

Indicazioni per lo *screening* colturale dei pazienti colonizzati da Enterobatteri produttori di carbapenemasi

1. Premessa

L'attuazione di programmi di sorveglianza attiva finalizzati a prevenire la diffusione di ceppi di Enterobatteri produttori di carbapenemasi rappresenta ormai una necessità anche nel nostro Paese. I Laboratori di Microbiologia Clinica, necessariamente coinvolti come attori principali in tali programmi, hanno la necessità di individuare modalità tecnico-operative efficaci ma anche sostenibili in termini di carico di lavoro.

Lo *screening* dei pazienti colonizzati può essere efficacemente effettuato mediante esame colturale di un campione prelevato con tampone in sede rettale¹⁻², pur essendovi la possibilità di colonizzazione anche a livello orale, respiratorio, urinario.

La selezione dei pazienti da sottoporre a tale *screening* così come la sua frequenza possono variare a seconda del programma di sorveglianza adottato, in funzione dei diversi contesti epidemiologici e organizzativi locali.

Questo documento ha l'obiettivo di fornire ai Laboratori di Microbiologia Clinica indicazioni sulle diverse possibilità metodologiche per l'esame colturale del tampone rettale.

2. Semina diretta su terreno selettivo con dischetti

Il tampone viene dapprima ruotato e direttamente strisciato sulla superficie di un terreno agarizzato selettivo per bacilli aerobi Gram negativi³. Nell'area di semina più densa viene quindi deposto un dischetto di meropenem (10 µg).

Saranno considerate sospette le colonie con morfologia tipica per *Enterobacteriaceae* che risultino crescere all'interno dell'alone di inibizione della crescita batterica ovvero nell'area corrispondente ad un alone di inibizione con diametro ≤ 30 mm.

E' questa la metodica più diffusamente utilizzata e presenta i seguenti vantaggi:

- lettura dei risultati dopo 16-20 ore e possibilità dunque di comunicare con tempestività al reparto un risultato presuntivamente positivo; in caso di esito negativo sarà opportuno effettuare una seconda lettura dei terreni dopo un periodo di incubazione di ulteriori 24 ore
- facile riconoscimento delle colonie sospette e conseguente contenimento dell'utilizzo dei test di conferma comunque necessari per la conferma della produzione di carbapenemasi⁴
- possibilità di riconoscere campioni raccolti in modo insufficiente o inadeguato qualora non si osservi crescita batterica in pazienti non sottoposti a terapia antibiotica
- costi molto contenuti.

L'aggiunta di un secondo dischetto di meropenem addizionato di acido fenilboronico, se ritenuta conveniente, potrebbe consentire il contestuale riconoscimento della produzione di enzimi del tipo KPC⁵ ed evitare dunque la necessità di test di conferma in caso di risultato positivo.

3. Semina su terreni cromogeni

Devono essere utilizzati terreni cromogeni specifici per la ricerca di batteri con scarsa sensibilità ai carbapenemi⁶.

Questa tipologia di terreni presenta il vantaggio della facilità nel riconoscimento delle colonie sospette e nella identificazione presuntiva di specie, anche se sensibilità e specificità sono da valutarsi in relazione al terreno utilizzato.

Le colonie devono comunque essere caratterizzate con identificazione definitiva ed antibiogramma e dunque terreni cromogeni con bassa specificità possono implicare il rischio di un eccessivo utilizzo dei test aggiuntivi e, soprattutto, comportare un ritardo nella comunicazione dell'esito positivo.

4. Semina previo arricchimento

E' la metodica consigliata dal CDC⁷ e prevede la semina del tampone rettale in 5 ml di Tryptic Soy Broth addizionato con un dischetto di ertapenem o meropenem 10 µg (concentrazione finale 2 µg/ml), seguita da incubazione a 35°C in aria ambiente per 18 ore e successiva semina di 100 µl della brodo coltura su agar McConkey (incubato anch'esso a 35°C in aria ambiente per 24-48 ore) seguita da identificazione, antibiogramma e test di conferma per la produzione di carbapenemasi.

Questa metodica, ancorchè molto sensibile, comporta tempi lunghi per la comunicazione dell'esito positivo (almeno 72 ore dopo l'esecuzione del tampone⁸) oltre ad un maggiore carico di lavoro per il laboratorio.

5. Caratterizzazione degli isolati sospetti

Le colonie evidenziate come "sospette" utilizzando una delle tre metodiche sopra descritte dovranno essere caratterizzate con identificazione, antibiogramma ed eventuali test fenotipici o genotipici^{4,8}.

Ovviamente nel caso in cui per il paziente fosse già nota la colonizzazione da parte di un ceppo produttore di carbapenemasi, ulteriori caratterizzazioni dello stesso ceppo potranno risultare opzionali.

Bibliografia

1) Calfee D., Jenkins S.G. "Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients." *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 966-8

- 2) Adler A., Navon-Venezia S., Moran-Gilad J., Marcos E., Schwartz D., Carmeli Y. "Laboratory and clinical evaluation of screening agar plates for detection of carbapenem-resistant enterobacteriaceae from surveillance rectal swabs." J Clin Microbiol 2011; 49: 2239-2242
- 3) Landman D., Salvani J.K., Bratu S., Quale J. "Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures." J Clin Microbiol 2005;43: 5639-5641.
- 4) Documento CoSA-AMCLI "Indicazioni per la conferma fenotipica della produzione di carbapenemasi nelle Enterobacteriaceae" 2012
<http://www.amcli.it/1Mail/2Lavoro/DbVisibile/Home.asp>
- 5) Giani T., Tascini C., Arena F., Ciullo I., Conte V., Leonildi A., Menichetti F. Rossolini G.M. "Rapid detection of intestinal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing KPC carbapenemase during an outbreak" J Hosp Infection 2012; 81: 119-122
- 6) Samra Z., Bahar J., Madar-Shapiro L., Aziz N., Israel S., Bishara J. "Evaluation of CHROMagar KPC for rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae." J Clin Microbiol 2008; 46: 3110-3111.
- 7) CDC "Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from Rectal Swabs"
http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/lab_settings.html
- 8) Nordmann P., Gniadkowski M., Giske C. G., Poirel L., Woodford N., Miriagou V. " Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae" Clin Microbiol Infect 2012; 18:432-438.

Comitato di Studio AMCLI per gli Antimicrobici (CoSA)

Francesco Luzzaro, Laura Pagani, Gian Maria Rossolini,
Mario Sarti, Stefania Stefani, Pietro Emanuele Varaldo

con la collaborazione di

Fabio Arena, Gioconda Brigante, Tommaso Giani,
Floriana Gona, Roberta Migliavacca, Claudia Venturelli

Comitato di Studio AMCLI per le Infezioni correlate alla Assistenza Sanitaria (CoSIAS)