare una rete di laboratori esperti in grado di confermare tali ceppi e di inoltrare i dati epidemiologici all'ANRESIS. Questa iniziativa dovrebbe permettere a tutti i laboratori svizzeri di identificare enterobatteriacee carbapenemi-resistenti con l'aiuto di laboratori esperti. Inviemo loro una informazione indipendente. Abbiamo considerato corretti tutti i risultati per i carbapenemi e anche per cefepima perchè, a seconda della direttiva usata, l'analisi delle zone di inibizione viene a mancare. Di seguito un estratto del riassunto sopracitato:

Antibiotico	EUCAST		CLSI		EUCAST		CLSI	
	mm	mm	mm	mm	MIC	MIC	MIC	MIC
	S >	R <	S >	R <	S <	R >	S <	R >
<i>Enterobacteriaceae</i>								
Ertapenem 10 µg	25	22	22	18	0.5	1	0.5	2
Imipenem 10 µg	22	16	23	19	2	8	1	4
Meropenem 10 µg	22	16	23	19	2	8	1	4
Cefepima 30 µg	24	21	18	14	1	4	8	32

La fosfomicina orale e la nitrofurantoina sono da riportare secondo EUCAST solo per infezioni delle vie urinarie non complicate, la nitrofurantoina è solo per *E. coli*, in EUCAST esistono per la fosfomicina solo i valori limite della MIC. Il SAC dovrà discutere con gli infettivologi se nelle infezioni delle vie urinarie in generale questi antibiotici siano indicati per le enterobatteriacee. Per la tobramicina abbiamo accettato tutti i risultati poichè la MIC di 3 mg/l viene interpretata diversamente a seconda della direttiva usata.

	Quantità
<i>Citrobacter freundii</i>	66
<i>Citrobacter werkmanii</i>	1
<i>Enterbacteriaceae species</i>	1

Campione C: **Tessuto, fascite necrotizzante**
Requisiti: **Batteri potenzialmente patogeni**
 (genere e specie)

Il ceppo di *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *Equisimilis* (streptococco beta-emolitico di gruppo G) è stato isolato dal tessuto di una paziente con fascite necrotizzante. È noto che non solo streptococchi beta-emolitici di gruppo A, ma anche di gruppo C/G possono portare ad infezioni invasive (Konrad D. et al. Scand. J. Infect. Dis. 1999; 31:100-2; Kittang BR et al. J. Clin. Microbiology 2010; 48: 1484-7). La diagnosi è riuscita senza problemi alla maggioranza dei partecipanti. Al contrario degli streptococchi del gruppo *Streptococcus anginosus*, gli streptococchi beta-emolitici di gruppo G crescono in colonie grandi (VP negative).

	Quantità
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> Gruppo G	62
<i>Streptococcus suis</i>	1
1 <i>Streptococcus anginosus</i>	1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3
Cocchi gram positivi	1

Campione D: **Sangue**
Requisiti: **Batteri potenzialmente patogeni**
 (solo genere)

L'identificazione di *Capnocytophaga ochracea* (esigente bacillo gram-negativo) dalla coltura ematica di un paziente neutropenico era richiesta solo fino al livello di genere. L'ossidasi e la catalasi negative e la morfologia microscopica a bacillo gram negativo sottile e appuntito facevano già pensare a *Capnocytophaga* spp. (vedi Manual of Clinical Microbiology, ASM, 10th Edition, p. 578 e sgg). La morfologia microscopica è sicuramente simile a *Fusobacterium nucleatum* o *Leptotrichia buccalis* (riportati in due casi), ma la crescita aerobica (*L. buccalis* cresce anche in ambiente aerobico) e la resistenza alla colistina non confermavano tale diagnosi. Nell'analisi degli acidi grassi metabolici in gascromatografia si trovano acido lattico in *L. buccalis* e butirrico nei fusobatteri, mentre *Capnocytophaga* spp. hanno acido succinico. Le reazioni biochimiche (in TSI agar inclinato colorazione gialla sia in superficie sia in profondità, esulina positiva, ureasi e riduzione del nitrato negative; glucosio, saccarosio e maltosio positivi) suggerivano *Capnocytophaga ochracea*, ma la demarcazione da altre specie di *Capnocytophaga* come *C. sputigena* è difficile con metodi convenzionali (il pigmento giallo è indizio in genere di *C. ochracea*). In MALDI-TOF abbiamo ottenuto per *C. ochracea* uno score di 1.86 per *C. sputigena* uno score di 1.78, per cui si rendeva possibile solo un'identificazione a livello di genere. Il sequenziamento dell'rRNA 16S rilevava *C. ochracea* con una deviazione di 2 su 725 nucleotidi (99.7%). Nella pratica l'identificazione del genere in caso di batteriemia nel paziente neutropenico dovrebbe bastare, ma in patologie particolari come le endocarditi è necessaria l'identificazione della specie mediante sequenziamento.

