

## Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2017-1

### Campione A: Infezione delle vie urinarie

**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie) + esame delle resistenze**

Il campione conteneva *Escherichia coli*, identificata da tutti i partecipanti. È l'agente più frequente delle infezioni non complesse delle vie urinarie. Il ceppo era sensibile a tutti gli antibiotici ad eccezione dei chinoloni.

Con questo campione si voleva segnalare che i breakpoints dei chinoloni sono stati accentuati in EUCAST 2017, i valori soglia degli aloni inibitori sono stati alzati per ciprofloxacina, ofloxacina e levofloxacina e in parallelo i valori soglia delle MIC sono stati abbassati. Probabilmente seguiranno altri aggiustamenti poiché le ECOFF dei chinoloni non sono in grado di distinguere correttamente il wildtyp di alcune specie di enterobatteriacee dai ceppi resistenti, e che in futuro ci saranno valori soglia propri per ogni specie, come già avviene in parte per gli stafilococchi (vedi campione B).

I cambiamenti riguardano anche la fosfomicina: per E-coli EUCAST permette dal 2017 anche la misura degli aloni inibitori e non deve necessariamente essere calcolata la MIC, questo vale però solo per E-coli in infezioni non complesse delle vie urinarie. Per tutte le altre enterobatteriacee va ancora determinata la MIC. Si prega di prestare attenzione alla lettura delle colonie su fosfomicina: forse non tutti sono consapevoli del fatto che, secondo EUCAST 2017, le colonie singole nell'alone inibitorio vanno ignorate e va letto solo l'alone esterno:



Questo spiegherebbe la variabilità di risultati inviatici per la fosfomicina. Abbiamo considerato corretti tutti i valori. Ricordiamo che nell'esame con fosfomicina deve essere presente il glucosio-6-fosfato, il disco di fosfomicina da 200 µg dovrebbe contenerne 50 µg.

#### Identificazione

*Escherichia coli*

#### Quantità

65

### Campione B: Infezione associata a catetere urinario

**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie) + esame delle resistenze**

Il campione conteneva *Staphylococcus epidermidis*, identificato senza difficoltà dalla maggioranza dei partecipanti. L'identificazione a livello della specie è divenuta importante, poiché da quest'anno EUCAST ha pubblicato per *S. epidermidis* specifici valori di aloni inibitori con cefoxitina. Nella versione EUCAST 7-0 del 1.1. 2017, un alone < 28 mm è considerato resistente e un alone ≥ 28 mm è considerato sensibile.

Nella versione seguente 7.1 del 10.3.2017 però sono stati abbassati nuovamente i valori soglia per la cefoxitina a 25 mm, come nel 2016. Jost et al., dell'Istituto di microbiologia medica, hanno dimostrato che in particolare i ceppi di *S. epidermidis* con aloni di cefoxitina di 25-28 mm possono essere anche resistenti a meticillina, e quindi positivi a mecA (Jost G, Bloemberg GV, Hombach M. Improved sensitivity for meticillin resistance detection in coagulase-negative staphylococci by moxalactam antibiotic discs or a cefoxitin investigation zone. J Med Microbiol. 2016 65:566-68).

Per gli altri stafilococchi coagulasi negativi il valore soglia di 25 mm era troppo alto, il corretto valore attuale è 22 mm come anche per *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* e *Staphylococcus*

*saprophyticus*. Se uno stafilococco coagulasi negativo non viene identificato a livello della specie, si considerano per gli aloni inibitori i valori soglia di *S. epidermidis*, che rappresenta lo stafilococco coagulasi negativo più frequente. Però, nella versione 7.0 del 1.1.2017 i valori suggeriti per stafilococchi coagulasi negativi non meglio identificate, erano di <22 mm per la resistenza e ≥ 25 per la sensibilità, con i valori intermedi (22-24 mm) da riportare come resistenti, salvo un'esclusione della presenza di mecA. Questo procedimento oggi non è più descritto. Il ceppo era resistente ad ampicillina, penicillina, clindamicina e tetraciclina, sensibile agli altri antibiotici testati. Non erano evidenti fenomeni di resistenza MLS. La resistenza a tetraciclina con test a dischetti prevede, secondo EUCAST, l'esame di un'eventuale sensibilità a doxiciclina mediante determinazione della MIC, mentre la sensibilità a tetraciclina può essere applicata a doxiciclina senza effettuare l'esame. Con una MIC di 1,5 mg/L per tetraciclina il ceppo era intermediario, ma è stato accettato anche il referto „sensibile“.

Attenzione: anche per *Staphylococcus* sp. sono stati aggiustati i valori soglia per gli aloni dei chinoloni. Già in precedenza le soglie per gli aloni di aminoglicosidi non erano uguali per stafilococchi coagulasi negativi e *S. aureus*, ora questa differenza si espande ai chinoloni; soprattutto per gli stafilococchi coagulasi negativi sono stati accentuati i valori soglia.

