



Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2023-3

Campione A: Urina getto intermedio/infezione delle vie urinarie

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

Il campione conteneva *Klebsiella oxytoca*, identificato senza problemi da tutti i partecipanti. Il ceppo del campione produceva beta lattamasi K1, si tratta di una sovrapproduzione della beta-lattamasi cromosomica di tipo OXY, specifica per *K. oxytoca* (Ambler classe A). Questo fenotipo è il risultato di una mutazione nel promotore del gene blaOXY e si osserva in circa il 10% di tutti gli isolati ospedalieri di *K. oxytoca*. Oltre all'amoxicillina-acido clavulanico, alla piperacillina-tazobactam, alla cefpodoxima e alla cefotaxima, le forme K1 sono resistenti anche al ceftriaxone e all'aztreonam; la resistenza alla cefepima può variare. Le forme K1 sono tipicamente sensibili al ceftazidime.

Tuttavia, la beta-lattamasi K1 NON deve essere confusa o equiparata ad una beta-lattamasi Extended-Spectrum (ESBL). L'indicazione "ESBL positivo" ha comportato perciò una detrazione di punti. per ottenere il punteggio massimo era necessario indicare "nessuna ESBL". Un'accertamento di ESBL in presenza di una beta-lattamasi K1 può creare problemi, poiché i test di sinergia con cefotaxime e cefepime possono risultare falsi positivi, ma non con ceftazidime (Potz, Livermore et al. False-positive extended-spectrum β -lactamase tests for *K. oxytoca* strains hyperproducing K1 β -lactamase; J Antimicrob Chemother. 2004;53(3)).

I seguenti antibiotici non sono stati valutati:

- Nitrofurantoina: poiché la nitrofurantoina secondo EUCAST è prevista solo per le infezioni non complesse delle vie urinarie (UTI) da *E. coli*, non è stata valutata come anche in controlli circolari precedenti. Il CLSI, invece, stabilisce limiti decisionali per tutti gli enterobatteri; si noti però che CLSI usa dischetti da 50 μ g mentre EUCAST usa dischetti da 100 μ g.
- Colistina: per la colistina è consentita solo la determinazione con il metodo della microdiluzione in brodo. Non abbiamo quindi valutato l'indicazione della colistina.
- Doxiciclina: non è stata valutata nemmeno doxiciclina, poiché EUCAST non prevede valori limite.
- Fosfomicina: i breakpoint per la fosfomicina orale sono definiti sia da EUCAST che da CLSI solo per le UTI non complesse da *E. coli*. I breakpoint per la fosfomicina endovenosa, invece, si applicano a tutti gli enterobatteri. Nelle nuove tabelle «EUCAST Breakpoint Tables» versione 13.1 (giugno 2023), sono definiti breakpoint PK-PD (non specie-specifici) per la fosfomicina orale, ma solo per le UTI non complesse e per le MIC.

Identificazione	Quantità
<i>Klebsiella oxytoca</i>	54
<i>Klebsiella oxytoca</i> complesso	1

Campione B: Agoaspirato da ascesso epatico / colangite

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

Enterococcus faecium fa parte della flora intestinale fisiologica di uomini e animali; l'isolato del campione proveniva da un agoaspirato di ascesso epatico in corso di colangite.

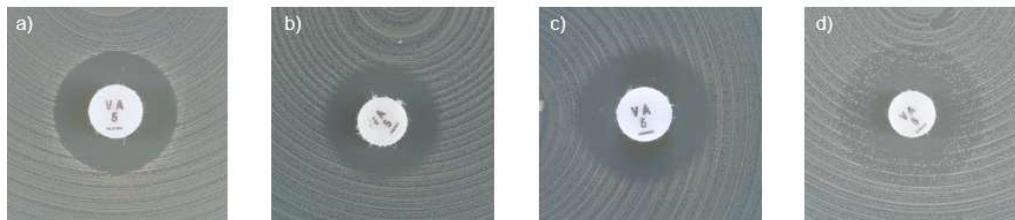
Enterococcus spp. è uno dei batteri Gram-positivi più frequentemente isolati dal liquido biliare di pazienti con colangite acuta. Si tratta di un'infezione batterica potenzialmente pericolosa per la vita, che può rapidamente progredire in una sepsi e per la quale è essenziale un trattamento antimicrobico tempestivo.

