



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

Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2022-3

Campione A: Urina getto intermedio/infezione delle vie urinarie

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

Il ceppo di *Escherichia coli* del campione di urina è stato identificato correttamente da quasi tutti i partecipanti e possiede una Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) di tipo CTX-M. Nel 2020, più del 6% dei ceppi di *E.coli* nei pazienti ambulatoriali e stazionari del nostro Istituto presentava un'ESBL, in genere si trattava di beta-lattamasi CTX-M, che scinde particolarmente bene cefotaxima (CTX) ma non idrolizza ceftazidima. Con vari metodi si identificavano sinergie tra acido clavulanico o tazobactam con cefalosporine. Con il test di sinergia su agar Müller-Hinton si evidenziava una differenza di ≥ 5 mm fra i diametri degli aloni di ceftazidima con e senza acido clavulanico e di cefotaxima con e senza acido clavulanico. Sui piastre Müller-Hinton di routine si osservava l'immagine a tappo di spumante con amoxicillina+acido clavulanico/cefepime ed amoxicillina+acido clavulanico/ceftriaxone. Il meccanismo di resistenza è stato riportato correttamente da tutti i partecipanti. L'ESBL va indicata anche su tutti i referti, come sempre richiesto ai laboratori medici-microbiologici dalla Società Svizzera di Infettivologia.

Abbiamo accettato tutti i valori per amoxicillina/acido clavulanico. Invece non c'è motivo di riportare un alone sensibile a piperacillina /tazobactam come resistenza in presenza di ESBL CTX-M in *E.coli*, a meno che non si tratti di un'infezione critica. Con queste ESBL sussiste quasi sempre sensibilità a piperacillina/tazobactam ed è possibile trattare infezioni delle vie urinarie, anche urosepsi, dovute a *E.coli* con ESBL CTX-M, con questa combinazione di antibiotici. Se si indica resistenza, in clinica si opta subito per carbapenemi, rischiando inutilmente di favorire resistenze ai carbapenemi.

Il ceppo era inoltre resistente a tutte le cefalosporine testate ad eccezione di cefepime. Abbiamo accettato tutti i risultati per augmentina, cefepime, ceftazidima. Era anche resistente ai fluorochinoloni ed a trimetoprim/sulfametossazolo e sensibile a fosfomicina e nitrofurantoina, che vengono somministrate sempre più spesso; per questi due antibiotici EUCAST prevede restrizioni. Queste regole EUCAST vengono considerate nella valutazione degli esami delle resistenze in altre enterobatteriacee.

Identificazione	Quantità
<i>Escherichia coli</i>	56
<i>Escherichia hermannii</i>	1
<i>Escherichia coli/hermannii</i>	1

Campione B: Emocoltura/sepsi tardiva

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

L'emocoltura conteneva *Streptococcus agalactiae*, la cui diagnosi è riuscita a quasi tutti i partecipanti.

S. agalactiae agglutina con il gruppo B di Lancefield, è catalasi negativo e positivo a ippurato e CAMP. Con Maldi-TOF la diagnosi riusciva facilmente.

Come tutti i ceppi di *S. agalactiae*, anche questo era sensibile a penicillina, ampicillina e vancomicina. Gli streptococchi beta-emolizzanti non producono beta lattamasi, la somministrazione di inibitori della beta lattamasi non ha quindi rilevanza clinica. Non sussisteva resistenza ad eritromicina e clindamicina.

