

135

STUDIO DELLA PREVALENZA DI CEPPI DI *E. COLI* E *KLEBSIELLA SPP* CON FENOTIPO ESBL DI RECENTE ISOLAMENTO CLINICO

Giordano A.*, Carattoli A.°, Gerardi S.*, Garcia A.°, Venditti M.°, Varesi P.*, Mancini C.*

°Istituto Superiore di Sanità V.le Regina Elena 299 00161

*Dip. Scienze di Sanità pubblica Ple A.Moro, 5 00185

^Dipartimento di Medicina Clinica V.le del Policlinico 155 00161 - Università di Roma "La Sapienza"

Introduzione. Lo sviluppo delle resistenze batteriche rappresenta una vera e propria emergenza sanitaria. Sappiamo che all'uso degli antibiotici i batteri rispondono acquisendo meccanismi di resistenza.

Per quanto riguarda i microrganismi gram-negativi le problematiche emergenti sono rappresentate dalla diffusione in alcune specie delle *Enterobacteriaceae* delle beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), enzimi in grado di idrolizzare le più potenti cefalosporine, ma sempre più spesso sono riportate anche carbapenemasi, enzimi con attività inattivante nei confronti dei carbapenemici, considerati farmaci di ultima risorsa nei confronti degli stiptipi produttori di ESBL e dalla diffusione di stiptipi di *Pseudomonas* multiresistenti. In Italia i dati più recenti stimano l'incidenza in ambito nosocomiale di ceppi produttori di ESBL intorno al 15-30%, con *Klebsiella*, *Proteus* ed *E.coli* le specie più coinvolte e oltre il 20% di *Pseudomonas aeruginosa* simultaneamente resistenti a beta-lattamici, fluorochinoloni e aminoglicosidi.

Metodi e risultati. In uno studio preliminare eseguito presso il laboratorio di Analisi Microbiologiche B dell'Azienda Policlinico Umberto I di Roma, sono stati isolati 276 ceppi tra *E. coli* e *Klebsiella* spp.. Su tali ceppi è stato eseguito uno screening iniziale con le card AST-N041 del sistema Vitek2 (BioMérieux). 10 *Klebsiella* spp. su 37 totali e 78 *E. coli* su 239 totali sono risultati essere ESBL positivi. Tali risultati sono stati confermati mediante metodo del doppio disco per diffusione in agar.

Lo studio verrà proseguito ricercando i geni più diffusi che codificano per ESBL e mediante genotipizzazione dei ceppi isolati.

136

IL PERCORSO DEL PAZIENTE DALL'OSPEDALE ALLA R.S.A.: IL PUNTO DI VISTA MICROBIOLOGICO

Galdi P., Collini L., Schinella M., *Mariotti G., *Segata A.

Laboratorio Patologia Clinica,

*Direzione medica Ospedale S.Maria del Carmine

- 38068 Rovereto (TN)

Scopo. Il monitoraggio ed il controllo del rischio infettivo nelle Residenze Sanitarie Assistite (R.S.A.) rappresenta una priorità nella sorveglianza di pazienti anziani, post-acuti e cronici, sottoposti a cicli ripetuti di ricoveri ospedalieri.

Lo scopo di questo studio è individuare il singolo paziente (anche portatore di batteri multi-resistenti) e poterlo seguire

nei vari ricoveri, siano essi in R.S.A. che in Ospedale.

Materiali e metodi. Sono stati presi in considerazione 5 pazienti "modello" in base ai loro spostamenti R.S.A.-Ospedale per poterne seguire, attraverso i loro campioni biologici, l'andamento dell'infezione e la persistenza o meno del germe in causa. Si tratta di pazienti con infezioni delle vie urinarie che al momento del ricovero sono stati ospitati prevalentemente nella U.O. di Geriatria.

Risultati. L'esperienza condotta nell'ambito della gestione epidemiologica dei 5 pazienti ha evidenziato che in alcuni casi il germe agente causale dell'infezione manteneva lo stesso profilo di sensibilità alle molecole antibiotiche saggiate, in altri casi acquisiva resistenze significative (es.: *P.mirabilis* divenuto ESBL). Ciò ha consentito non solo un monitoraggio dell'evoluzione dell'infezione, ma anche una rilevazione di profili di resistenza caratteristici di microrganismi sentinella.

