

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA

Dipartimento di Scienze Clinico Chirurgiche,
Diagnostiche e Pediatriche

Master di II Livello in “Diagnostica Microbiologica Avanzata”

I NUOVI TEST IMMUNOCROMATOGRAFICI PER LA
DETERMINAZIONE RAPIDA DEI MARCATORI DI
RESISTENZA NEGLI ENTEROBATTERI E IL LORO
RUOLO NELLA GESTIONE DEL PAZIENTE CRITICO

Tutor: Dott.ssa Patrizia Cambieri

Studente: Federica Pascali

Anno Accademico 2017/2018

RESISTENZA ANTIMICROBICA

- ❖ Un grande problema per la salute pubblica
- ❖ Diffusione dei meccanismi di resistenza negli ospedali e in comunità → controllo delle infezioni
- ❖ Infezioni causate da microrganismi multiresistenti
- ❖ Ricoveri di maggior durata, aumento della morbilità, della mortalità e dei costi sanitari
- ❖ Opzioni terapeutiche limitate

ENTEROBATTERI

E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, Shigella, Salmonella, Proteus e Yersinia

- ❖ Tra i **più comuni patogeni umani** → infezione delle vie urinarie, setticemia, polmonite, meningiti e infezioni associate a ferite chirurgiche o a dispositivi

RESISTENZA ANTIMICROBICA

Resistenza ai β lattamici

❖ Produzione di β lattamasi a spettro esteso

- ESBL → **resistenza di tipo CTX-M**
- Tra i ceppi ESBL-positivi:
 - ***K. pneumoniae***
 - ***E. coli***
 - ***P. mirabilis***
- Isolati in ambienti ospedalieri e comunitari
- **Resistenti a tutti i beta-lattamici estesi**, come le cefalosporine
- Principale opzione di **trattamento i carbapenemi** → costi maggiori e rischio di espansione di ceppi resistenti ai carbapenemi