Il ceppo del campione era un enterococco resistente alla vancomicina (VRE). Il gene *vanB* era rilevabile con PCR; sia *vanA* che *vanB* sono plasmidici e possono essere trasferiti ad altri ceppi. Sono quindi di grande importanza per l'igiene ospedaliera.

Se la zona di inibizione con vancomicina è sfumata, è necessario escludere la VRE mediante la biologia molecolare oppure segnalare la vancomicina come "resistente".

Nelle linee guida EUCAST si trova il seguente aiuto interpretativo su questo argomento:

(EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.1, valid from 2023-06-29)



b) bordo dell'alone nitido e diametro ≥ 12 mm. -> segnalare come "sensibile".

b-d) bordo dell'alone sfumato o colonie nella zona di inibizione: confermare mediante PCR o segnalare come "resistente" anche se il diametro è ≥ 12 mm.

Per ottenere il punteggio massimo era necessario menzionare la VRE.

I seguenti antibiotici non sono stati valutati:

- Clindamicina: nonostante gli isolati di *E. faecium* appaiano sensibili alla clindamicina in vitro, il beneficio terapeutico del farmaco in questa specie non è noto. Pertanto, si deve segnalare resistenza o non segnalare alcun risultato.
- L'indicazione di una resistenza a MLSe non è applicabile e quindi non è stata valutata.
- L'oxacillina non è applicabile alle specie di *Enterococcus* e pertanto non è stata valutata.

La gentamicina viene utilizzata per lo screening della resistenza di alto livello (HLR) negli enterococchi. Nel referto di laboratorio, l'indicazione di resistenza di alto livello deve essere assolutamente riportata per gli enterococchi. Anche l'indicazione di sensibilità a gentamicina senza riferimento a HL è stata considerata corretta.

Per il sulfametossazolo/trimetoprim è definito solo l'ECOFF per gli enterococchi. Non esistono valori limite perché l'attività contro gli enterococchi non è chiara e i risultati clinici sono imprevedibili. L'ECOFF può solo distinguere tra wild-type e non-wild-type. Abbiamo accettato l'indicazione di resistenza.

Identificazione	Quantità
<i>Enterococcus faecium</i>	54
<i>Enterococcus species</i>	1

Campione C: Catarro/ fibrosi cistica

Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Il complesso *Burkholderia cepacia*, in breve BCC, è composto da oltre una dozzina di specie diverse, tra cui il *Burkholderia cenocepacia* isolato da questo campione.

Si tratta di bacilli Gram-negativi non fermentanti, considerati patogeni facoltativi. Sono particolarmente temuti nei pazienti con fibrosi cistica come patogeni di infezioni polmonari, il cui decorso clinico può variare dallo stato asintomatico alla forma più grave, la cosiddetta sindrome di Cepacia. La sindrome di Cepacia è una grave malattia respiratoria progressiva associata ad un drastico deterioramento della funzione polmonare ed a batteriemia, che può essere fatale. È stata descritta per la prima volta a Toronto nel 1980/81 durante un'epidemia tra i pazienti affetti da fibrosi cistica ed è causata in genere dalle specie *B. cenocepacia* e *B. multivorans*. I pazienti infettati da *B. cenocepacia* hanno anche una prognosi significativamente peggiore (mortalità più elevata) dopo il trapianto di polmone.

Tutte le specie del genere *Burkholderia* sono distribuite in modo ubiquitario. Si trovano nell'acqua, nel suolo e sulle piante. *B. cenocepacia* è resistente ad alcuni disinfettanti e antisettici e può sopravvivere per periodi prolungati sulle superfici, compresa la pelle umana e le superfici mucose.

