

SHORT COMMUNICATIONS

Valuation of a new Chromogenic Agar Medium for the detection of ESBL producing *Enterobacteriaceae*

Carlo Mancini, Daniela Danieli, Adrio Penni, Marta Mingione, Fabrizio Tosto, Gianluca Puggioni, Paola Varesi, Alessandra Giordano

U.O.C. Analisi Microbiologiche B Azienda Policlinico Umberto I, le del Policlinico 155 00161 Roma

Key words: Chromogenic agar medium, ESBL, *Enterobacteriaceae*

Valutazione di un nuovo terreno cromogeno selettivo per la presenza di enterobatteri produttori di ESBL

SUMMARY

Escherichia coli producing ESBL are a major problem in the many different hospitals worldwide causing outbreaks as well as sporadic infections.

A novel chromogenic agar medium (ChromID ESBL bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) was tested directly on a total of 162 clinical samples and plated in parallel on to common media including Mac Conkey agar (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France). Colonies presenting a different morphologic aspect and growing on media were identified and tested for susceptibility by VITEK 2 using GN-cards and AST-N013 cards (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) Confirmation of ESBL-producing isolates was performed by combined double disk.

We are not find errors. The chromID ESBL appears as an excellent medium for the screening and presumptive identification of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* directly from clinical samples. Further studies with a wider range of clinical specimens are required to confirm this utility.

Received December 17, 2007

Accepted March 26, 2008

INTRODUZIONE

Nell'ambito delle patologie infettive ad eziologia batterica, le problematiche emergenti sono legate soprattutto allo sviluppo di antibiotico-resistenza in importanti patogeni.

Il problema che è sorto con l'introduzione in terapia delle prime molecole antimicrobiche, è drammaticamente peggiorato negli ultimi due decenni interessando gran parte delle aree del pianeta (1).

Per quanto riguarda i microrganismi Gram-negativi le problematiche emergenti sono rappresentate dalla diffusione massiccia in alcune specie delle *Enterobacteriaceae* delle beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), enzimi in grado di idrolizzare le più potenti cefalosporine, dalla descrizione delle prime carbapenemasi, enzimi con attività inattivante nei confronti dei carbapenemici, considerati farmaci di ultima risorsa nei confronti degli stipiti produttori di ESBL e dalla diffusione di stipiti di *Pseudomonas* spp. multiresistenti. In Italia i dati più recenti stimano l'incidenza in ambito nosocomiale di ceppi produttori di ESBL intorno al 15-30%, con *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. ed *E. coli* le specie

più coinvolte (3, 6) e oltre il 20% di *Pseudomonas aeruginosa* simultaneamente resistenti a beta-lattamici, fluorochinoloni e aminoglicosidi.

Il presente studio ha voluto valutare la specificità e il valore predittivo delle piastre chromID ESBL (bioMérieux), un nuovo terreno cromogeno selettivo per lo screening degli enterobatteri produttori di ESBL (2, 4).

MATERIALI E METODI

162 campioni clinici (destinati alla routine diagnostica) provenienti da reparti ad alto rischio quali Rianimazione, Trapianti, Neurochirurgia e Cardiochirurgia sono stati seminati sui comuni terreni di coltura e, una aliquota residua, sul "ChromID ESBL medium" (bioMérieux).

Sui ceppi di enterobatteri isolati dalla piastra di "ChromID ESBL medium", a conferma del risultato ottenuto con la piastra cromogena, gli isolati sono stati caratterizzati per specie e per fenotipo di resistenza mediante il sistema VITEK 2 (card ID-GN e card AST-N041 bioMérieux) ed eseguita la conferma mediante test del doppio disco per diffusione (5).

