



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

Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2024-1

Campione A: Urina getto intermedio / infezione delle vie urinarie

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

Il campione conteneva *Escherichia coli*, l'agente più comune delle infezioni urinarie non complesse, ed è stato identificato da tutti i partecipanti. Il ceppo possedeva una carbapenemasi di classe D del tipo OXA-48-like.

OXA-48 fu scoperto la prima volta in Turchia nel 2001, prima che si diffondesse attraverso i Paesi mediterranei fino all'Europa occidentale. La particolarità di questa carbapenemasi è l'attività idrolitica più debole rispetto alle carbapenemasi di tipo KPC e NDM. Esistono numerose varianti di OXA-48 dovute a diverse mutazioni puntiformi.

La variante del ceppo del campione era OXA-244. In una comunicazione del 29 ottobre 2019, il Centro di riferimento nazionale per l'individuazione precoce di nuove resistenze ad antibiotici (NARA) ha avvertito che a partire dall'inizio del 2019 si era osservato un aumento del numero di *E.coli* produttori OXA-244 in diverse parti della Svizzera. OXA-244 ha un'attività di carbapenemasi ancora più debole di OXA-48, cosa che ne rende difficile l'identificazione in laboratorio.

Sebbene una gran parte degli isolati OXA-48-like esprimano una ESBL di tipo CTX-M, il ceppo del campione non possedeva ESBL. Nei test tradizionali il ceppo risultava resistente a tutte le penicilline (anche in combinazione con inibitori della β -lattamasi), sensibile a cefalosporine, resistente ad ertapenem ma sensibile ad imipenem e meropenem. Le resistenze a piperacillina-tazobactam ed a temocillina sono marker surrogati ed altamente sensibili di una presenza di OXA-48-like, ma anche poco specifici, perché anche altri meccanismi possono portare a queste resistenze. Anche se OXA-244 idrolizza meno la temocillina in confronto a OXA-48, il ceppo era chiaramente resistente a temocillina. La variante era facilmente identificabile con test rapidi basati su antigeni, come per esempio quello di NG Biotech.

Nonostante si trattasse di un ceppo difficile, quasi tutti i partecipanti (49/54) hanno supposto o confermato la presenza di carbapenemasi.

Per ulteriori informazioni rimandiamo ai documenti: "EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance; Version 2.0; July 2017" e "Carbapenemase OXA-244 in *E. coli* in Switzerland; Prof. Patrice Nordmann, Dr. Julie Kessler, Dr. Laurent Poirel; NARA Warning, 29.10.2019".

Identificazione	Quantità
<i>Escherichia coli</i>	54

Campione B: Striscio superficiale da lesione / ascesso mammario

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

Da questa lesione superficiale da ascesso mammario si isolava *Staphylococcus lugdunensis*. L'identificazione non ha presentato difficoltà ai partecipanti che hanno utilizzato un MS MALDI-TOF. *S. lugdunensis* appartiene al gruppo degli stafilococchi coagulasi negativi (SCN). Per l'identificazione fenotipica sono determinanti l'ornitina decarbossilasi e la reazione PYR, entrambe positive.

Il nome *S. lugdunensis* deriva dalla città di Lione, in latino «Lugdunum», dove è stato descritto per la prima volta. Sebbene appartenente alla flora cutanea, *S. lugdunensis* è particolare fra gli SCN, in quanto, a causa di diversi fattori di virulenza, esso causa infezioni più simili a quelle da *S. aureus* che a quelle di altri SCN. Ciò nonostante, in una minireview di Argemi et al. del 2017 in *J Clin Microbiol.* 2017 Nov;55(11):3167-3174 dal titolo «Is *Staphylococcus lugdunensis*

Significant in Clinical Samples?» viene messa nuovamente in discussione la rilevanza clinica di *S. lugdunensis*. Gli autori suggeriscono che *S. lugdunensis*, in coltura pura da campioni profondi come emocolture o agoaspirati di ossa o articolazioni, deva essere considerato patogeno fino a quando non viene confermata un'altra diagnosi, anche nel caso in cui solo un campione risulti positivo. Consigliano però prudenza nell'interpretazione di singoli campioni provenienti dalla cute, tessuti molli o tipiche aree di colonizzazione di questo battere (inguine, ascelle e zona nasale). In questi casi devono risultare positivi almeno due campioni per considerare *S. lugdunensis* come clinicamente rilevante.