Le specie BCC sono resistenti a molti antibiotici comuni e in genere sensibili alla ceftazidima e al cotrimoxazolo, mentre la sensibilità ai carbapenemi è variabile. Possiedono una resistenza intrinseca alla colistina e agli aminoglicosidi. EUCAST non prevede valori limite per i test di resistenza, si fa riferimento al documento BCC_susceptibility_testing_130719.pdf (eucast.org).

Con MALDI-TOF MS non si ottiene una buona diversificazione delle diverse specie all'interno del complesso, per la quale si deve ricorrere al sequenziamento del gene *recA*.

B. cenocepacia non è compreso nel database di Api20NE.

Identificazione	Quantità
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	22
<i>Burkholderia cepacia</i> complesso	23
<i>Burkholderia cepacia</i> group	5
<i>Burkholderia cepacia</i>	4
<i>Burkholderia</i> species	1

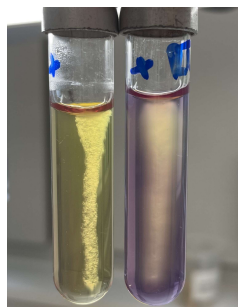
Campione D: Liquor / meningite purulenta in un neonato
Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Dal campione è stato isolato *Listeria monocytogenes*; l'identificazione è riuscita a quasi tutti i partecipanti. Le specie di *Listeria* sono molto diffuse nell'ambiente. *L. monocytogenes* è stato isolato da numerosi mammiferi, uccelli, pesci, crostacei e insetti, ma il suo habitat principale è il suolo e il materiale vegetale in decomposizione.

A causa della sua ampia diffusione, *L. monocytogenes* ha molte opportunità di contaminare la catena alimentare e causare infezioni nell'uomo. Ciò è favorito dalla sua capacità di riproduzione a 4°C (psicrofila).

Gli alimenti di origine animale (ad esempio carne e salsicce, pesce, latte crudo e prodotti caseari, in particolare il formaggio), ma anche quelli vegetali (ad esempio insalate pretagliate) sono possibili fonti di infezione, che si sviluppa in malattia soprattutto in persone con un sistema immunitario indebolito, donne in gravidanza, neonati e anziani. Infezioni contratte durante la gravidanza possono contagiare il neonato.

Test di mobilità nella provetta ODC (ornitina decarbossilasi)



Sinistra:

Motilità negativa (assenza di torbidità e linea di inoculo chiaramente visibile) dopo 24 ore di incubazione a 37°C senza CO₂.

Destra:

Motilità positiva (torbidità visibile nella provetta) dopo 24 ore di incubazione a temperatura ambiente.

L'isolato del campione era costituito da bacilli Gram-positivi, che crescevano in colonie lattiginose con leggera emolisi su agar sangue di pecora. Erano positivi alla catalasi, mobili a 22°C e positivi a CAMP, caratteristica tipica di *L. monocytogenes*. MALDI-TOF, Api Coryne e CTA-Bio identificavano *L. monocytogenes*. Secondo la tipizzazione, si tratta di *L. monocytogenes* 1/2a. a distinzione da *L. innocua* in MALDI-TOF a volte presenta problemi; *L. innocua* si distingue da *L. monocytogenes* in quanto CAMP-negativa e non beta-emolizzante.

Tutte le cefalosporine presentano un gap di efficacia nei confronti di *Listeria*. Per questo motivo, in presenza di meningite in pazienti immunosoppressi o con fattori di rischio, è necessario somministrare un antibiotico attivo contro le listerie (come l'ampicillina) in aggiunta al ceftriaxone nella terapia iniziale.

Il rilevamento di *Listeria monocytogenes* deve essere segnalato e gli isolati devono essere trasmessi al centro di riferimento designato dall'UFSP.

Identificazione	Quantità
<i>Listeria monocytogenes</i>	52
<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>	1
<i>Listeria species</i>	2

Campione E: Coltura ematica/batteriemia in paziente immunosoppresso
Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Roseomonas mucosa è un bacillo Gram-negativo, ossidasi-positivo, comune nell'ambiente e raramente isolato da campioni clinici. Sebbene il germe abbia una bassa virulenza, può causare gravi infezioni sistemiche, soprattutto in pazienti con malattie di base o immunosoppressione.