Discussione e conclusioni. Dallo studio emergono situazioni in cui si sommano le diverse tipologie di infezioni contratte in reparti ospedalieri per acuti e quelle contratte in R.S.A., basate sulla tipologia di popolazione e delle cure (ad esempio la pressione selettiva degli antibiotici), sulla potenzialità di trasmissione crociata, sulle risorse assegnate, sulla disponibilità di personale medico ed infermieristico, sulle possibilità diagnostiche relative a strumenti e programmi di prevenzione e controllo.

I 5 soggetti ospiti di R.S.A. considerati in questo studio rappresentano casi concreti di quanto i batteri costituiscano un importante reservoir per successivi ricoveri ospedalieri e come possano trasferire resistenze "critiche" nel territorio.

137

EPIDEMIA DI PSEUDOBATTERIEMIE DA CONTAMINAZIONE DI FLACONI DI DISINFETTANTI-ANTISEPTICI

Leo L., D'Aversa P., Musio K., Lobreglio G.

A.O. "Pia Fondazione di Culto e Religione Card. G. Panico",

U.O. Med.Lab., Sez. Microbiologia, Via Pio X, 73039 Tricase (LE)

Introduzione. Una serie di emocolture positive per batteri saprofiti, in pazienti immunodepressi, ci ha spinto ad indagare sulle modalità di disinfezione adottate nei prelievi in un reparto del nostro Ospedale. In questo studio è stata valutata sia la sterilità dei flaconi di disinfettante aperti ed in uso in reparto, sia l'efficacia dei disinfettanti integri nei confronti dei batteri isolati dalle emocolture positive.

Metodi. È stata valutata la sterilità dei flaconi in uso di 4 soluzioni disinfettanti: Amuchina® (10% e 3%), clorexidina (1% e 3%), Baxidin® (cetrime 15% e clorexidina digluconato 1,5%) e Braunol® (iodio-povidone 7,5%). Sono stati inoculati 100µl di ciascun disinfettante su piastra di Mueller Hinton Sangue 5% (48h., 35°C, CO₂ 5%), su Standard Method Agar (48h., 30°C) e 1ml in flaconi da emocoltura (BacT/alert 3D, bioMérieux). Allo stesso modo sono stati testati i flaconi integri di tutti i disinfettanti. Con i ceppi isolati dalle emocolture dei pazienti sono state preparate delle sospensioni (10⁹-10¹⁰ufc/ml) in fisiologica, poi diluite con 9 parti di disinfettante integro. Dopo 5 min. sono stati seminati 100µl di ogni diluizione in piastra di Mueller Hinton Sangue 5% e Standard Method Agar.

Risultati. Dei 4 flaconi in uso di clorexidina al 1%, 3 erano

contaminati da *Achromobacter xilosoxidans* (*Ax*). Dei 7 flaconi di clorexidina al 3%, 3 erano contaminati da *Ax* e 1 da *Ralstonia paucula* (*Rp*). Dei 4 flaconi in uso di Baxidin®, 2 erano contaminati da *Ax*. Sono invece risultati tutti sterili i flaconi di Amuchina® e Braunol®. Nei successivi test *Ax* è cresciuto su agar sia dopo l'esposizione al Baxidin® che alla clorexidina 1% e 3%. Quest'ultima, a queste concentrazioni si è rivelata inefficace anche nei confronti di *Rp*.

Conclusioni. *Achromobacter xilosoxidans* e *Ralstonia paucula* appaiono resistenti ad alcuni disinfettanti di uso comune, tanto che in alcuni casi ne possono contaminare i flaconi.

138

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI UNA EPIDEMIA DA *CANDIDA PARAPSILOSIS* IN TERAPIA INTENSIVA

Lo Cascio G.¹, Ligozzi M.², Maccacaro L.², Bertocelli A.², Fontana R.²

¹Servizio di Microbiologia, Ospedale G.B. Rossi, Piazzale L.A. Scuro 10, Verona

²Dipartimento di Patologia, Sezione di Microbiologia, Strada Le Grazie 8, Verona

Introduzione. Le candidosi invasive sono un problema di crescente rilevanza nei reparti di terapia intensiva a causa dei numerosi fattori di rischio presenti in questi pazienti. Negli ultimi anni hanno assunto notevole importanza anche specie diverse da *Candida albicans* come *C. parapsilosis*. Scopo di questo studio è stato quello di indagare, con l'ausilio della biologia molecolare, una sospetta epidemia da *C. parapsilosis* verificatasi in un reparto di Rianimazione.