Il ceppo del campione era meticillina resistente (MRSL), come riconosciuto da tutti i partecipanti. In seguito a questa resistenza, tutti i beta lattamici sono da considerare resistenti. Non trattandosi di *S. aureus*, il meccanismo MRSA non è stato valutato. Gli isolati MRSL vengono descritti sempre più spesso in campioni di routine.

Per ciprofloxacina e lefloxacina sussisteva sensibilità ad alte dosi («I»), il risultato «sensibile» ha ottenuto metà del punteggio. Non abbiamo valutato le analisi di fosfomicina e ofloxacina, perché secondo EUCAST questi antibiotici non vanno testati negli stafilococchi. L'analisi di nitrofurantoina non è stata valutata perché secondo EUCAST è prevista solo per infezioni non complesse delle vie urinarie e per *S. saprophyticus*.

Identificazione	Quantità
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	46
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4
<i>Staphylococcus hominis</i>	1
<i>Staphylococcus coagulasi negativo</i>	2
<i>Staphylococcus species</i>	1

Campione C: Striscio congiuntivale / congiuntivite

Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Haemophilus influenzae è un bacillo gram negativo e ossidasi positivo. Le specie di *Haemophilus* sono considerate agenti pericolosi, perché necessitano dei fattori di crescita X (emina) e V (NAD) degli eritrociti. In coltura crescono solo se il medio è stato riscaldato fino a lisare gli eritrociti e liberare il fattore V in quantità necessaria, come nell'agar cioccolato. Su agar sangue ovino crescono in vicinanza di *Staphylococcus aureus*, che rilascia il fattore V nell'ambiente (effetto nutrice).

Il ceppo si identificava facilmente usando Api NH o MS MALDI-TOF.

L'habitat di *Haemophilus* spp. è nelle mucose del tratto respiratorio superiore, compresa la cavità boccale. *H. influenzae* può causare diverse patologie, da leggere a gravi, per esempio l'otite media, la sinusite, polmoniti, epiglottiti, meningiti e sepsi. Infezioni invasive ed acute, come la meningite purulenta e le sepsi, vengono causate esclusivamente dal tipo b, provvisto di capsula. L'introduzione di un vaccino specifico contro il tipo b ha ridotto notevolmente questo tipo di infezioni.

Identificazione	Quantità
<i>Haemophilus influenzae</i>	52
<i>Haemophilus influenzae</i> biotipo III	1
Nessuna crescita	1

Campione D: Striscio vaginale /vagini batterica**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

Il campione conteneva patogeni del genere *Gardnerella*, e più precisamente *Gardnerella swidsinskii* (Fig. 1).

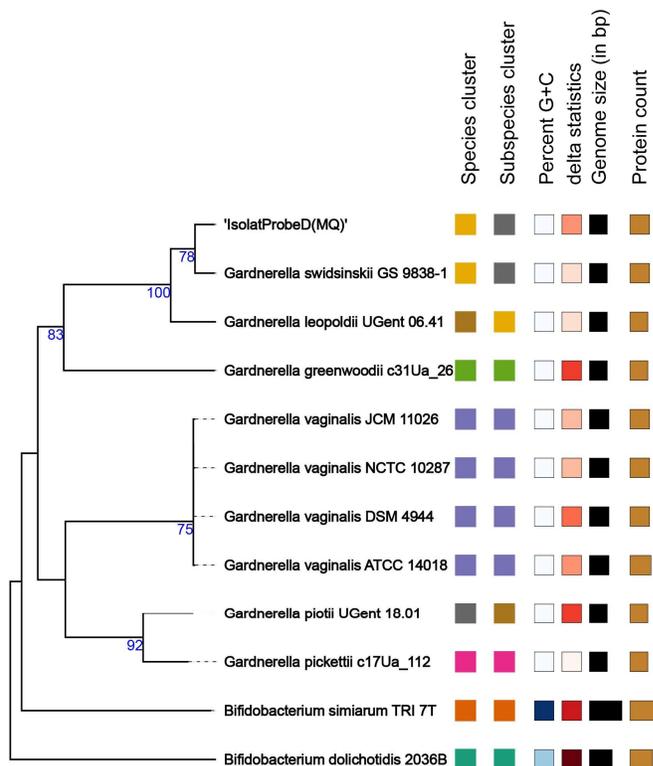
L'unica specie del genere *Gardnerella* finora descritta era *G. vaginalis*. Recenti sviluppi in genetica molecolare hanno rivelato la diversità del genere e permesso, nel 2019, la descrizione di nuove specie: *Gardnerella leopoldii*, *Gardnerella pottii* e *Gardnerella swidsinskii* (Vanechoutte M. et al.; Int J Syst Evol Microbiol. 2019 Mar;69(3):679-687). Nel 2023 sono state inoltre descritte anche le specie *G. greenwoodii* e *G. pickettii* (Sousa et al.; Int J Syst Evol Microbiol 2023; 73:6140).

