



Verein für **medizinische Qualitätskontrolle**
Association **pour le contrôle de Qualité medical**
Associazione **per il controllo di qualità medico**

Controllo circolare B9 microbiologia 2017-2

Campione A: Lesione / infezione da lesione inguinale

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

L'identificazione di *Staphylococcus lugdunensis* è riuscita a quasi tutti i partecipanti. Le colonie sono morfologicamente simili a quelle di *Staphylococcus aureus*. *S. lugdunensis* appartiene agli stafilococchi coagulasi-negativi, poiché non produce una coagulasi libera e il plasma in provetta risulta negativo. Possiede invece la proteina legante il fibrinogeno e può perciò reagire positivamente nei test rapidi per *S. aureus*, che identificano accanto alla proteina A anche la proteina legante il fibrinogeno (van Griethuysen A., M. Bes, J. Etienne, R. Zbinden, J. Kluytmans. 2001. International multicenter evaluation of latex agglutination tests for identification of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 39:86-89). Tipiche di *S. lugdunensis* sono le reazioni positive a ornitina-decarbossilasi (ODC) e PYR. Sia Vitek2 che MALDI-TOF identificano l'isolato correttamente.

Il ceppo era sensibile a tutti i comuni antibiotici. L'analisi della resistenza a meticillina con oxacillina può condurre a false resistenze, ma abitualmente negli stafilococchi si testa la resistenza a meticillina con i dischetti di cefoxitina. Alcuni partecipanti non hanno testato né cefoxitina né oxacillina. Questa scelta poteva essere giustificata tempo fa, quando da decenni in Svizzera non si era più riscontrato un *S. lugdunensis* resistente a meticillina, ma oramai sono stati registrati casi singoli di ceppi portanti il gene *mecA*. L'analisi della resistenza a cefoxitina è obbligatoria negli stafilococchi. Questa volta non abbiamo sottratto punti per la mancata analisi, perché la resistenza a meticillina in *S. lugdunensis* è ancora rara. Come già accennato nello scorso controllo circolare, i valori per gli aloni inibitori di cefoxitina negli stafilococchi coagulasi negativi sono cambiati. Il ceppo era sensibile a cefoxitina con un alone di 29 mm. La sensibilità a cefalosporine e ad antibiotici beta-lattamici può essere derivata dal risultato per la cefoxitina. Un'eccezione è rappresentata da ceftadizima, che non va prescritto in infezioni da stafilococchi; questa volta abbiamo considerato quest'analisi ugualmente valida.

Il ceppo era sensibile ad ampicillina e penicillina e formava aloni con bordo sfuocato (vedi foto tratta da EUCAST 7.1.2017). La commissione svizzera antibiogrammi propone però di osservare e valutare il bordo dell'alone di penicillina in tutti gli stafilococchi; in *Staphylococcus saprophyticus* andrebbe invece misurato l'alone di ampicillina, perché l'esperienza insegna che in questo batterio l'osservazione del bordo risulta difficile. Il test con cefinasi risultava negativo. Per ampicillina e penicillina non esistono zone intermedie, la beta-lattamasi può solo essere presente o assente. Per il risultato „intermediario“ non sono stati quindi elargiti punti.



Bordo sfuocato $\geq 26\text{mm}$

→ sensibile



Bordo nitido $\geq 26\text{mm}$

→ resistente

La norfloxacina serve, per la resistenza ai chinoloni, solo come orientamento: se l'analisi risulta sensibile, si può riportare sensibilità anche per levofloxacina, ofloxacina e moxifloxacina, se risulta resistente però vanno testati tutti i singoli antibiotici.

Identificazione	Quantità
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	61
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Nessun risultato	1

Campione B: secreto tracheale / infezione associata a ventilatore

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

Il campione conteneva *Serratia marcescens*, spesso associato a polmoniti originate da ventilatori. È un tipico germe ospedaliero che può causare anche diffusioni nosocomiali. Si distingue da *Serratia liquefaciens* per il metabolismo dello xilosio, di tipo ossidativo in *S. marcescens*. Api 20, Vitek 2 e ALDI-TOF forniscono una diagnosi corretta, il ceppo è stato identificato da quasi tutti i partecipanti.

L'esame delle resistenze dava un quadro tipico per *S. marcescens*: resistente ad augmentina, ampicillina, cefuroxima, cefoxitina e colistina; si tratta di resistenze intrinseche (EUCAST intrinsic resistance and exceptional phenotypes, Expert Rules version 3.1, 26 settembre 2016 pag. 4). Possiede una beta lattamasi di tipo AmpC. Una terapia con piperacillina/tazobactam o con cefalosporine può fallire nonostante la sensibilità in vitro. In casi di resistenza a cefalosporine di terza generazione e a piperacillina/tazobactam, una monoterapia con carbapenemi (con perdita di porine, visibile inizialmente con ertapenem) può condurre allo sviluppo di resistenze.

Per amicacina e tobramicina abbiamo accettato tutti i risultati. *S. marcescens* produce un enzima AAC(6')-Ic cromosomale, che riduce l'attività aminoglicosidica. Due eccezioni sono rappresentate da gentamicina e streptomina, le expert rules 2.00 del 2011 di EUCAST contengono un'informazione in proposito. EUCAST sta lavorando per meglio descrivere la questione degli aminoglicosidi.