	<i>Quantità</i>
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	19
<i>Capnocytophaga</i> DF-1	3
<i>Capnocytophaga</i> species	36
<i>Fusobacterium</i> species	1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1
Bacilli gram variabili	1
Bacilli gram negativi	3
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1
Nessuna crescita	2
<i>Leptotrichia buccalis</i>	1

Distinti saluti



Prof. Dr. R.Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Resistenze campione A

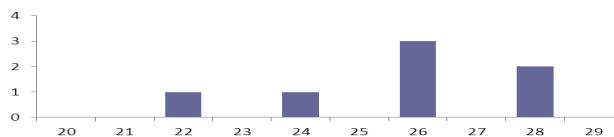
Amoxicillina acido clavulanico



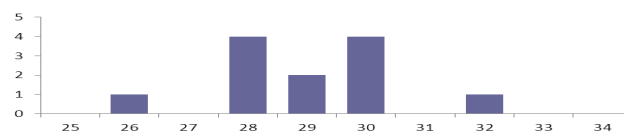
Ampicillina



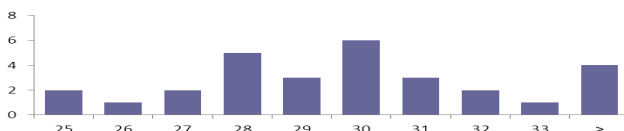
Ceftazidima



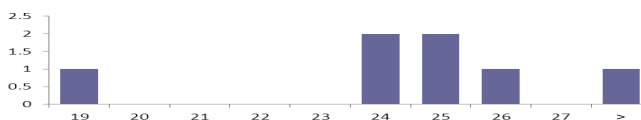
Ceftriaxone



Ciprofloxacina



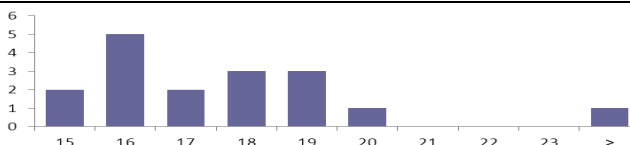
Fosfomicina



Imipenem



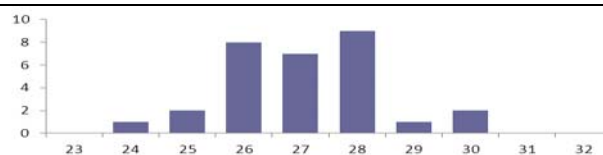
Nitrofurantoina



Norfloxacina

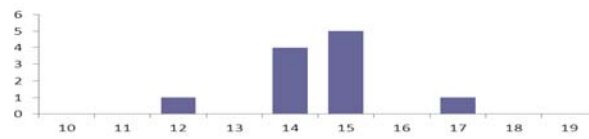


Sulfametossazolo / Trimetoprim

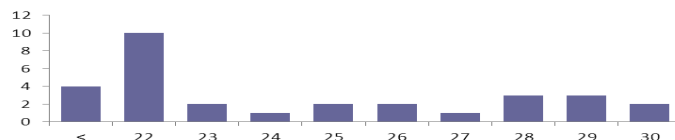


Resistenze campione B

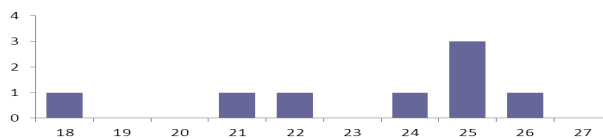
Ceftriaxone



Ciprofloxacin



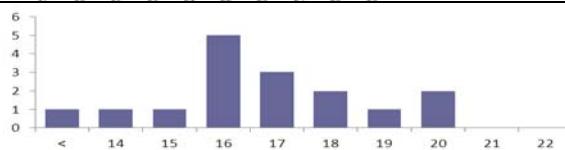
Ertapenem



Gentamicina



Imipenem



Nitrofurantoina