Si tratta di bacilli gram positivi, che appaiono come gram labili a causa di una parete cellulare relativamente sottile. *G.vaginalis* è noto come agente principale della vaginosi batterica, cresce su agar sangue ovino, ma solo su agar sangue umano si rende evidente l'emolisi. La reazione alla catalasi è negativa, all'idrolisi dell'ippurato positiva. L'identificazione con MS MALDI-TOF Bruker dava *G. leopoldii_swidsinskii*, con una buona distinzione da *G. vaginalis*, in colonie cresciute per 48 ore.

È oggetto di discussione se le nuove specie di *Gardnerella* abbiano virulenze diverse. Ci sono indizi di una prevalenza maggiore di *G. vaginalis* e *G. pottii*, rispetto a *G. leopoldii* e *G. swidsinskii*, nelle vaginosi batteriche, e si pone la questione se in futuro possa risultare utile determinare con precisione la specie per indagare questa ipotesi.

Abbiamo valutato con punteggio massimo le diagnosi *G. vaginalis*, complesso *G. vaginalis* e *G. leopoldii/swidsinskii*.

Fig. 1: L'analisi di ibridazione digitale DNA-DNA eseguita con il database TYGS mostra l'identificazione dell'isolato come *G. swidsinskii*.



Identificazione	Quantità
<i>Gardnerella swidsinskii</i>	1
<i>Gardnerella leopoldii/swidsinskii</i>	16
<i>Gardnerella leopoldii</i>	2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	31
Complesso <i>Gardnerella vaginalis</i>	1
<i>Gardnerella</i> species	1
<i>Enterobacterie</i> species	1
Nessuna crescita	1

Campione E: Secreto tracheale/ polmonite ab ingestis
Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Lo *Streptococcus pseudopneumoniae* contenuto in questo campione è stato descritto per la prima volta nel 2004 (Arbique et al.; J Clin Microbiol 2004; 42: 4686-4696).

Come membro del gruppo *S. mitis*, *S. pseudopneumoniae* occupa una posizione intermedia fra *S. pneumoniae*, più virulento, e *S. mitis*, meno virulento. Nonostante sia geneticamente molto simile a *S. pneumoniae*, in *S. pseudopneumoniae* mancano certi fattori di virulenza, come la capsula e la pneumolisina.

L'isolamento di *S. pseudopneumoniae* da campioni del tratto respiratorio non ha in genere importanza clinica. È stato descritto come agente opportunistico in pazienti con condizioni sottostanti croniche, come COPD o fibrosi cistica. Ha invece rilevanza nel contesto di polmoniti ab ingestis, in casi singoli è stato identificato anche in setticemie.

Alcune caratteristiche fenotipiche distinguono *S. pseudopneumoniae* da *S. pneumoniae*: la mancata formazione di capsule, nessuna solubilità biliare, l'alone di inibizione con optichina, che a 37°C e 5% CO₂ è < 14 mm, mentre a 37°C senza CO₂ misura >14 mm. Nei test basati su antigeni sono state descritte reazioni crociate con *S. pseudopneumoniae*.

