

**IDENTIFICAZIONE E RICERCA GENI DI RESISTENZA IN BATTERI GRAM NEGATIVI DA EMOCOLTURA**

C. Venditti<sup>1</sup>, A. Vulcano<sup>1</sup>, O. Butera<sup>1</sup>, S. D'arezzo<sup>1</sup>, A. Piscini<sup>1</sup>, A. Mazzarelli<sup>1</sup>, C. Nisii<sup>1</sup>, E. Bordi<sup>1</sup>, M.G. Paglia<sup>1</sup>, A. Di Caro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INMI "L. Spallanzani" Roma

**INTRODUZIONE**

Le infezioni sistemiche causate da enterobatteri resistenti ai carbapenemi costituiscono una rilevante causa di morbilità e mortalità. Decisiva ai fini prognostici è la tempestività di una terapia mirata. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'utilizzo della spettrometria di massa MALDI-TOF associata a PCR multiplex real-time (RT-PCR) nella ricerca delle classi più diffuse di geni codificanti carbapenemasi e beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL).

**METODI**

Nel periodo dicembre 2014-giugno 2015 sono state selezionate 33 emocolture positive per batteri Gram-negativi. Gli isolati sono stati identificati con metodiche standard e con il sistema MALDI-TOF (Bruker Daltonics), che applica direttamente all'emocoltura un protocollo di estrazione fornito dalla ditta produttrice. L'identificazione di resistenza batterica è stata eseguita con il sistema automatico VITEK 2 System (BioMerieux). Una RT-PCR (Progenie Molecular) è stata utilizzata per saggiare i geni codificanti per le carbapenemasi KPC, VIM, NDM e OXA-48 e per le ESBL CTX-M di gruppo 1, 2 e 9. Il DNA batterico è stato estratto direttamente da emocoltura con il sistema automatico Qiacube (QIAGEN), utilizzando un protocollo "in-house".

**RISULTATI**

Delle 33 emocolture analizzate con il sistema VITEK 2 System, 20 risultavano positive per *Escherichia coli*, 7 per *Klebsiella pneumoniae*, 5 per *Pseudomonas aeruginosa* e 1 per *Acinetobacter baumannii*. Tutte le specie batteriche identificate erano confermate dal sistema MALDI-TOF con score compresi tra 1,9-2,5. Per quanto riguardava la rilevazione delle resistenze batteriche, in 28/33 (85%) campioni di emocolture testati si osservava accordo tra i test fenotipici e quelli molecolari. 11/33 campioni risultavano sensibili a tutti gli antibiotici saggiati e negativi per i geni di resistenza ricercati. 12 isolati batterici erano resistenti alle cefalosporine e positivi ai geni CTX-M. In particolare, 6 *E. coli* e 3 *K. pneumoniae* erano positivi ai geni CTX-M di gruppo 1, e 3 *E. coli* a CTX-M di gruppo 9. Nessun isolato batterico presentava i geni CTX-M di gruppo 2. Le carbapenemasi riscontrate sono state 2 KPC e 1 OXA-48 in *K. pneumoniae* e 2 VIM rispettivamente in un ceppo di *K. pneumoniae* e *A. baumannii*. La presenza delle carbapenemasi in questi ceppi era correlata ad un profilo di antibiotico-resistenza. Gli unici risultati discordanti si osservavano nei 5 isolati di *P. aeruginosa* nei quali, nonostante il profilo di antibiotico-resistenza, non si rilevava nessun gene associato.

**CONCLUSIONI**

Nella nostra esperienza il sistema MALDI-TOF si è dimostrato un mezzo valido per l'identificazione rapida di batteri gram negativi isolati da emocolture.

Affiancando a tale metodo la RT-PCR abbiamo potuto rilevare rapidamente i più comuni marker di resistenza. Tuttavia le due metodiche devono essere utilizzate nell'ambito di algoritmi diagnostici complessi che includano di norma anche i test classici di farmaco resistenza.