Gli stafilococchi coagulasi negativi sono spesso molto resistenti e richiedono l'impiego di daptomicina. Un'indicazione generale di daptomicina (MIC) ne favorisce però l'abuso. La daptomicina rimane un farmaco di riserva che non andrebbe prescritto in modo primario.

Identificazione	Quantità
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	61
<i>Staphylococcus coagulasi negativo</i>	2
Cocchi Gram positivi	1
Nessun risultato	1

#### **Campione C: Infezione**

**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie). Si prega di testare la resistenza a colistina**

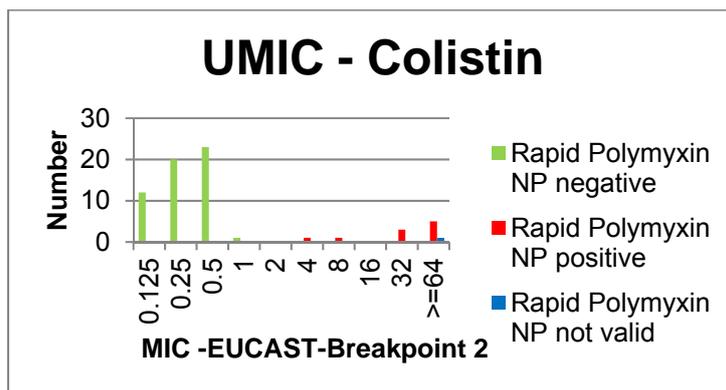
Il campione conteneva *Klebsiella pneumoniae*, identificata correttamente dalla maggioranza dei partecipanti. Contrariamente a *K. oxytoca*, *Kl. Pneumoniae* è indolo negativa. Vitek2, API20E, Bio (interno) e MALDI-TOF fornivano risultati corretti.

Si trattava di un ceppo multiresistente, con una carbapenemasi di classe A e tipo KPC. Gli accertamenti per ESBL e AmpC risultavano negativi. Abbiamo richiesto solo l'esame della resistenza a colistina. Ricordiamo che nei controlli di qualità esterni vengono spesso spediti anche batteri resistenti. Di regola queste enterobatteriacee resistenti sono classificate in Svizzera come Gruppo 2 e possono essere spedite con UN 3373, ma sono necessari dopo l'analisi uno corretto smaltimento o una sicura conservazione.

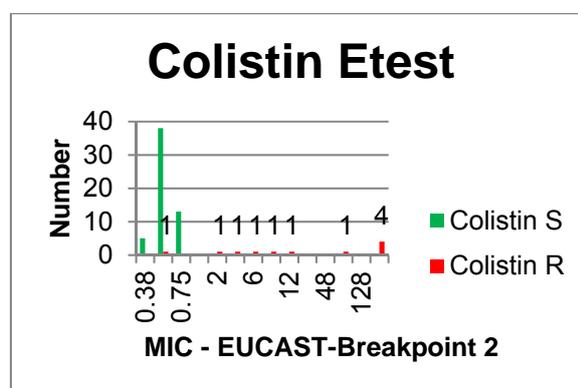
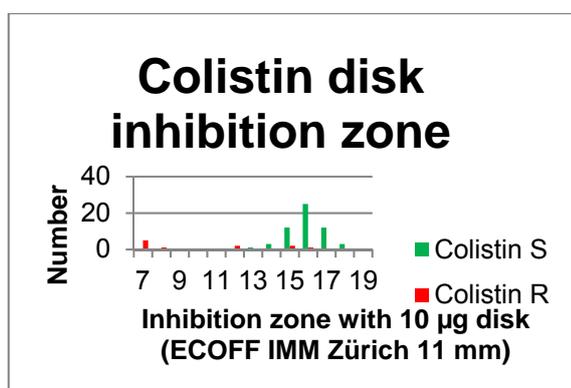
Nel'ambito di un lavoro di tesi della HöFa (S. Zryd) è stata testata con diversi metodi la resistenza a colistina in più di 50 specie di enterobatteriacee, in genere multiresistenti, alcune delle quali con una resistenza naturale, come *Serratia* sp. Nel test a dischetti di 10 µg di colistina (ECOFF interno applicato di 11mm, dati da diverse migliaia di ceppi di diverse specie) si sono ottenute false sensibilità in 5 batteri resistenti a colistina; con un test commerciale (ETEST) si otteneva solo una falsa sensibilità. Va però sottolineato che nessuno dei ceppi testati portava una resistenza plasmidica alla colistina.

Abbiamo adottato come riferimento un metodo di calcolo della MIC consigliato da EUCAST e un nuovo metodo rapido, che raggiungevano una corrispondenza del 100% (vedi grafici).

## Risultati del calcolo MIC di EUCAST e del metodo rapido



## Risultati con test a dischetti e con ETEST



In una terapia con colistina consigliamo vivamente di cercare eventuali resistenze con uno dei metodi di riferimento sopra menzionati (MIC o metodo rapido). In breve verrà pubblicata una comunicazione dell'UFSP a proposito della possibilità di far controllare tali ricerche presso il laboratorio di riferimento nazionale per il riconoscimento di nuove resistenze ad antibiotici (NARA). Il controllo di qualità per la colistina andrebbe effettuato secondo EUCAST con un ceppo sensibile (*Escherichia coli* ATCC 25922 o *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) e con un ceppo resistente (*E. coli* NCTC 13846, *mrc1* positivo).