Materiali e metodi. Tutti ceppi di *C. parapsilosis* isolati dalle emocolture del reparto di Terapia Intensiva del Policlinico di Verona nel periodo compreso tra agosto 2005 ed aprile 2006 sono stati raccolti e indagati per evidenziarne la sospetta monoclonalità. L'estrazione del DNA del lievito è stata effettuata con un metodo automatizzato (easyMag-Biomerieux); successivamente il DNA è stato sottoposto ad una RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) utilizzando primer precedentemente descritti e ad una rep-PCR (ripetitive extragenic palindromic PCR). *C. parapsilosis* ATCC 22019 è stata utilizzata come controllo positivo.

Risultati. Sono stati isolati 10 ceppi di *C. parapsilosis*, identificate a livello di specie con metodi precedentemente descritti. I 10 ceppi appartenevano a 7 pazienti, 3 dei quali hanno presentato lo stesso isolato da emocoltura e da coltura del CVC. I profili ottenuti con la tipizzazione molecolare sono stati elaborati con il software Gel Compare (Applied Math) e hanno confermato l'origine clonale del ceppo di *C. parapsilosis* responsabile delle candidemie.

Conclusioni. Come descritto precedentemente *C. parapsilosis* risulta una specie emergente nell'ambito delle infezioni del sangue catetere-correlate. Questo studio retrospettivo, pur non avendo potuto stabilire la sorgente dell'infezione, ne ha evidenziato l'origine clonale. Si conferma ancora una volta l'utilità della sorveglianza epidemiologica in reparti a rischio, e l'utilità della tipizzazione molecolare nei sospetti eventi epidemici; sono necessari quindi ulteriori studi per standardizzare le tecniche molecolari per i miceti, ormai indispensabili nelle indagini epidemiologiche.

139

UTILIZZO DELLA PFGE PER LO STUDIO DI UN'EPIDEMIA DA *S. AUREUS* IN UN REPARTO DI PATOLOGIA NEONATALE

Pagani L.¹, Migliavacca R.¹, Matti C.², Perotti G.³, Nucleo E.¹, Spalla M.², Sacco L.², Daturi R.¹.

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

²Servizio Analisi Microbiologiche IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia;

³Divisione di Patologia Neonatale e Terapia Intensiva, IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia, Italia.

Introduzione. *Staphylococcus aureus* rappresenta una delle principali cause di infezioni gravi acquisite durante il periodo di degenza.

In Italia, si stima che circa il 35% degli *S. aureus* isolati in ambito ospedaliero risultino meticillino-resistenti. Preoccupanti profili di resistenza sono emersi, recentemente, anche per aminoglicosidi, tetracicline, fluorochinoloni nonché glicopeptidi. Scopo del presente studio è stato valutare i livelli di antibiotico-resistenza e le relazioni clonali fra ceppi di *S. aureus* isolati in un reparto di patologia neonatale.

Materiali e metodi. Durante il periodo Agosto 2005 - Marzo 2006, sono stati raccolti da differenti pazienti, ricoverati presso il reparto di Patologia Neonatale del Policlinico San Matteo di Pavia, 35 isolati di *S. aureus*. I microrganismi, identificati mediante i sistemi automatizzati Vitek System (Biomérieux, Roma) e BD Phoenix, sono stati sottoposti a test di sensibilità per cefoxitina, ampicillina, gentamicina, eritromicina, cotrimossazolo, ciprofloxacina, ed E-test per vancomicina e teicoplanina in terreno agarizzato seguendo le raccomandazioni del CLSI.

Le relazioni clonali fra gli isolati di *S. aureus* sono state stabilite attraverso PFGE (*SmaI*) (Bio-Rad).

Risultati. 31/35 campioni testati sono risultati sensibili a meticillina, cotrimossazolo, fluorochinoloni e glicopeptidi; resistenti invece ad ampicillina, tetraciclina eritromicina e gentamicina. 4/35 campioni sono risultati meticillino-resistenti. La resistenza era estesa anche a tetraciclina e gentamicina.

Gli studi di tipizzazione hanno evidenziato la diffusione epidemica di 2 cloni: A, comprendente i ceppi meticillino-sensibili e con fenotipo di resistenza ai macrolidi MLS_B inducibile, B tipico dei campioni meticillino-resistenti ed eritromicina sensibili.

Conclusioni. L'utilizzo dei metodi di tipizzazione è ritenuto auspicabile, soprattutto nei reparti ad alto rischio, per un pronto e sensibile rilievo di eventi epidemici nosocomiali, cosicché possano essere adottate tempestivamente efficaci misure di contenimento.