Corresponding author: Alessandra Giordano

Tel. 0649918227 - Fax 0649978219 - E-mail: alessandra.giordano@uniroma1.it

Tabella 1. Ceppi isolati da chromID agar

DATA	CAMPIONE	REPARTO	MATERIALE	COLORE	SPECIE	VITEK	KB
26/05/2007	60665	BAN01	EMO	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
08/05/2007	59876	BAN01	T.Ferita	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
18/05/2007	4392	BAN05	TAS	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
26/04/2007	3998	BAN05	Urine	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
30/04/2007	4077	BAN05	Urine	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL+	POS
30/04/2007	4078	BAN05	T.Ferita	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL+	POS
30/04/2007	4079	BAN05	TAS	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
30/04/2007	4056	BAN05	EMO	Verde	<i>K. pneumoniae</i>	ESBL+	POS
25/05/2007	60630	BCG10	Liq Biliare	Verde	<i>E. cloacae</i>	ESBL+	POS
20/04/2007	59275	BCG10	Urine	BIANCHE	<i>E. coli</i>	ESBL+	NEG
05/05/2007	59786	BCG10	Urine	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL+	POS
05/05/2007	59776	BCG10	Urine	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL+	POS
02/05/2007	4092	BMC10	Urine	Verde-blu	<i>E. cloacae</i>	ESBL+	POS
15/05/2007	4325	BMC10	Liq Ascesso	Verde-blu	<i>E. cloacae</i>	ESBL+	POS
23/04/2007	3968	BMC10	T.Vaginale	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL +	POS
21/05/2007	60348	BMC10	Urine	Rosa scuro	<i>E. coli</i>	ESBL+	POS

Tabella 2. Risultati della valutazione dei campioni clinici

REPARTI	CAMPIONI	chromID ESBL POS	VITEK2 KB	%
RIANIMAZIONE				
BAN01	59	2	2	3.40
RIAN/NEURO				
BAN05	29	6	6	20.7
NEUROCHIR.				
BAN05	10	0	0	0
CADIOCHIR.				
BMC10	24	4	4	16.70
TRAPIANTI				
BCG10	40	3	4	7.50

RISULTATI

Sono stati valutati 59 campioni dal reparto di Rianimazione e Terapia Intensiva, 29 dalla Terapia Intensiva Neurochirurgica, 10 dalla Neurochirurgia, 24 dalla Cardiocirurgia e 40 dalla Chirurgia dei Trapianti d'Organo. Sul terreno dopo 24h di incubazione si è evidenziata la crescita di 15 sospetti Enterobatteri produttori di ESBL (tabelle 1, 2). Nel resoconto dell'AES del Vitek2 si è trovato un ceppo di *E. coli* ESBL positivo mentre sul chromID si sono evidenziate colonie bianche (ESBL-). Con la tecnica del doppio disco questo ceppo non ha mostrato alcun sinergismo indicando pertanto la presenza di un ceppo non produttore di ESBL.

CONCLUSIONI

Utilizzando, inserito nella routine, il ChromoID ESBL abbiamo potuto valutare l'attendibilità di questa piastra di screening.

1. Non abbiamo evidenziato discordanze.
2. È utile anche dal punto di vista infettivologico perché evidenzia la presenza di ceppi che presentano multiresistenze, infatti le altre specie batteriche cresciute sul terreno (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, etc.) presentavano tutte mul-

tiresistenze.

L'utilizzo del terreno chromID ESBL è un buon screening per evidenziare rapidamente la presenza di Enterobatteri produttori di ESBL e/o multiresistenze permettendoci di prevenire e/o combattere le infezioni ospedaliere rilevando la presenza di pazienti colonizzati o infettati in sole 24h.

È nostra intenzione continuare lo studio su quantità maggiore di campioni e sui ceppi isolati lo studio proseguirà con l'utilizzo della biologia molecolare per decodificare gli enzimi di resistenza.

BIBLIOGRAFIA

1. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamase in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 933-51.
2. Ciragil P, Gul M, Aral M, Ekerbicer H. Evaluation of a new chromogenic medium for isolation and identification of common urinary tract pathogens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 108-11.
3. Du B, Long Y, Liu H, Chen D, Liu D, Xu Y, Xie X. Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. Intensive Care Med 2002; 28: 1718-23.
4. Glupczynski Y, Berhin C, Bauraing C, Bogaerts P. Evaluation of a new selective chromogenic agar medium for detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2007; 45(2): 501-5.
5. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility pattern. Rev Infect Dis 1988; 10: 867-78.
6. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. Clin Infect Dis 2001; 32: 1162-71.