MS MALDI-TOF fornisce ancora risultati misti con *S. pneumoniae* e *S. mitis*, entrambi con uno score superiore a 2.0, che rende necessarie ulteriori analisi; la distinzione dagli pneumococchi è invece diventata più affidabile negli ultimi anni grazie a nuovi aggiornamenti della banca dati.

Identificazione	Quantità
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	44
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Streptococcus constellatus</i> ssp. <i>pharyngis</i>	1
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	1
Gruppo <i>Streptococcus viridans</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	1
Flora orofaringea	1
Nessun risultato	2

Distinti saluti



Dr. med. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Valutazione dell'esame delle resistenze:**Campione A: *Escherichia coli***

Antibiotico	Valore bersaglio	S	I	R	Antibiotico	Valore bersaglio	S	I	R
Amikacina	S	6			Doxiciclina	NB			1
Amoxicillina-acido clavulanico	R			39	Ertapenem	R		1	26
Ampicillina	R			17	Fosfomicina	S	33		1
Aztreonam	NB	1			Gentamicina	S	12		
Cefalotina	NB			1	Imipenem	S/I/R	13	1	2
Cefepima	S	10			Levofloxacina	R			7
Cefotaxima	S/I	3	1		Meropenem	S/I	18	1	
Cefoxitina	NB	5		1	Nitrofurantoina	S	42		
Cefpodoxima	S	4		1	Norfloxacina	R			9
Ceftazidima	S	11			Ofloxacina	R			1
Ceftazidima-Avibactam	S	3			Pefloxacina	R			1
Ceftriaxone	S	25			Piperacillin-Tazobactam	R			20
Cefuroxima axetil	S/R	2		8	Sulfametossazolo-Trimetoprim	R			48
Cefuroxima parenterale	R			5	Tetraciclina	NB			2
Ciprofloxacina	R			44	Tigeciclina	S	1		
Colistina	NB	1		1	Tobramicina	S	10		

Meccansimo di resistenza	Valore bersaglio	Sì	No	Nessun risultato
ESBL	no	0	52	2
AmpC	no	1	48	5
Carbapenemasi	sì**	49	4	1

Valore raggiunto

mezzo punteggio

Detrazione punti

non valutato (NB)

Valori in tabella = Quantità di partecipanti che hanno fornito quella risposta

**deve essere riportato

Valutazione dell'esame delle resistenze:**Campione B: *Staphylococcus lugdunensis***

Antibiotico	Valore bersaglio	S	I	R	Antibiotico	Valore bersaglio	S	I	R
Amikacina	S	1			Imipenem	R	1		2
Amoxicillina-acido clavulanico	R	1		22	Levofloxacina	I	2	19	
Ampicillina	R	1		5	Linezolid	S	9		
Azitromicina	S	2			Moxifloxacina	S	4		
Cefalotina	R			1	Nitrofurantoina	NB	2		
Cefoxitina	R			32	Norfloxacina	S	2		
Ceftriaxone	R			4	Ofloxacina	R			1
Cefuroxima axetil	R			1	Oxaxillina	R			19
Cefuroxima parenterale	R			1	Penicillina	R		1	25
Ciprofloxacina	I	1	14		Piperacillina-Tazobactam	R			1
Clarithromycin	S	2			Rifampicina	S	15		1
Clindamicina	S	48			Sulfametossazolo-Trimetoprim	S	43		
Daptomicina	S	5			Teicoplanina	S	10		
Doxiciclina	S	3			Tetraciclina	S	20		
Eritromicina	S	27			Tigeciclina	S	3		
Fosfomicina	NB	2			Tobramicina	S	4		
Acido Fusidico	S	12			Vancomicina	S	36		
Gentamicina	S	12							

Meccansimo di resistenza	Valore bersaglio (MRSL)	Sì	No	Nessun risultato
MRSA		11	29	14
MLS _B (inducibile)	no	0	50	4
VRE	--			
Gentamicina high-level	--			

Valore raggiunto

mezzo punteggio

Detrazione punti

non valutato (NB)

Valori in tabella = Quantità di partecipanti che hanno fornito quella risposta

* *deve essere riportato