Identificazione	Quantità
<i>Serratia marcescens</i>	60
<i>Burkholderia cepacia</i>	1
Bacilli Gram negativi	1
Nessun risultato	1

Campione C: Coltura ematica / infezione dopo intervento all'intestino

Requisiti: batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

La coltura ematica conteneva *Bacteroides fragilis*, il bacillo anaerobico Gram negativo isolato più frequentemente in laboratorio. È caratterizzato dalla capacità di crescita su terreni contenenti sali biliari (resistenza agli acidi biliari) e dalla positività al test di idrolisi dell'esculina. La reazione alla catalasi è positiva mentre quella all'indolo è negativa. *B. fragilis* è resistente a vancomicina (5µg), canamicina (1000µg) e colistina (10µg); queste resistenze diagnostiche indicano l'appartenenza al gruppo *B. fragilis*. Si ottiene una buona diagnosi sia con sistemi commerciali sia con MALDI-TOF.

B. fragilis è in genere sensibile ad augmentina e metronidazolo.

Identificazione	Quantità
<i>Bacteroides fragilis</i>	54
Gruppo <i>Bacteroides fragilis</i>	2
<i>Bacteroides species</i>	1
<i>Fusobacterium varium</i>	1
Bacilli Gram negativi	4
Nessun risultato	1

Campione D: feci/dissenteria

Requisiti: batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Il campione conteneva un ceppo di *Shigella sonnei* (shigella sierogruppo D). Le shigelle vengono isolate quasi sempre da campioni di feci, ma esistono anche numerosi riferimenti a batteriemie di shigelle, accompagnate o no da dissenteria, soprattutto in pazienti immunosoppressi (Scand J Infect Dis 2007; 39: 170-3).

Un'infezione di shigelle si riscontra in Svizzera solo in seguito a viaggi, un'eccezione è rappresentata dall'assunzione di acqua contaminata dopo la rottura di condutture. L'infezione da shigelle è evitabile applicando una buona igiene delle mani, dell'acqua potabile e del cibo, poiché i batteri vengono eliminati con le feci e trasmessi in modo diretto („fecale-orale“) o attraverso l'acqua potabile e l'alimentazione. Al contrario delle salmonelle, le shigelle necessitano di una carica bassa di circa 100 batteri per scatenare l'infezione. Per arginare il rischio di diffusione è quindi importante seguire rigorosamente le misure igieniche.

Le colonie sospette hanno le seguenti caratteristiche su agar XLD: mancato viraggio del colore del terreno da rosso a giallo, mancata colorazione nera delle colonie (H₂S negative), ossidasi negative. La negatività all'ureasi le distingue da *Proteus* spp., *Morganella* spp. e *Providencia* spp. La sospetta presenza di shigelle va confermata con metodi biochimici e sierologici. In particolare, la distinzione da ceppi enteroinvasivi di *Escherichia coli* può risultare difficile, perché geneticamente le shigelle non sono distinguibili da *E. coli*. La differenziazione mediante sequenziamento di RNA 16S non è sufficiente; come neanche il metodo MALDI-TOF che analizza soprattutto componenti ribosomali.

L'identificazione con Vitek 2 fornisce *Shigella sonnei* con una probabilità del 99%, Api 20E arriva al 68.8% con un valore T di 1.0 per *Shigella* species; entrambi i sistemi consigliano di confermare il risultato con test sierologici.

Identificazione	Quantità
<i>Shigella sonnei</i>	58
<i>Shigella species</i>	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1
<i>Bacillus species</i>	1
Nessun risultato	1

Campione E: urina getto intermedio/ infezione delle vie urinarie
Requisiti: batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Aerococcus sanguinicola, come anche *Aerococcus urinae*, può essere un agente di infezioni delle vie urinarie. Essendo entrambi resistenti a ciprofloxacina, nell'ambito di una tale terapia possono accumularsi, eventualmente diffondere in circolo e causare una sepsi o anche un'endocardite. Entrambi sono sensibili a penicillina/ampicillina e possono essere così distinti da *Aerococcus viridans*.

L'identificazione è riuscita alla maggior parte dei partecipanti. *A. sanguinicola* è un cocco Gram positivo organizzato in tetradi e catalasi negativo. È inoltre positivo a pirrolidonarilamidasi (PYR), beta-glucuronidasi (β -Gluc) e leucina-aminopeptidasi (LAP). *A. urinae* è invece PYR-negativo, β -Gluc positivo e LAP positivo; *A. viridans* è PYR positivo, β -Gluc negativo e LAP negativo.

Vitek 2 identifica il ceppo come *A. viridans*, perché *A. sanguinicola* non è ancora incluso nella banca dati. La sensibilità ad ampicillina indica una diagnosi sbagliata, perché *A. viridans* è resistente ad ampicillina. MALDI-TOF fornisce una diagnosi corretta..

Identificazione	Quantità
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	41
<i>Aerococcus urinae</i>	2
<i>Aerococcus viridans</i>	13
<i>Aerococcus species</i>	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Aerococcus sanguis</i>	1
Nessun risultato	1

Distinti saluti



Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Esame delle resistenze del campione A

Esame delle resistenze del campione B

