

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE E SUSCETTIBILITÀ AI FARMACI ANTIMICROBICI DI ISOLATI CLINICI DI CLOSTRIDIUM DIFFICILE DA PAZIENTI OSPEDALIZZATI

S. D'arezzo¹, A. Vulcano¹, E. Bordi¹, C. De Giuli¹, C. Venditti¹, E. Zambelli¹, A. Mazzarelli¹, O. Butera¹, A. Piscini¹, C. Nisii¹, M.G. Paglia¹, M. Musso¹, N. Petrosillo¹, A. Di Caro¹

¹INMI "Lazzaro Spallanzani", Roma

INTRODUZIONE

L'incidenza di infezione da Clostridium difficile (CDI) è in aumento. La terapia antimicrobica standard si basa sull'uso di metronidazolo o vancomicina, antibiotici verso i quali è stata di recente descritta la comparsa di resistenza. In Italia i dati sui profili di antibiotico suscettibilità di CDI sono scarsi. Lo scopo di questo studio è stato quello di determinare l'antibiotico suscettibilità in isolati clinici di C. difficile e di correlare i profili fenotipici ottenuti con i cloni molecolari circolanti.

METODI

Da gennaio a giugno 2015, 330 campioni fecali ottenuti da pazienti con diarrea con sospetto di CDI sono stati saggiati con il test rapido per lo screening del glutammato deidrogenasi (GHD), un marker per C. difficile, e per le tossine A/B (C.COMPLETE DIFF QUIK CHEK, Alere). I campioni positivi sono stati messi in coltura utilizzando piastre cromogene selettive (bioMérieux). Le colonie sono state identificate con l'analisi MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption – Time of Flight) (Bruker Daltonics). I saggi di sensibilità antimicrobica sono stati eseguiti con il metodo di diffusione (E-test). Le MIC sono state interpretate secondo le linee guida dell'EUCAST e quando non disponibili quelle del CLSI. Per la tipizzazione molecolare è stato utilizzato il metodo rep-PCR con lo strumento DiversiLab (bioMérieux).

RISULTATI

Dei 330 campioni saggiati, 60 erano positivi con il test immunologico rapido (18,2%). Di questi, 20 erano selezionati per la coltura e la valutazione dell'antibiotico suscettibilità. Tutti gli isolati erano sensibili ai seguenti antibiotici: vancomicina, teicoplanina, metronidazolo, amoxicillina/acido clavulanico, tetraciclina, meropenem, tigeciclina. Al contrario, si osservava 100% di resistenza ai fluorochinoloni (ciprofloxacina e levofloxacina) e un profilo intermedio o resistente all'imipenem. Inoltre, si riscontrava una riduzione di sensibilità alla clindamicina e al trimetoprim/sulfametossazolo (45% di isolati resistenti). Per tre antibiotici (eritromicina, rifampicina e moxifloxacina) si evidenziava una distribuzione bimodale; un gruppo (8 isolati) era sensibile, l'altro (12 isolati) era francamente resistente. La tipizzazione molecolare indicava la circolazione di due principali cloni all'interno dell'ospedale. È interessante notare che i due gruppi distinti nel profilo fenotipico corrispondevano ai due cloni osservati con la rep-PCR.

CONCLUSIONI

I risultati di antibiotico suscettibilità ottenuti per C. difficile confermano una completa sensibilità al metronidazolo e alla vancomicina, antibiotici di riferimento nel trattamento delle CDI. L'alta percentuale di resistenza ai fluorochinoloni (60% per moxifloxacina, 100% per ciprofloxacina e levofloxacina) è probabilmente correlata all'ampio utilizzo di questi antibiotici nel nostro paese. In questo studio abbiamo osservato che la resistenza alla moxifloxacina è associata alla resistenza all'eritromicina e alla rifampicina e ad un distinto profilo rep-PCR. Ci proponiamo di studiare l'intera sequenza del genoma di ceppi selezionati per individuare i meccanismi molecolari di resistenza alla base delle differenze osservate.