

034

### VALUTAZIONE DI UN TERRENO COMMERCIALE PER LA RILEVAZIONE DEGLI ENTEROBATTERI ESBL PRODUTTORI

Migliavacca R.<sup>1</sup>, Spalla M.<sup>2</sup>, Nucleo E.<sup>1</sup>, De Luca C.<sup>1</sup>, Caronte I.<sup>3</sup>, Pagani L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip. S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

<sup>2</sup>Servizio Analisi Microbiologiche Fondazione IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia;

<sup>3</sup>Dip. Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano.

**Introduzione.** La diffusione di enterobatteri produttori di  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (ESBL) rappresenta un problema di rilevante impatto clinico-terapeutico, inizialmente descritto nelle strutture ospedaliere per acuti e, più recentemente, anche nelle strutture di lungodegenza a carattere riabilitativo e residenze sanitarie assistenziali (RSA).

I test di sensibilità attualmente disponibili, non sempre rilevano correttamente i ceppi ESBL-produttori e richiedono, in generale, test di conferma. Da qui la necessità di valutare nuovi metodi con caratteristiche di semplicità, sensibilità e rapidità utili al rilievo di tali microrganismi.

**Scopo del lavoro.** Valutare la sensibilità e specificità del terreno cromogeno antibiotato ChromID ESBL (Biomérieux), dedicato allo *screening* dei ceppi ESBL produttori.

**Materiali e Metodi.** Sono stati testati 81 isolati clinici di enterobatteri ESBL-produttori e non, unitamente a ceppi di *K. pneumoniae* ed *E. coli* di riferimento produttori di  $\beta$ -lattamasi note, singolarmente ed in coltura mista. L'identificazione e la sensibilità agli antibiotici è stata determinata con Vitek 2 System (Biomérieux). Le ESBL sono state caratterizzate con metodi fenotipici e molecolari fino al sequenziamento.

**Risultati.** sono stati inclusi nello studio enterobatteri produttori delle ESBL di maggiore impatto epidemiologico in Italia, comprese le CBL acquisite.

La lettura delle piastre è stata effettuata valutando i seguenti parametri: aspetto della crescita batterica, colore ed intensità dello stesso mostrati dalle colonie. Tutti i ceppi produttori di ESBL sono risultati positivi alla crescita ed hanno presentato, per ciascuna specie, la colorazione prevista dal terreno ChromID; la sensibilità del test è risultata, quindi, pari al 100%, mentre il valore predittivo positivo è risultato pari al 94%.

**Conclusioni.** Il terreno ChromID può essere considerato un valido strumento utile per la rapida rilevazione di ceppi di *Enterobacteriaceae* ESBL-produttori in ambito ospedaliero.

035

### ENTEROBATTERI PRODUTTORI DI $\beta$ -LATTAMASI DI CLASSE C ACQUISITE: UN PROBLEMA DIAGNOSTICO EMERGENTE

Migliavacca R.<sup>1</sup>, Nucleo E.<sup>1</sup>, Arghittu M.<sup>2</sup>, Spalla M.<sup>3</sup>, Cambieri P.<sup>2</sup>, Caronte I.<sup>4</sup>, Pagani L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip. S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

<sup>2</sup>Ospedale di circolo "Predabissi-Melegnano", via Pandina, 120070, Milano;

<sup>3</sup>Servizio Analisi Microbiologiche Fondazione IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia;

<sup>4</sup>Dip. Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano.

**Introduzione.** La diffusione di  $\beta$ -lattamasi AmpC plasmide-mediate rappresenta un rilevante problema clinico poiché questi enzimi conferiscono resistenza a tutti gli antibiotici  $\beta$ -lattamici ad eccezione di cefepime, ceftiprome e carbapenemici. In Italia, la diffusione di AmpC acquisite è ad oggi prevalentemente riportata in *P. mirabilis* ed in rari isolati di *E. coli*.

**Scopo del lavoro.** Valutare, mediante metodi fenotipici e molecolari, la prevalenza di *P. mirabilis* ed *E. coli* AmpC produttori in isolati clinici ESBL positivi.

**Metodi.** Nel periodo settembre'05-febbraio'07 sono stati raccolti, presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale di Melegnano, 125 isolati consecutivi non replicati ESBL produttori: 44/125 *P. mirabilis* ed 81/125 *E. coli* rispettivamente. Sono stati eseguiti test del doppio disco con piperacillina-tazobactam (TZP), e di conferma CLSI. Per il rilievo degli enzimi AmpC sono stati utilizzati sia metodi fenotipici quali la valutazione della sensibilità alla cefoxitina (FOX) e la positività a test di *screening* (test Hodge, 3D, CAM e con acido bórico) che molecolari: PCR con *primer* specifici.

**Risultati.** Tutti gli isolati sono risultati positivi ai test del doppio disco e di conferma CLSI. 11/81 *E. coli* e 13/44 *P. mirabilis* mostravano I/R a FOX ed elevata resistenza al cefotaxime. I 24/125 isolati sospetti AmpC produttori sono stati sottoposti ad amplificazione: 12/24 (50%), di cui 4/24 *E. coli* ed 8/24 *P. mirabilis*, sono risultati codificare per un enzima appartenente alla linea CMY/LAT. L'Hodge test ha mostrato la maggiore efficienza (70,8%), seguito dai test 3D e CAM (66,6%). La sensibilità dei test di *screening* non è risultata superiore al 58,3%.

**Discussione.** Il profilo di sensibilità in *P. mirabilis* (sensibilità ad aztreonam, cefepime e TZP e resistenza a cefotaxime e ceftazidime) è indicativo della produzione di AmpC acquisite. In *E. coli*, invece, è sempre necessario ricorrere all'amplificazione genica per distinguere tra iper-produzione ed acquisizione del gene *ampC*. La corretta rivelazione delle AmpC acquisite è di grande rilievo epidemiologico.