Dal 2020 EUCAST non pubblica più valori di sensibilità per la levofloxacina. Un alone <17 mm va interpretato come resistente, valori ≥ 17 mm vanno riportati come "I" (increased exposure,

cioè sensibili ad alte dosi). Il punteggio massimo si otteneva dunque con un "I" per levofloxacin. Con tetraciclina si otteneva una MIC di 32 mg/L e un diametro di 11mm, valori che indicano resistenza. Secondo EUCAST, in caso di screening negativo alla tetraciclina, si può indicare sensibilità a doxiciclina ed a minociclina, se invece lo screening risulta positivo, questi due antibiotici vanno testati singolarmente. Nel nostro caso con doxiciclina si otteneva una MIC di 8 mg/L che corrisponde a resistenza. L'alone di 22 mm con tigeciclina corrispondeva a sensibilità. Un'eventuale resistenza a tigeciclina implica una ripetizione sia dell'identificazione del ceppo sia dell'esame delle resistenze, poiché finora sono stati isolati solo pochi ceppi resistenti a tigeciclina.

Non esistono valori soglia per ciprofloxacina, gentamicina e fosfomicina, l'esame di resistenza a questi antibiotici è stata valutata come inadeguata e ha causato sottrazione di punti. La nitrofurantoina è accettabile per *S. agalactiae* solo in infezioni non complesse delle vie urinarie, quindi, trattandosi di emocoltura, è stata valutata altresì come inadeguata. Abbiamo accettato questa volta l'indicazione di sensibilità a sulfametossazolo/trimetoprim, ma nella pratica, in Paesi sviluppati la terapia con cotrimossazolo (Bactrim) non viene applicata nella sepsi tardiva.

Identificazione	Quantità
<i>Streptococcus agalactiae</i>	54
<i>Streptococcus durans</i>	2
Streptococchi beta emolitici di gruppo B	2

Campione C: Striscio profondo da lesione/ ferita purulenta al dito

Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Il campione prelevato da una ferita profonda e purulenta al dito conteneva *Staphylococcus lugdunensis*. Si tratta di uno stafilococco coagulasi negativo che non possiede coagulasi libera, quindi il plasma risulta negativo. E' invece presente il clumping factor, una proteina legante il fibrinogeno, come in *Staphylococcus aureus*. Con metodi commerciali e con MALDI-TOF l'identificazione riusciva facilmente, sono determinanti le reazioni positive a ornitina decarbossilasi ed a PYR.

S. lugdunensis deve il suo nome alla città di Lione (latini: Lugdunum), dove fu isolato la prima volta. Si tratta di un normale germe cutaneo che ricorre spesso nella zona inguinale e che può entrare in circolo, anche mediante interventi cardiologici attraverso l'arteria inguinale. In caso di batteriemia da *S. lugdunensis* è sempre necessario escludere un'endocardite, come nelle batteriemie da *S. aureus*.

Non era richiesta l'analisi delle resistenze. Il ceppo possedeva resistenza a penicillina e ampicillina e sensibilità "I" (increased exposure", sensibile a dosi elevate) a norfloxacina, da cui si deducevano le sensibilità a ciprofloxacina e levofloxacin.

Quest'anno EUCAST ha modificato i valori soglia per l'esame di cefoxitina in *S. lugdunensis*, che ora sono a ≥ 27 mm per sensibile e ≤ 26 mm per resistente, come in *Staphylococcus epidermidis*. L'ATU (Area of technical uncertainty) si trova a 27 mm, EUCAST offre una serie di possibili soluzioni per chiarire l'ATU (nella tabella dei valori limite sotto la voce "Incertezza tecnica"). Negli ultimi anni, EUCAST ha effettuato diverse revisioni dei breakpoint della cefoxitina negli stafilococchi, e probabilmente ne seguiranno altre. I primi ceppi di *S. lugdunensis* resistenti alla meticillina sono comparsi circa 5-10 anni fa, ma sono in aumento. È certamente sensato confermare la meticillino-resistenza di *S. lugdunensis* con ulteriori metodi (*mecA* - PCR, PBP2') quando si applica questa soglia elevata.

