

020

### VALUTAZIONE DI CICA BETA TEST, UN NUOVO METODO RAPIDO PER LA RILEVAZIONE DELLE ESBL, MBL E DEGLI ENZIMI DI TIPO AmpC

Frugoni S.<sup>1</sup>, Barigozzi P.<sup>1</sup>, Berlusconi A.<sup>1</sup>, Binacchi C.<sup>1</sup>, Consoli D.<sup>1</sup>, Faravelli C. Iollo L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ASP I.M.M. e S. e P.A.T., servizio di Medicina di Laboratorio, via Trivulzio 15, 20146 Milano.

<sup>2</sup>D.I.D., Diagnostic International Distribution, piazza Amati 6, 20146 Milano

**Introduzione.** I moderni laboratori di microbiologia dispongono di strumentazioni che si avvalgono di sistemi esperti per una corretta interpretazione dell'antibiogramma. In diversi casi, senza una specifica determinazione delle ESBL, è il sistema esperto che ne rileva i probabili batteri produttori. Le tecniche di conferma della produzione di ESBL, attualmente richiedono tempi lunghi per l'allestimento di una terapia antibiotica immediata ed efficace. Con l'aumentare dei casi di infezione provocati da microrganismi produttori di ESBL, è sempre più importante disporre metodi diagnostici affidabili e rapidi per una specifica rilevazione di questi meccanismi di resistenza. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare un kit commerciale (Cica Beta kit) per la rilevazione rapida delle ESBL, MBL, e degli enzimi di tipo AmpC.

**Metodi.** Sono stati testati con la strumentazione automatica Vitek "senior" (BIOMERIEUX) con sistema esperto 66 ceppi segnalati ESBL produttori (29 *E.coli*, 6 *K.pneumoniae*, 26 *P.mirabilis*) e 5 ceppi *P.aeruginosa* imipenem resistenti. La produzione di ESBL è stata confermata con strip Etest (AB BIODISK), MBL con dischetti di imipenem con e senza EDTA, AmpC con dischetti di cefoxitina e cefepime. In parallelo è stato utilizzato Cica Beta kit (Kanto Chemical Co., Japan; Mast, UK) basato sulle caratteristiche del composto HMRZ-86 di essere scisso da ESBL e MBL. La rilevazione avviene in 15 minuti.

**Risultati.** Con Etest sono stati confermati 38 ceppi produttori di ESBL (27 *E.coli*, 6 *K.pneumoniae*, 5 *P.mirabilis*), 16 ceppi di *P.mirabilis* sono risultati produttori di AmpC, 6 ceppi (5 *P.aeruginosa*, 1 *P.mirabilis*) produttori di MBL; in 6 ceppi (4 *P.mirabilis*, 2 *E.coli*) non si è individuato nessun tipo di enzima. Cica Beta kit ha correttamente identificato tutti i ceppi produttori di enzimi del tipo AmpC, non ha rilevato 3 (8%) ESBL e 2 (33%) MBL; dei 6 ceppi non individuati con test di conferma, 3 (2 *P.mirabilis*, 1 *E.coli*) sono risultati produttori di ESBL e 3 ceppi (2 *P.mirabilis*, 1 *E.coli*) sono risultati produttori di enzimi multipli oxacillinasasi estesi. Il kit ha inoltre rilevato 3 ceppi produttori di enzimi multipli oxacillinasasi estesi, 3 *E.coli*, 1 *P.aeruginosa*, rispettivamente classificati con test di conferma come ESBL e MBL produttori.

**Conclusioni.** Cica Beta kit si è dimostrato un valido test di screening da utilizzare nella routine giornaliera per la rilevazione rapida di ESBL, MBL e degli enzimi di tipo AmpC.

021

### VALUTAZIONE DI UNA TECNICA PER L'ALLESTIMENTO RAPIDO DI VETRINI DA FLACONI PER EMOCOLTURA CON CARBONE

Frugoni S., Barigozzi P., Binacchi C., Consoli D., Faravelli C., Berlusconi A.

<sup>1</sup>ASP I.M.M. e S. e P.A.T., servizio di Medicina di Laboratorio, via Trivulzio 15, 20146 Milano.

**Introduzione.** Le batteriemie e le setticemie rappresentano ancor oggi una importante causa di morbilità nel paziente ospedalizzato. Impostare una corretta terapia antibiotica nel più breve tempo possibile è condizione importante per ridurre la sepsi soprattutto nel paziente immunocompromesso. I flaconi per emocoltura BacT/ALERT con carbone sono usati con il sistema di rilevazione microbica BacT/ALERT in procedure qualitative per migliorare il recupero e la rilevazione di microrganismi nel sangue. La presenza di carbone però ostacola la possibilità di effettuare l'identificazione e l'antibiogramma dell'agente eziologico direttamente dal flacone di coltura. Obiettivo del nostro lavoro è stato quello di valutare la possibilità di allestire vetrini per la colorazione di Gram direttamente dal flacone di coltura segnalato come positivo dallo strumento, al fine di fornire utili indicazioni per una immediata terapia antibiotica.

**Metodi.** I flaconi di coltura monouso BacT/ALERT (BIOMERIEUX) contengono 32 mL di terreno complessato e 8 mL di sospensione di carbone all'8,5%. I flaconi sono stati inoculati con 5-10 mL di sangue. Dai flaconi positivi, 7 mL della coltura sono stati trasferiti in provetta, in condizioni di sicurezza, utilizzando sistemi di prelievo sottovuoto e centrifugati a 5000 rpm per 3 minuti. Dal precipitato sono stati allestiti vetrini che, asciugati all'aria e fissati con metanolo anidro, sono stati colorati con la colorazione di Gram. Contemporaneamente sono state allestite colture in terreni idonei. Si sono confrontati i risultati.

**Risultati.** Sono stati allestiti 57 vetrini; all'esame morfologico tintoriale sono stati osservati 21 cocchi gram positivi, 32 bacilli gram negativi, 1 lievito, 1 vetrino con cocchi gram positivi e bacilli gram positivi (misto) e in 2 vetrini non è stato osservato alcun microrganismo (negativi). Dal confronto con le colture, si è osservata 1 sola discrepanza: mancata rilevazione dei batteri in 1 vetrino (errore minore) con coltura positiva per *S.epidermidis*. La coltura del campione risultò all'osservazione microscopica misto, ha evidenziato *Stafilococco epidermidis* e *Corynebacterium spp.* La concordanza tra la lettura dei 56 vetrini e le colture è stata del 98,25%.

**Conclusioni.** La bassa percentuale di discrepanze ottenuta e il basso impatto nella routine di laboratorio, giustificano l'allestimento di vetrini per la colorazione di Gram direttamente dal flacone di coltura, al fine di impostare una terapia antibiotica in tempi brevi.