



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

Commento al controllo circolare B9 microbiologia 2024-3

Campione A: Urina da catetere fisso / infezione delle vie urinarie

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

Nel campione di urina da catetere fisso da un'infezione delle vie urinarie si identificava un ceppo di *Staphylococcus aureus* resistente a meticillina. Si tratta di una MRSA con il gene *mecC*. La MRSA è stata indicata da quasi tutti i partecipanti (50/54).

Una MRSA dovuta al gene *mecC* è stata identificata la prima volta in campioni umani e di latte vaccino nel Regno Unito e in Danimarca (García-Álvarez et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study; *Lancet Infect Dis.* 2011 Aug;11(8):595-603). La sequenza del gene *mecC* è omologa al 70% con quella del gene *mecA* e la derivante proteina legante la penicillina (PBP) è omologa per circa il 63% con la proteina PBP2a. Di conseguenza, i primer per la PCR specifici per *mecA* non sono in grado di determinare la presenza di *mecC* e i ceppi spesso non reagiscono all'agglutinazione con anticorpi anti PBP2a, come per es. nel test Clearview™ PBP2A SA. Il ceppo del campione era invece evidenziabile con Xpert® MRSA, che rileva sia *mecA* che *mecC*.

Il ceppo era resistente sia a cefoxitina che a oxacillina. È interessante notare che in uno studio è stata osservata la combinazione sensibilità a oxacillina/resistenza a cefoxitina nell'88.7% delle MRSA da gene *mecC* testate con Vitek2 (Cartwright et al. Use of Vitek 2 antimicrobial susceptibility profile to identify *mecC* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; *J Clin Microbiol.* 2013 Aug;51(8): 2732-4).

L'indicazione "sensibile" per i chinoloni ciprofloxacina e levofloxacina ha causato una sottrazione di punti (vedi commento al controllo 2024-2, campione B). L'analisi della resistenza a furantoina non è stata valutata, poiché esistono valori di riferimento solo per *Staphylococcus saprophyticus* nelle infezioni delle vie urinarie. La fosfomicina, secondo EUCAST Breakpoint tables v. 14.0, non andrebbe né testata né indicata negli stafilococchi.

Identificazione	Quantità
<i>Staphylococcus aureus</i>	53
Stafilococchi coagulasi negativi	1

Punteggio sufficiente mezzo punteggio nessun punteggio

Campione B: Feci / diarrea

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

Shigella sonnei è, come altre specie del genere *Shigella*, l'agente principale della dissenteria bacillare. I sintomi variano da leggera diarrea fino a grave dissenteria accompagnata da crampi e febbre; il decorso è più mite che nei casi causati da *S. dysenteriae*. I batteri vengono trasmessi per via oro-fecale, soprattutto attraverso acqua o cibi contaminati. La dose minima infettiva è molto bassa (circa 100 CFU).

L'identificazione della specie *Shigella* e di *S. sonnei* ha ottenuto il punteggio massimo, mentre l'indicazione *S. flexneri* ha ottenuto solo un punto. Il riconoscimento riusciva bene con Api20E e con Vitek2. In MALDI-TOF non è possibile distinguere fra *Shigella* ed *E. coli*, ciò nonostante, i partecipanti hanno riconosciuto le *Shigelle* sulla base dell'immobilità, della negatività al lattosio e dell'assenza di emolisi beta, che invece si riscontra in *E. coli*. La specie è identificabile con un siero polivalente (per es. Wellcolex™).

Il ceppo possedeva una Extended-Spectrum β -Lattamase (ESBL) del tipo CTX-M e una resistenza ad azitromicina, che è spesso utilizzata insieme alla ciprofloxacina come trattamento di prima linea per la shigellosi.

La resistenza ad azitromicina è caratteristica per il clone di *S. sonnei* che circola fra uomini che hanno rapporti sessuali con uomini (MSM) in Europa e in America. Questi ceppi, spesso multiresistenti, sono stati riportati anche in Svizzera (Hinic et al. First report of sexually transmitted multi-drug resistant *Shigella sonnei* infections in Switzerland investigated by whole genome sequencing; Swiss Med Wkly. 2018;148:w14645). La trasmissione di *Shigelle* è associata ad alcune pratiche sessuali e viene perciò anche considerata un'infezione a trasmissione sessuale.

L'esame della resistenza ad aztreonam non è stato valutato, poiché questo antibiotico viene in genere idrolizzato dalla ESBL e non deve essere considerato nella terapia contro patogeni portatori di ESBL.

Identificazione	Quantità
<i>Shigella sonnei</i>	46
<i>Shigella species</i>	6
<i>Shigella flexneri</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1

Punteggio sufficiente mezzo punteggio nessun punteggio

Campione C: Coltura ematica / Batteriemia**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

Alcaligenes faecalis è un bacillo Gram negativo e non fermentante, che si riscontra nell'acqua e nel terreno. Di solito non è patogeno ma può causare infezioni opportunistiche come batteriemia, infezioni delle vie respiratorie o urinarie, infezioni cutanee o dei tessuti molli in persone immunocompromesse o in ambito clinico.

