



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

Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2016-2

Campione A: Infezione delle vie urinarie da catetere fisso

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

Il campione conteneva *Proteus vulgaris*, identificato da quasi tutti i partecipanti. Il ceppo si mostrava con tipiche colonie sciamanti su agar sangue di pecora e si identificava senza problemi con Api 20E, Vitek2, Bio (proprio) e MALDI-TOF. Al contrario di *P. vulgaris*, *Proteus penneri* è negativo all'indolo.

L'esame delle resistenze non ha portato sorprese. Il ceppo era molto sensibile. *P. vulgaris* ha una resistenza intrinseca ad ampicillina, cefuroxima, nitrofurantoina e tetraciclina, anche se il test in vitro rivela sensibilità, per questi antibiotici va riportata resistenza. Una rassegna delle resistenze naturali (intrinseche) nelle enterobatteriacee si trova nella tabella 1 delle Expert Rules di EUCAST (Leclerc et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Infect 2013; 19: 141-160). Per fosfomicina sussisteva sensibilità. Per questo antibiotico EUCAST richiede la MIC, la valutazione degli aloni inibitori è però in preparazione. In futuro si prega di testare nitrofurantoina e fosfomicina nelle enterobatteriacee solo se EUCAST, o eventualmente CLSI, lo prevedono nelle linee guida per la specie isolata; in caso contrario il test in questione verrà ignorato, e i punti totali potranno non essere sufficienti per la mancanza di uno dei due test aggiuntivi oltre al minimo richiesto di sei.

P. vulgaris era considerato in passato, anche all'Istituto di microbiologia medica di Zurigo, come battere AmpC. Possiede una beta lattamasi inducibile di classe A e una cefuroximasasi, che lo rende sempre resistente a cefuroxima. L'inducibilità è regolata in modo analogo alla AmpC cromosomale di *Enterobacter cloacae* (Datz et al. A common system controls the induction of very different genes. The class-A beta-lactamase of *Proteus vulgaris* and the enterobacterial class-C beta-lactamase. Eur J Biochem 1994; 226:149-157) L'acido clavulanico inibisce la beta – lattamasi di *P. vulgaris*; il ceppo era sensibile a ceftioxina e amoxicillina/acido clavulanico.

Per quest'ultimo abbiamo considerato valide tutte le risposte. Nelle specie di *Proteus* è frequente una resistenza low level a imipenem, pertanto anche la risposta „intermediario“ ha ottenuto il punteggio massimo.

	Quantità
<i>Proteus vulgaris</i>	62
<i>Proteus vulgaris/penneri</i>	1
<i>Providencia stuartii</i>	1
Bacilli gram negativi	1

Campione B: Espettorato da polmonite**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie) + esame delle resistenze**

Il campione conteneva un ceppo di *Streptococcus pneumoniae*, che forma colonie catalasi negative, viridanti e viscidie su agar sangue di pecora. L'alone di resistenza con optochina era >14 mm, la solubilità biliare positiva. La diagnosi è stata posta correttamente da quasi tutti i partecipanti.

Per il test di diffusione su agar con gli pneumococchi vanno usati dischetti da 1 µg di oxacillina, perchè non esistono test a dischetti affidabili con penicillina, cefalosporine e carbapenemi. Una zona di inibizione ≥ 20 mm con dischetti di oxacillina è correlata a sensibilità a penicillina, ceftriaxone, cefotaxima e cefuroxima. In questo caso, l'alone era di 25 mm. Come conferma possono essere determinate le MIC, che secondo EUCAST sono da interpretare come segue:

Penicillina:

Non meningite:	E: ≤ 2 (secondo la dose)	R: > 2 mg/L
Meningite:	E: ≤ 0.06	R: > 0.06 mg/L

Ceftriaxone:	E: ≤ 0.5	I: > 0.5 - 2	R: > 2 mg/L
---------------------	----------	--------------	-------------

La tabella evidenzia l'importanza del dosaggio a seconda del sito infetto. Abbiamo considerato valida la sensibilità a penicillina assumendo che oxacillina fosse stata testata, si prega in futuro di segnare esplicitamente anche questa analisi. Le MIC di penicillina e ceftriaxone erano 0.023 mg/L e 0.008 mg/L; quindi sussisteva per entrambe sensibilità. L'analisi di oxacillina per determinare la penicillina è una delle analisi obbligatorie e va testata o esplicitamente dedotta; la sua assenza ha comportato una detrazione di punti.

