

Esprimendo il valore in  $\log_{10}$  abbiamo ottenuto una media di 5.16 con sd 0.26 e cv pari a 5.0.

L'analisi statistica è stata effettuata anche per i risultati raggruppati in base al sistema analitico utilizzato.

**Conclusioni.** I primi risultati hanno consentito di effettuare una valutazione positiva dello stato dell'arte. Particolarmente utile si è dimostrato l'utilizzo di standard internazionali che permettono di confrontare i risultati esprimendoli in UI/ml. L'esperienza fatta evidenzia che anche nel settore della Biologia Molecolare i programmi VEQ sono necessari al fine di una standardizzazione e al miglioramento della qualità dei risultati.

## 133

### ***bla*<sub>ACT2</sub> : UN NUOVO DETERMINANTE DI RESISTENZA DI CLASSE C NELLA SPECIE ENTEROBACTER**

D'Andrea M.M.<sup>1</sup>, Giani T.<sup>1</sup>, Migliavacca R.<sup>2</sup>, Pagani L.<sup>2</sup>, Rossolini G.M.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio FI.BI.M., Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, Siena

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Morfologiche Eidologiche e Cliniche, sezione di Microbiologia, Università di Pavia, Pavia

**Introduzione.** I determinanti di resistenza antibiotica di classe C attivi sui beta-lattamici costituiscono un problema di grande rilevanza per il trattamento delle infezioni nosocomiali. La loro sovrapproduzione infatti è spesso associata a multiresistenza, e la problematica è ulteriormente complicata se alla sovrapproduzione enzimatica è associata anche una ridotta permeabilità di membrana al farmaco.

**Metodi.** In questo lavoro è stato analizzato un isolato clinico multiresistente appartenente alla specie *Enterobacter*, che mostrava un fenotipo di sovrapproduzione di ampC rilevato con metodiche standard. La identificazione a livello di specie è stata effettuata tramite test biochimici, sequenziamento del DNA ribosomiale 16S e del gene *hsp60*. Il determinante di resistenza è stato amplificato tramite PCR, ed il frammento così ottenuto è stato sottoposto a sequenziamento su doppio filamento.

**Risultati.** I risultati di identificazione di specie, effettuata sia con tecniche biochimiche che molecolari, hanno fornito risultati non univoci, ma che comunque hanno portato alla identificazione dell'isolato come appartenente al genere *Enterobacter*. Il sequenziamento dell'amplificato ottenuto con i primers specifici per i determinanti di resistenza di classe C del gruppo ACT/MIR, ha portato all'individuazione di una nuova variante allelica di *bla*<sub>ACT-1</sub>, chiamata *bla*<sub>ACT-2</sub>. *bla*<sub>ACT-2</sub> differisce da *bla*<sub>ACT-1</sub> per 4 nucleotidi mentre, a livello aminoacidico, essa differisce da ACT-1 per 1 aminoacido. *bla*<sub>ACT-2</sub> è stata depositata nel database EMBL con l'*accession number* AM076977.

**Conclusioni.** Il gene *bla*<sub>ACT-2</sub> è stato amplificato da un ceppo clinico appartenente al genere *Enterobacter*. Le analisi biochimiche e molecolari portano alla conclusione che l'isolato è strettamente legato alle specie *sakazakii*, *cloacae* ed *amnigenus* anche se, come per altri casi riportati in letteratura, l'identificazione univoca a livello di specie più risolutiva non è possibile. Determinanti del gruppo ACT/MIR sono stati descritti in ceppi clinici solo sporadicamente e comunque, come si evince dalla letteratura, questa è la prima descrizione in Italia.

## 134

### **CORRELAZIONE TRA VARIANTI ALLELICHE DEI GENI *bla*<sub>OXA-51</sub>-SIMILI E CLONALITÀ IN ACINETOBACTER BAUMANNII**

D'Andrea M.M.<sup>1</sup>, Giani T.<sup>1</sup>, Fina G.<sup>1</sup>, Mereuta A.I.<sup>2</sup>, Migliavacca R.<sup>3</sup>, Pagani L.<sup>3</sup>, Rossolini G.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio FI.BI.M., Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, Siena

<sup>2</sup>Universitatea de Medicină și Farmacie Gr.T. Popa Iasi, Facultatea de Medicină, Disciplina de Microbiologie Medicală

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Morfologiche Eidologiche e Cliniche, sezione di Microbiologia, Università di Pavia, Pavia

**Introduzione.** Stipiti di *Acinetobacter baumannii* multiresistenti costituiscono un grave problema nelle infezioni nosocomiali. In tutto il mondo sono state descritte epidemie ospedaliere dovute a tale microrganismo che è divenuto endemico in alcune aree geografiche. La comparazione di isolati collezionati da differenti autori non è di semplice esecuzione principalmente poiché richiede lo scambio di isolati tra differenti laboratori e la standardizzazione della tecnica di genotipizzazione impiegata.

Recentemente i determinanti di tipo *bla*<sub>OXA-51</sub> simili sono stati proposti come un buon marcatore per l'identificazione di specie, in alternativa a precedenti metodologie molecolari. L'obiettivo di questo studio è stato quello di analizzare la correlazione tra i determinanti residenti di tipo *bla*<sub>OXA-51</sub> simili e i genotipi in una collezione di isolati clinici di *A. baumannii*.

**Metodi.** In questo lavoro sono stati analizzati 155 isolati clinici ottenuti da 15 differenti ospedali. L'identificazione ed i test sulla suscettibilità antibiotica sono stati eseguiti seguendo le procedure standard. La genotipizzazione è stata effettuata attraverso le tecniche di RAPD e PFGE. La rilevazione dei determinanti OXA-51 simili è stata effettuata tramite PCR seguita da sequenziamento su doppio filamento.

**Risultati.** Entrambe le tecniche di genotipizzazione utilizzate hanno portato all'identificazione di 5 gruppi principali di *A. baumannii*. Ciascun gruppo è caratterizzato da uno specifico gene residente di tipo *bla*<sub>OXA-51</sub> simile. Sono state descritte 3 nuove varianti alleliche.

**Conclusioni.** È stata trovata una stretta corrispondenza tra la variante *bla*<sub>OXA-51</sub> simile ed il genotipo di appartenenza di ogni isolato. I risultati ottenuti suggeriscono quindi che la tipizzazione dei determinanti di resistenza *bla*<sub>OXA-51</sub> simili può essere un valido strumento per la rapida genotipizzazione di isolati clinici di *A. baumannii*.

## 135

### **PSEUDOMONAS AERUGINOSA PRODUTTORE DELLA METALLO- $\beta$ -LATTAMASI IMP-13 IN UN PAZIENTE AFFETTO DA FIBROSI CISTICA**

Fiscarelli E.<sup>1</sup>, Lucidi V.<sup>1</sup>, Concato C.<sup>1</sup>, Pollini S.<sup>2</sup>, Mugnaioli C.<sup>2</sup> e Rossolini G.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fibrosi Cistica, Ospedale Bambin Gesù, Roma, Italia.

<sup>2</sup>Sezione di Microbiologia, Dip. di Biologia Molecolare, Università di Siena, Italia.

**Introduzione.** *Pseudomonas aeruginosa* è il più importante