L'identificazione con MALDI-TOF non ha presentato problemi, i partecipanti che hanno usato metodi chimici hanno avuto più difficoltà.

A. faecalis ha diverse resistenze naturali, inoltre negli ultimi anni sono stati riportati più volte ceppi multiresistenti. La sensibilità migliore si osserva nei confronti di carbapenemi e ceftazidime, mentre quella per altri antibiotici varia fortemente (Huang et al. Extensively drug-resistant *Alcaligenes faecalis* infection; BMC Infect Dis. 2020 Nov 11;20(1):833). La terapia va quindi valutata secondo l'esito dell'antibiogramma.

Identificazione	Quantità
<i>Alcaligenes faecalis</i>	47
<i>Alcaligenes faecalis</i> ssp. <i>faecalis</i>	4
<i>Morganella morganii</i>	1
Non fermentante	2

Punteggio sufficiente mezzo punteggio nessun punteggio

Campione D: Striscio da lesione superficiale / ferita infetta**Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)**

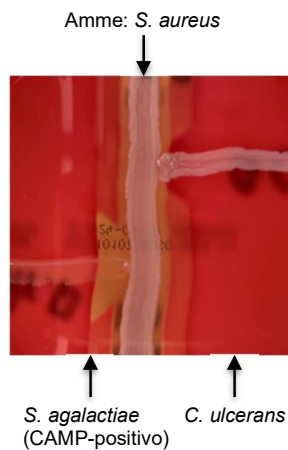
Corynebacterium ulcerans è un bacillo Gram positivo che viene associato a malattie di tipo difterico e che viene solitamente trasmesso all'uomo attraverso il contatto con gli animali (agente zoonotico). Tipici serbatoi sono bovini, cani, gatti, porcospini ecc.

Grazie alla vaccinazione, la classica difterite, causata da *Corynebacterium diphtheriae*, è praticamente eradicata nei Paesi industrializzati, ad eccezione di recenti focolai in persone con background migratorio. I casi di difterite in Europa occidentale sono infatti causati più comunemente da *C. ulcerans* che non da *C. diphtheriae* e colpiscono anche persone vaccinate col tossoide difterico.

Al contrario della classica difterite faringea, *C. ulcerans* viene spesso isolato da ferite infette, ed è stato isolato anche dall'orofaringe di agricoltori asintomatici.

L'identificazione di *C. ulcerans* non ha presentato grossi problemi. Si distingue da *C. diphtherie* attraverso la positività all'ureasi e il caratteristico test CAMP "reverse" (vedi figura).

Il rilevamento di *C. ulcerans*, analogamente a quello di altri patogeni della difterite come *C. diphtheriae* e *C. pseudotuberculosis*, è soggetto a notifica e richiede l'evidenza del gene *tox* con la PCR. Non tutti i ceppi portatori del gene *tox* esprimono la tossina della difterite, essi vengono chiamati «non-toxigenic *tox* gene-bearing strains». In casi particolari viene eseguito il test di immunoprecipitazione ELEK, per determinare l'effettiva produzione di tossina di un ceppo (vedi figura). Il ceppo del campione non possedeva il gene *tox*.

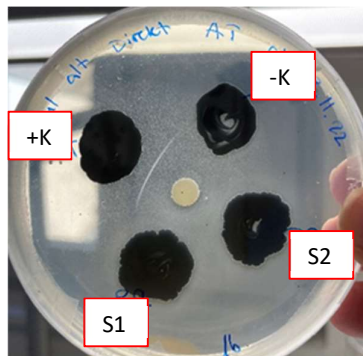


Test CAMP «Reverse» CAMP

Sinistra: controllo positivo (*S. agalactiae*): l'emolisi di *Staphylococcus aureus* è rinforzata

destra:

l'emolisi di *Staphylococcus aureus* è indebolita da *C. ulcerans*



Test ELEK

Il dischetto nel mezzo è impregnato di anti-tossina della difterite

+K: controllo positivo, è visibile la linea di precipitazione

-K: controllo negativo

S1 e S2: isolati da pazienti, entrambi negativi

Identificazione	Quantità
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	49
<i>Corynebacterium ulcerans/pseudotuberculosis</i>	2
<i>Corynebacterium</i> species	1
<i>Rothia kristinae</i>	1
Nessun risultato	1

Punteggio sufficiente

mezzo punteggio

nessun punteggio

Campione E: Emocoltura/ endocardite
Requisiti: Batteri potenzialmente patogeni (genere e specie)

Fingoldia magna (un tempo chiamato *Peptostreptococcus magnus*) è un cocco Gram positivo e anaerobio che appartiene alla flora normale cutanea, intestinale e urogenitale.

F. magna è raramente patogeno, ma può causare gravi infezioni alle valvole cardiache sia naturali che soprattutto protetiche; occasionalmente può essere isolato anche da campioni di tessuti molli e ossei, spesso in associazione a infezioni protetiche.