Il ceppo era sensibile a tutti gli antibiotici riportati e anche per i fluorochinoni, come si poteva dedurre dal risultato della norfloxacin (13 mm, sensibile). La norfloxacin però deve servire solo per lo screening e non deve essere prescritta contro gli pneumococchi. La ciprofloxacina non è adatta a una terapia; con un alone fra 15 e 50 mm viene riportata da EUCAST come intermediaria. È però accettabile dichiarare resistenza a ciprofloxacina per scoraggiarne l'uso in terapia. Per levofloxacina invece non va riportata resistenza.

	Quantità
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	61
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	1
Nessuna risposta	2

Campione C: Colture ematiche da paziente immunosoppresso**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

La coltura conteneva *Listeria monocytogenes*, la cui identificazione non ha causato problemi nella maggioranza dei casi. Le specie di *Listeria* sono molto diffuse nell'ambiente. *L. monocytogenes* è stata isolata in numerosi mammiferi, uccelli, pesci, crostacei ed insetti, nonostante il suo habitat primario siano il terreno e il materiale vegetale in decomposizione. A causa della sua ampia diffusione, e facilitata dalla crescita a 4°C, *L. monocytogenes* può raggiungere la produzione alimentare e causare infezioni nell'Uomo.

L'isolato conteneva bacilli gram positivi che formavano colonie lattiginose e causavano leggera emolisi su agar sangue di pecora, erano catalasi positivi, mobili a 22°C e, tipicamente per *L. monocytogenes*, CAMP positivi. MALDI-TOF, Api Coryne e CTA-Bio identificavano nel campione solo *Listeria* sp., Vitek2 dava però *L. monocytogenes* con il 99% di probabilità. La tipizzazione rivelava *L. monocytogenes* 1/2a. *L. innocua* è CAMP negativa e non dà beta-emolisi, questi aspetti la distinguono da *L. monocytogenes*.

	Quantità
<i>Listeria monocytogenes</i>	62
<i>Listeria innocua</i>	1
Nessun risultato	2

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

Il campione conteneva un ceppo di *Campylobacter jejuni*, un bacillo gram negativo di forma elicoidale e microaerofilo, possibile agente di dissenterie nell'Uomo. L'origine dell'infezione risiede spesso in cibi contaminati di origine animale (per es. pollame non ben cotto). I tipici sintomi sono dolori addominali acuti simili a coliche, diarrea acquosa e febbre alta. Le infezioni sintomatiche sono spesso autolimitanti, ricadute possono verificarsi nel 5-10% dei casi non trattati.

Il ceppo del campione mostrava la tipica reazione positiva all'ossidasi, idrolizzava l'acido ippurico ed era mobile. Con la tecnica della goccia pendente si rendevano evidenti i tipici movimenti elicoidali. Cresceva a 42°C microaerofilo e a 37°C con CO₂, ma lentamente. Con MALDI-TOF si otteneva uno score del 2.209, una buona identificazione, che può essere confermata dall'idrolisi dell'ippurato che distingue *C. jejuni* da praticamente tutte le altre specie di *Campylobacter*.

	Quantità
<i>Campylobacter jejuni</i>	56
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	2
<i>Campylobacter species</i>	3
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1
Nessuna risposta	1
Bacilli gram negativi	1

Campione E: BAL da infezione polmonare incerta

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

Il battere *Streptococcus pseudopneumoniae* isolato da questo campione è stato descritto per la prima volta nel 2004 (Arbique et al. Accuracy of phenotypic and genotypic testing for identification of *Streptococcus pneumoniae* and description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. J Clin Microbiol 2004; 42: 4686-4696). Non è chiaro se *S. pseudopneumoniae* possa essere responsabile di infezioni polmonari nell'Uomo, ma esso viene spesso confuso con *S. pneumoniae*. La pneumolisina, presente in *S. pneumoniae*, è invece assente in *S. pseudopneumoniae*. Sono però note setticemie da *S. pseudopneumoniae* (Fuursted et al. Septicemia with *Streptococcus pseudopneumoniae*: report of three cases with an apparent hepatic or bile duct association. Infect Dis (Lond) 2016; 48: 636-639).