Il ceppo di *K. pneumoniae* del campione era resistente a colistina (MIC 2-3 mg/L, limite a 2 mg/L).

Le MIC riportate erano di 0,5 mg/L (un caso), 1,5 mg/L (un caso), 2 mg/L (tre casi), 3 mg/L (sei casi) 4 mg/L (quattro casi) > 4mg/L (otto casi), ≥ 16 mg/L (nove casi, con Vitek).

Identificazione	Quantità
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i> resistente a colistina	38
<i>Klebsiella pneumoniae</i> sensibile a colistina	10
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
Bacilli Gram negativi	1
Nessun risultato	1

**Campione D: Morso**  
**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

*Eikenella corrodens* è un bacillo Gram negativo sottile, diritto e impegnativo in coltura (non cresce su agar McConkey), isolabile spesso da campioni provenienti dal tratto respiratorio superiore e dalla cavità boccale nell'Uomo e negli animali. Se infiltrato nel tessuto, per es. dopo un morso, *E. corrodens* può causare infezioni.

*E. corrodens* non forma acido dagli zuccheri, è positivo all'ossidasi ma negativo a indolo e catalasi, riduce il nitrato a nitrito e decarbossila l'ornitina e in genere anche la lisina. In molti ceppi, le colonie si infiltrano nell'agar e tendono a diffondere; non era però il caso del ceppo del campione. Avvicinando le colonie si libera un pigmento giallo. Su agar TSI la crescita è scarsa o nulla, anche con semina a becco di clarino o per infissione.

Il ceppo si identificava bene con CTA-Bio, MALDI-TOF e Api20E (!). Abbiamo pubblicato in passato che anche la scheda NH di Vitek2 permette un'eccellente identificazione (de Melo et al. BMC Microbiology 2013 13:162).

Identificazione	Quantità
<i>Eikenella corrodens</i>	60
<i>Pasteurella species</i>	1
Bacilli Gram negativi	2
Nessun risultato	2

**Campione E: Trapianto di polmone, fibrosi cistica**  
**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

È un bacillo Gram negativo della famiglia delle enterobatteriacee, molto simile a *Klebsiella pneumoniae*. Vitek 2 forniva l'identificazione di *R. planticola* con il 99% di probabilità. Api20E accennava a *R. planticola* ma identificava *K. pneumoniae* con una probabilità del 97,3% e un valore di T di 1.0. MALDI-TOF non era in grado di identificare la specie, poiché gli score di 2,17 (*R. planticola*) e 2,11 (*Raoultella ornithinolytica*) permettono solo il riferimento a *Raoultella* sp. La mancata decarbossilazione dell'ornitina esclude però *R. ornithinolytica*. Il nostro sequenziamento del gene dell'RNA 16S non permetteva di distinguere fra *R. planticola*, *R. ornithinolytica* e *Enterobacter aerogenes*. Questo campione dimostra che spesso solo la combinazione di diversi metodi permette l'identificazione.

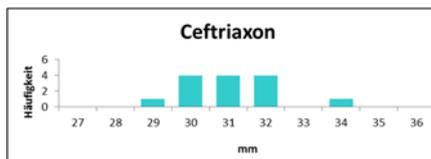
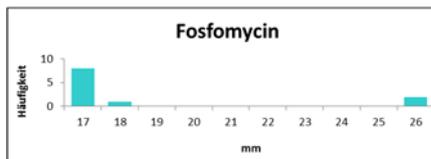
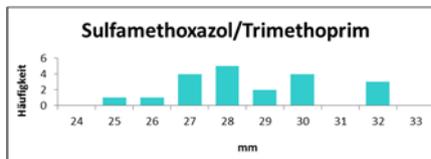
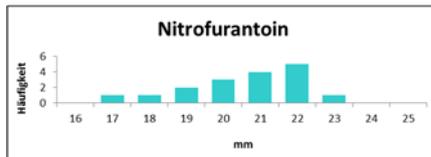
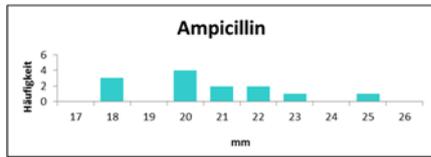
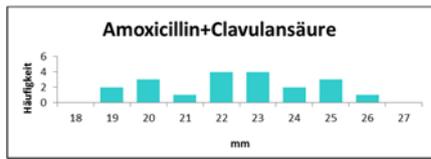
Identificazione	Quantità
<i>Raoultella planticola</i>	47
<i>Raoultella species</i>	2
<i>Raoultella ornithinolytica/planticola</i>	4
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
Bacilli Gram negativi	1
Nessun risultato	2

Distinti saluti

Prof. Dr. R. Zbinden

F.S. Hufschmid-Lim

## Esame delle resistenze del campione A



## Esame delle resistenze del campione B