Il nome *Roseomonas* deriva dal pigmento rosa che si sviluppa su agar sangue di pecora. Il nome della specie deriva dal latino *mucosa* (viscido) e si riferisce alle colonie viscide, quasi liquide, la cui crescita è visibile solo dopo un'incubazione prolungata (dal secondo-terzo giorno).

Nei test di resistenza, *R. mucosa* è sensibile soprattutto agli aminoglicosidi, ai chinoloni e ai carbapenemi.

L'identificazione con MALDI-TOF MS riesce bene, ma *R. mucosa* non è compresa nel database di Api20NE.

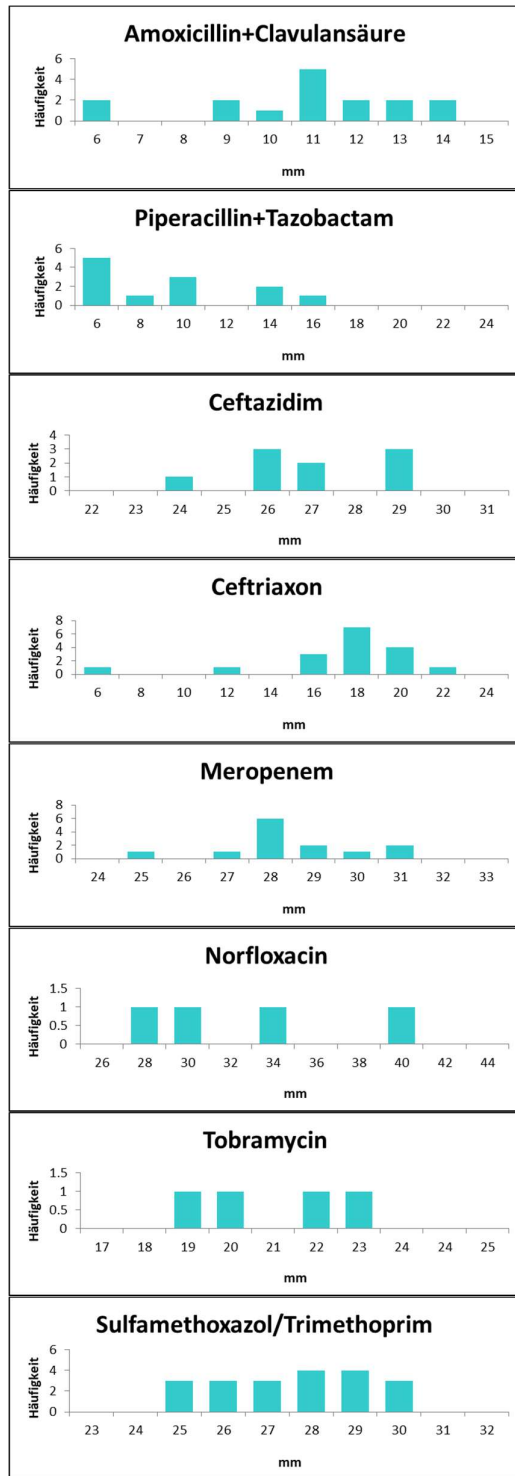
Identificazione	Quantità
<i>Roseomonas mucosa</i>	39
<i>Roseomonas gilardii</i>	7
<i>Roseomonas gilardii subsp. rosea</i>	1
<i>Roseomonas gilardi/mucosa</i>	2
<i>Roseomonas species</i>	2
<i>Ralstonia pickettii</i>	1
<i>Rhizobium radiobacter</i>	1
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1
Diplococchi gram negativi	1

Distinti saluti

Dr. med. vet., PhD V. Hinić

F.S. Hufschmid-Lim

Esame delle resistenze del campione A



Esame delle resistenze del campione B