Esistono alcune caratteristiche che distinguono *S. pseudopneumoniae* da *S. pneumoniae*: la solubilità biliare è negativa in *S. pseudopneumoniae*, l'alone dell'optochina a 37°C con 5% CO₂ è < 14 mm, mentre a 37°C senza CO₂ è >14 mm. MALDI-TOF fornisce un risultato dubbio dando *S. pneumoniae* e *S. mitis* con scores superiori a 2.0, che richiedono quindi ulteriori analisi. In futuro, i sistemi MALDI-TOF, soprattutto Vitek MS, permetteranno la differenziazione di *S. pneumoniae* e *S. pseudopneumoniae* (van Prehn et al. MALDI-TOF mass spectrometry for differentiation between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pseudopneumoniae*. Diagn Microbiol Infect Dis 2016; 85: 9-11). Mediante sequenziamento di *recA* si poteva distinguere *S. pseudopneumoniae* da *S. pneumoniae* (Zbinden et al. *Streptococcus tigurinus*, a novel member of the *Streptococcus mitis* group, causes invasive infections. J Clin Microbiol 2012; 50: 2969-2973). Invece, i test rapidi per gli antigeni di pneumococchi sembrano reagire anche con *S. pseudopneumoniae* e con *Streptococcus mitis* (López-Fabal et al. Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method. Rev Esp Quimioter. 2015; 28: 242-246). *Streptococcus constellatus* è positivo al test di VP, al contrario di *S. pseudopneumoniae*.

	Quantità
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	20
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	15
<i>Streptococcus salivarius</i>	1
<i>Streptococcus species</i>	2
Gruppo <i>Streptococcus viridans</i>	1
<i>Streptococcus oralis</i>	1
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1
<i>Streptococcus mitis</i>	4
Gruppo <i>Streptococcus mitis</i>	4
<i>Streptococcus constellatus ssp. pharyngis</i>	2
<i>Streptococcus constellatus/pseudopneumoniae</i>	2
<i>Streptococcus constellatus</i>	2
<i>Gemella morbillorum</i>	1
<i>Gemella species</i>	1
Streptococchi viridanti	1
Nessun battere patogeno	4
Nessun risultato	2
Cocchi gram positivi	1

Distinti saluti

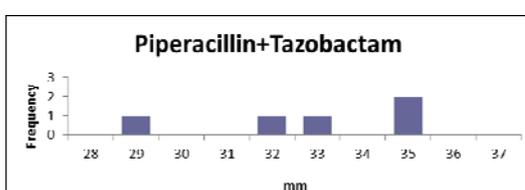
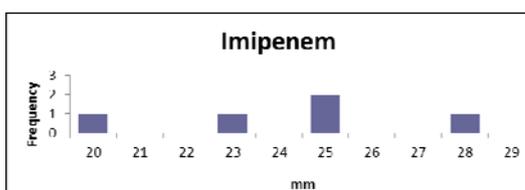
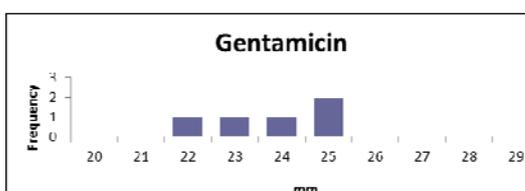
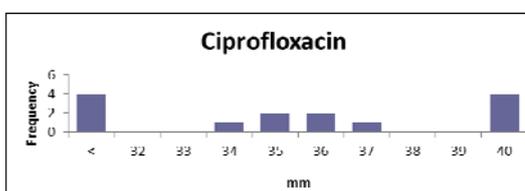
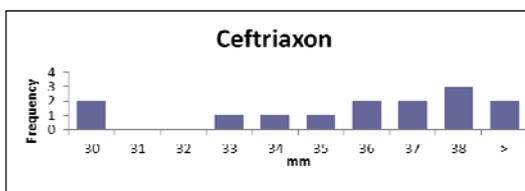
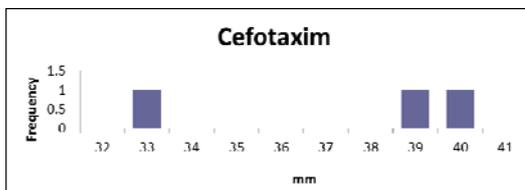
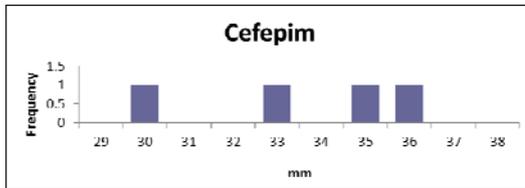
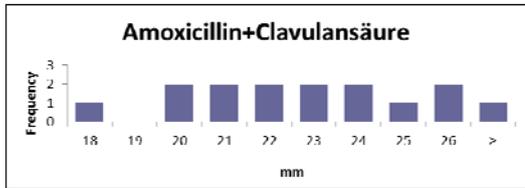


Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Esame delle resistenze del campione A



Esame delle resistenze del campione B