Identificazione	Quantità
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	56
<i>Staphylococcus xylosus</i>	2

Campione D: Emocoltura/paziente neutropenico**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

L'emocoltura conteneva *Capnocytophaga sputigena*, fastidioso bacillo gram negativo appartenente al genere *Capnocytophaga*. *C. sputigena* e altre specie di *Capnocytophaga* (un tempo chiamati DF-1) si isolano da setticemie o altre infezioni endogene in pazienti sia immunocompetenti che immunocompromessi, soprattutto neutropenici. Le specie *Capnocytophaga canimorsus* e *Capnocytophaga cynodegmi* (un tempo chiamati DF-2) sono associate invece a morsi di cani o gatti.

C. sputigena è ossidasi e catalasi negativo, diversamente da *C. canimorsus* e *C. cynodegmi*. Il ceppo del campione mostrava la tipica idrolisi dell'esculina e una resistenza a colistina. Nel Manual of Clinical Microbiology, ASM, 12th Edition, S. 656 e sgg. sono elencati criteri di identificazione dettagliati, ciononostante le diverse specie sono difficili da distinguere con metodi convenzionali. Per questo motivo, anche la diagnosi *Capnocytophaga* sp. ha ottenuto il punteggio massimo. L'identificazione con MALDI TOF riusciva bene con uno score di 2.49.

Nel quotidiano, l'identificazione del genere in caso di batteriemia in pazienti neutropenici è sufficiente, ma in alcune patologie è necessario il sequenziamento a livello della specie.

Identificazione	Quantità
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	48
<i>Capnocytophaga haemolytica</i>	1
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	1
<i>Capnocytophaga species</i>	3
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	1
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1
<i>Campylobacter jejuni</i>	2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1

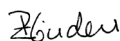
Campione E: Striscio da ferita/morso di gatto**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

Pasteurella dagmatis è un fastidioso bacillo gram negativo, catalasi e ossidasi positivo, che viene isolato da ferite dovute a morso di cane o gatto ma anche da infezioni sistemiche (polmonite, peritonite, setticemia o endocardite).

L'identificazione riusciva bene con MALDI-TOF; Api 20 NE identificava *Pasteurella multocida*, poiché *P. dagmatis* non è contenuto nella banca dati di Api 20 NE. La reazione positiva all'urease suggerisce però *P. dagmatis*. Il ceppo è inoltre negativo alla ornitindecarbossilasi. *P. multocida* è positiva all'ornitina, negativa all'ureasi.

Identificazione	Quantità
<i>Pasteurella dagmatis</i>	50
<i>Pasteurella multocida</i>	4
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	1
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	1

Distinti saluti

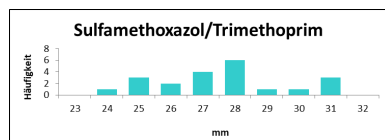
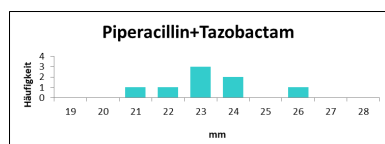
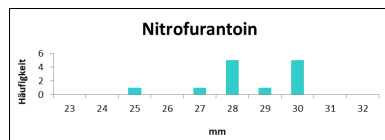
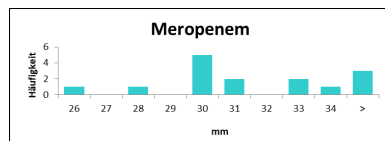
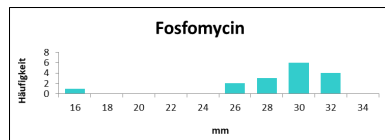
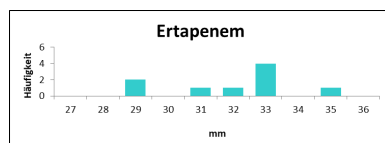
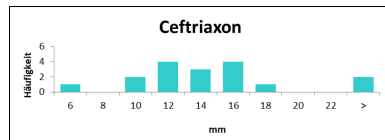
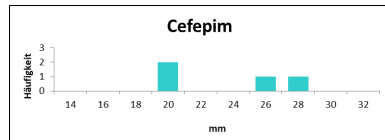


Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Esame delle resistenze del campione A



Esame delle resistenze del campione B

