

IgM, eseguendo un test basato su tecnica di immunofluorescenza (Focus USA, distribuito da ALIFAX), che utilizza su unico pozzetto antigeni distinti di *R. typhi* e di *R. rickettsii*, permettendo una differenziazione tra anticorpi anti-*Rickettsia* gruppo febbre tifoide ed anticorpi anti-*Rickettsia* gruppo febbre maculosa. Il test di sieroaagglutinazione Weil-Felix da noi utilizzato è prodotto dalla Ditta Murex.

Risultati: Il campione in esame ha rivelato una positività per la ricerca di IgG anti-*Rickettsia* gruppo febbre maculosa maggiore di 1:256 e di IgM maggiore di 1:50. La sieroaagglutinazione di Weil-Felix, all'inizio negativa, si è positivamente con titolo 1:160 per l'antigene OX2, soltanto una settimana dopo.

Discussione e conclusioni: Riteniamo, alla luce di quanto riportato, che nei pazienti con anamnesi positiva per puntura di insetto e che manifestino febbre e/o rash cutaneo, la sola esecuzione della sierodiagnosi di Weil-Felix non sia sufficiente. E' quindi importante, al fine di una precoce diagnosi etiologica, utilizzare un test che abbia non solo tempi di esecuzione brevi, ma che sia più sensibile e specifico; la metodica in immunofluorescenza possiede queste caratteristiche e, non richiedendo strumentazione dedicata se non un microscopio a fluorescenza, può essere utilizzata in tutti i laboratori di microbiologia.

P074

RESISTENZA MEDIATA DA METALLO-BETA-LATTAMASI IN *P.AERUGINOSA* IN UNA STRUTTURA RIABILITATIVA.

^aMigliavacca R., ^bNavarra A., ^cTelecco S., ^dNucleo E., ^eSpalla M., ^fAsticcioli S., ^gZara F., ^hPagani L.

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

^bLab. di Microbiologia IRCCS "Fondazione S. Maugeri" via Ferrata 8, 27100 Pavia;

^cServizio Analisi Microbiologiche IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia.

Obiettivi - Monitorare la diffusione della resistenza ai carbapenemici, mediata da metallo-β-lattamasi, in ceppi di *P.aeruginosa* isolati in una struttura riabilitativa che accoglie pazienti provenienti da ospedali distribuiti sul territorio nazionale.

Metodologia - In 81 isolati di *P.aeruginosa*, raccolti nel periodo giugno '02-dicembre '03, resistenti all'imipenem, è stata determinata la MIC con micrometodo in terreno liquido secondo i protocolli NCCLS. Su tutti i ceppi è stata valutata l'azione sinergica tra imipenem ed EDTA mediante E-test MBL (AB-Biodisk) e tra imipenem ed EDTA + 1,10-o-fenantrolina utilizzando un test di microdiluzione in terreno liquido (EPI-test). I determinanti di resistenza sono stati individuati con PCR mediante primer specifici per i geni *bla_{VIM}* e *bla_{IMP}* e successivo RFLP del prodotto di amplificazione. Ai fini della tipizzazione è stata effettuata un'analisi dei profili di macrorestrizione genomica (PFGE).

Risultati - I ceppi risultati resistenti all'imipenem in base alla diffusione da dischetto erano caratterizzati da MIC di 8->256 µg/ml. La restituzione dell'attività dell'imipenem, dovuta alla azione di EDTA + 1,10-o-fenantrolina, si è verificata in 15 isolati (18.5%) di *P.aeruginosa*, nei quali è stata dimostrata la produzione di metallo-β-lattamasi di tipo VIM, mentre 66 ceppi con MIC comprese fra 4-256 µg/ml sono risultati negativi a questo test. In tutti i casi l'EPI-test ha evidenziato la produzione di metallo-enzima, mentre in 5 casi l'E-test è risultato negativo. Le MIC per l'imipenem dei ceppi metallo-enzima-produttori erano comprese tra 8 e >256µg/ml. 7 stipti produttori di VIM-1 sono risultati epi-

demiologicamente correlati, mentre è stata evidenziata la diffusione di 3 altri pulsotipi solo sporadicamente presenti.

Conclusioni - L'utilizzo di test di sinergia con inibitori per il riconoscimento delle metallo β-lattamasi è di facile applicazione nei laboratori diagnostici, ed auspicabile, vista l'incidenza dei casi di resistenza dovuta alla persistenza e diffusione di diversi cloni metallo-β-lattamasi produttori nella nostra area geografica.

P075

RESISTENZA MEDIATA DA BETA-LATTAMASI IN ISOLATI CLINICI DI *ACINETOBACTER BAUMANNII* MDR.

^aMigliavacca R., ^bNavarra A., ^cEndimiani A., ^dNucleo E., ^eSpalla M., ^fTelecco S., ^gLi Bergoli M., ^hGiacobone E., ⁱLuzzaro F., ^jRossolini G.M., ^kPagani L.

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

^bLab. di Microbiologia - IRCCS "S. Maugeri" via Ferrata 8, 27100 Pavia;

^cLab. di Microbiologia - Ospedale di Circolo e Fond. "Macchi", viale Borri 57, 21100 Varese;

^dServizio Analisi Microbiologiche IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia;

^eLab. di Microbiologia - IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", 71013 S. Giovanni Rotondo (FG);

^fDipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, viale Bracci, 53100 Siena.

Obiettivi: Studio delle β-lattamasi prodotte da isolati clinici di *Acinetobacter baumannii* multiresistenti (MDR) responsabili di infezioni nosocomiali e delle loro relazioni clonali.

Metodologia: 38 ceppi di *A. baumannii* isolati nel 2003 in 4 ospedali da reparti di TI, clinici, chirurgici e riabilitativi, e caratterizzati da un profilo di multiresistenza, sono stati studiati per la produzione di β-lattamasi. Gli isolati erano ottenuti in gran parte da urine (26.3%) e secrezioni delle vie respiratorie (39.5%), ma anche da sangue (15.8%) e materiali diversi (18.4 %). Tutti gli isolati sono stati identificati e saggiati per la sensibilità agli antibiotici con card GNI (Vitek System, BioMerièux) e pannelli NMIC/ID4 (Phoenix System, Becton Dickinson). Le β-lattamasi ottenute in estratti grezzi sono state caratterizzate mediante determinazione del pI e dell'attività idrolitica sui substrati. La presenza dei geni *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{VEB}*, *bla_{PER}*, *bla_{CTX-M}* e *amp C* è stata studiata mediante PCR. Le relazioni clonali fra gli isolati sono state valutate mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE) usando l'enzima di restrizione *Sma*I.

Risultati: 32 ceppi sono risultati produttori di β-lattamasi AmpC cromosomiche ad elevati livelli, mentre 6 ceppi producevano β-lattamasi a spettro esteso (ESBL). I ceppi produttori di ESBL sono risultati non correlati clonalmente tra di loro, mentre gli stipti iperproduttori di AmpC cromosomica, isolati in Ospedali diversi, appartenevano prevalentemente ad un unico clone. In un reparto sub-intensivo *A. baumannii* MDR iperproduttore di AmpC ha dato origine ad un episodio epidemico.

Conclusioni: I risultati ottenuti dimostrano la circolazione in ambito ospedaliero di stipti di *A. baumannii* MDR spesso non correlati genotipicamente e caratterizzati da differenti meccanismi di resistenza agli antibiotici β-lattamici. A questo riguardo, l'iperproduzione di β-lattamasi di tipo AmpC sembra essere il meccanismo prevalente ma anche l'espressione di ESBL può determinare fenotipi multiresistenti di difficile trattamento.