Alcuni case reports del passato riportano endocarditi da ceppi di *F. magna* che non crescono in emocoltura. Si ipotizzò il sodio polianetol solfonato (SPS, un anticoagulante usato nelle bottiglie di emocoltura) come possibile inibitore della crescita. Questa ipotesi non si è rivelata corretta, ma anche studi più recenti confermano che alcuni ceppi di *F. magna* per motivi ignoti non crescono nelle bottiglie di emocoltura e che il patogeno mostra cinetiche di crescita diverse a seconda del sistema di emocoltura usato (Mueller-Premru et al. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? *Anaerobe*.2017 Jun;45:59-64).

Secondo uno studio svolto in Svizzera, gli isolati di *F. magna* sono in genere sensibili a penicillina, amoxicillina/acido clavulanico e metronidazolo. A causa delle diverse rate di resistenza, è indispensabile testare le sensibilità nel caso si volessero impiegare altri antibiotici (Walser et al., Antimicrobial susceptibility testing is crucial when treating *Fingoldia magna* infections; *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022 Apr 7).

Identificazione	Quantità
<i>Fingoldia magna</i>	48
<i>Micrococcus luteus</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
Gram-positive anaerobe Kokken	1
Keine Angabe	3

Punteggio sufficiente mezzo punteggio nessun punteggio

Distinti saluti

Dr. med. vet., PhD V. Hinić

F.S. Hufschmid-Lim

Valutazione dell'esame delle resistenze:**Campione A: *Staphylococcus aureus***

Antibiotico	Risultato corretto	S	I	R	Antibiotico	Risultato corretto	S	I	R
Amikacina	S	2			Gentamicina	S	21		
Amoxicillina-ac. clavulanico	R	1		28	Imipenem	R			4
Ampicillina	R	1		11	Levofloxacina	I	2	19	
Azitromicina	S	1			Linezolid	S	13		
Cefotaxima	R			2	Meropenem	R			1
Cefoxitina	R			32	Moxifloxacina	S	5		
Ceftazidima-Avibactam	NB			1	Nitrofurantoina	NB	3		
Ceftolozan-Tazobactam	NB			1	Norfloxacina	S	3		
Ceftriaxona	R	1		5	Ofloxacina	NB	1		
Cefuroxima axetil	R	2		7	Oxacillina	R	1		15
Cefuroxima parenterale	R	2		3	Penicillina	R			22
Ciprofloxacina	I	1	27	1	Piperacillina-Tazobactam	R			3
Clindamicina	S	24			Rifampicina	S	12		
Daptomicina	S	7			Sulfametossazolo-Trimetoprim	S	53		
Doxiciclina	S	6			Teicoplanina	S	6		
Ertapenem	R			1	Tetraciclina	S	22		
Eritromicina	S	16			Tigeciclina	S	1		
Fosfomicina	NB	5			Tobramicina	S	5		
Ac. fusidinico	S	4			Vancomicina	S	36		1

Meccanismo di resistenza	Risultato corretto	Risposte no	Risposte si	Nessun risultato
MRSA	Si**	3	50	1
MLS	No	47	0	7
VRE	--			
Gentamicina high-level	--			

Punteggio sufficiente **Mezzo punteggio** **Sottrazione di punti** **non valutato (NB)**

Numeri in tabella = numero di partecipanti per tipo di risultato

*** indicazione obbligatoria**

Valutazione dell'esame delle resistenze:

Campione B: *Shigella sonnei*

Antibiotico	Risultato corretto	S	I	R	Antibiotico	Risultato corretto	S	I	R
Amicacina	S	3			Doxiciclina	NB			1
Amoxicillina-ac. clavulanico	S/I/R	26	1	4	Ertapenem	S	19		
Ampicillina	R			33	Fosfomicina	NB	2		
Azitromicina	R			12	Gentamicina	S	8		
Aztreonam	NB	1	1		Imipenem	S	23		
Cefepime	S/R	9		1	Levofloxacina	I/R		5	6
Cefotaxime	I/R		1	5	Meropenem	S	22		
Cefoxitine	S	3		1	Nitrofurantoina	NB	2		
Cefpodoxime	R			3	Norfloxacina	NB	1		1
Ceftazidime	S/I/R	2	3	1	Pefloxacina	R			1
Ceftriaxone	I/R		2	43	Piperacillina-Tazobactam	S	24		
Cefuroxime axetil	R			3	Sulfametossazolo-Trimetoprim	R			49
Ciprofloxacina	I/R	1	11	34	Tetraciclina	R			8
Clindamicina	insensato			1	Tobramicina	S	5		

Meccanismo di resistenza	Risposta corretta	Risposte no	Risposte si	Nessun risultato
ESBL	Si**	3	49	2
AmpC (crom. o plasm.)	No	44	2	8
Carbapenemasi	No	47	0	7

Punteggio sufficiente **Mezzo punteggio** **Sottrazione di punti** **non valutato (NB)**

Numeri in tabella = numero di partecipanti per tipo di risultato

*** indicazione obbligatoria**