❖ Produzione di carbapenemasi

Classe A → **KPC**

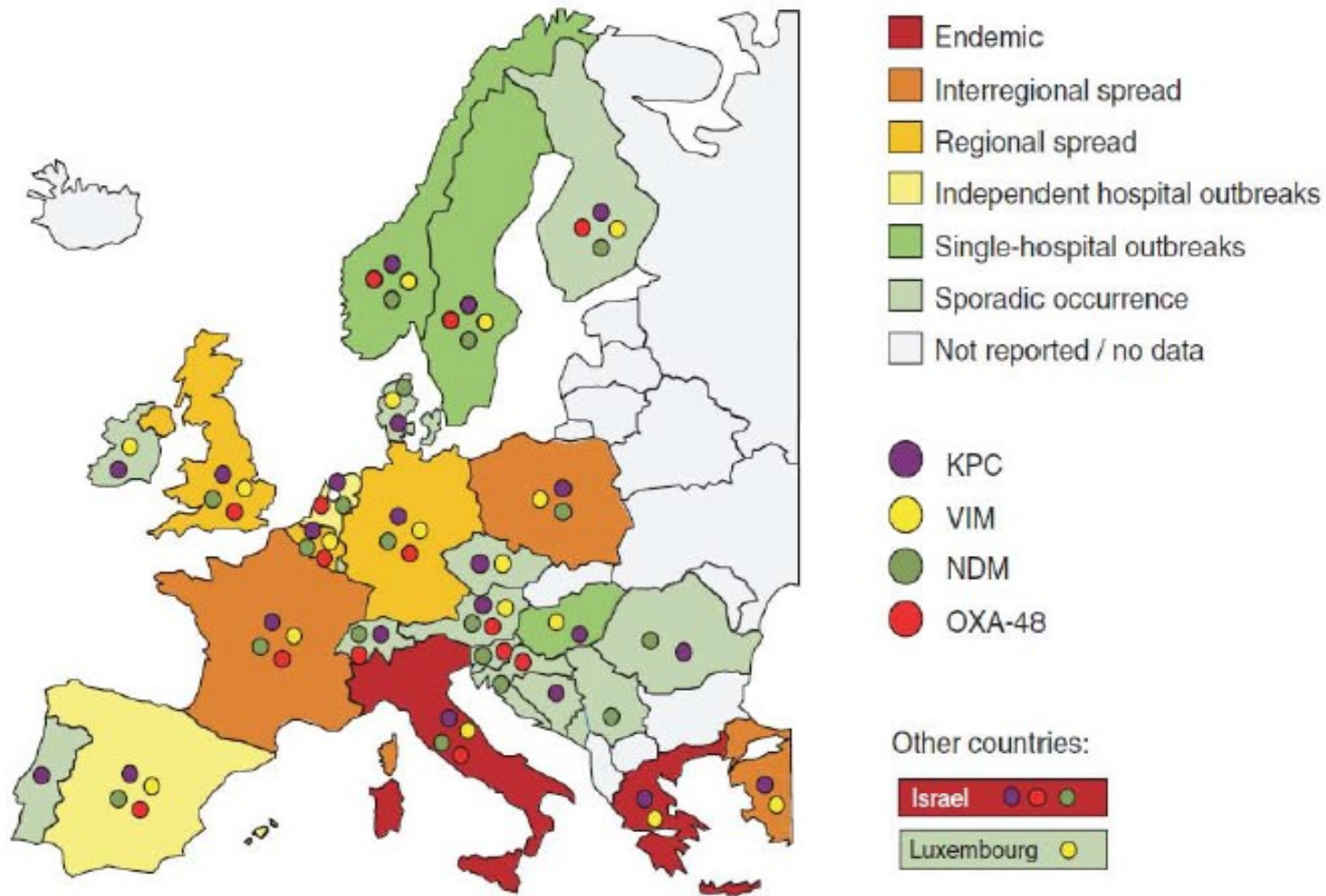
Classe B → **MBL (VIM, IMP, NDM)**

Classe C

Classe D → **OXA**

- **CPE: Enterobatteri produttori di carbapenemasi**
- **Resistenti a quasi tutti i β -lattamici, inclusi i carbapenemi**
- Altri determinanti di resistenza non ai β -lattamici: **multiresistenza**
- Problema globale di **dispersione interspecie** → **resistenza trasferibile**, alto livello di resistenza, episodi endemici di grandi dimensioni

Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe



Clin Microbiol Infect 2012; **18**: 413–431

SCOPO DEL LAVORO

Approccio diagnostico: i **nuovi test immunocromatografici su card**, basati su **anticorpi monoclonali**, per l'identificazione rapida di alcune tipologie selezionate di resistenza negli enterobatteri

→ **CTX-M, KPC, VIM, IMP, NDM, OXA**

❖ **Sorveglianza attiva** di pazienti ricoverati in reparti critici mediante screening (ingresso, ogni 7 gg) di tamponi rettali per la ricerca di Gram-negativi MDR

→ **controllo della diffusione delle resistenze antimicrobiche** e attuazione tempestiva di azioni adeguate

❖ **Rilevazione rapida dei marcatori di resistenza** in microrganismi isolati da emocoltura

→ **terapia antibiotica appropriata** per ottimizzare la gestione clinica del paziente settico

RESISTENZA ANTIMICROBICA: SORVEGLIANZA ATTIVA NEI REPARTI CRITICI

Terapia intensiva: elevato rischio di infezioni → epicentro della **creazione, diffusione e amplificazione delle resistenze antimicrobiche** per la comparsa di nuove mutazioni e la selezione dei ceppi resistenti

Fattori di rischio

ospedalizzazione prolungata,
riduzione delle difese,
uso di dispositivi invasivi e/o permanenti,
interventi chirurgici,
farmaci che riducono i riflessi della tosse e della deglutizione
o modificano la normale flora batterica non patogena,
uso precedente di antimicrobici,
uso eccessivo di agenti antimicrobici ad ampio spettro

Screening rapido ed accurato degli enterobatteri produttori di carbapenemasi (CPE) tramite processazione dei **tamponi rettali**

→ **terreno cromogeno** CHROMID Carba: identificazione presuntiva

→ **i test immunocromatografici** e/o i test fenotipici: conferma di CPE

RESISTENZA ANTIMICROBICA

nel paziente settico

Diagnostica delle **infezioni del torrente circolatorio**

➔ **Emocultura** tradizionale: tempi molto lunghi

➤ **Test immunocromatografici** per **l'identificazione rapida di eventuali marcatori di resistenza da colonia isolata o direttamente da emocultura positiva**: forniscono un dato preliminare importante, anticipando di 12-24 ore la scelta di un **intervento terapeutico ottimale**

➤ Criteria di appropriatezza della terapia antibiotica:

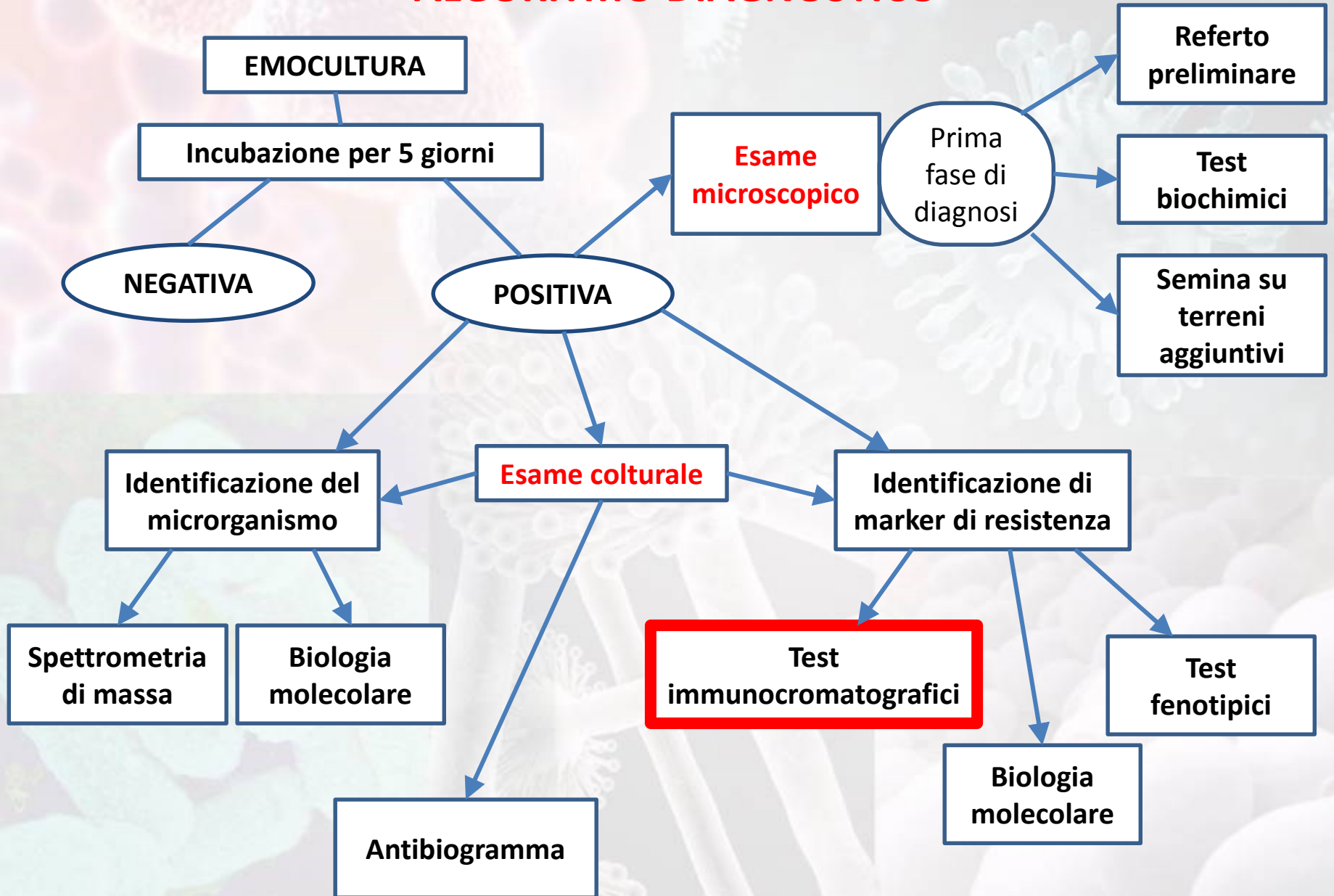
dose,

minore tossicità,

spettro più stretto,

scelta di un antibiotico al quale il patogeno sia sensibile

ALGORITMO DIAGNOSTICO



TEST IMMUNOCROMATOGRAFICI

si basano su **anticorpi monoclonali** diretti contro i marcatori di resistenza selezionati

PRO

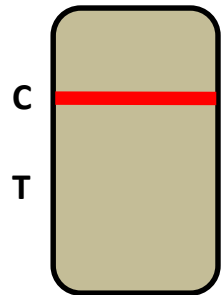
- facile esecuzione
- controllo positivo
- alta sensibilità
- alta specificità
- rapidità → 15 minuti
- **anticipano di 12-24 ore i risultati dei test fenotipici**
- basso costo
- applicabili in qualsiasi contesto

CONTRO

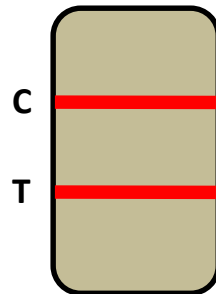
- test qualitativo
→ presenza/assenza
- non identifica meccanismi di resistenza non testati
- test negativo
→ enzimi di resistenza a livelli non rilevabili
- test di conferma: test di sensibilità in MIC e test fenotipici

TEST RAPIDO PER LA RILEVAZIONE DELLE B LATTAMASI CTX-M DI GRUPPO 1
TEST RAPIDO PER LA RILEVAZIONE DELLE CARBAPENEMASI KPC

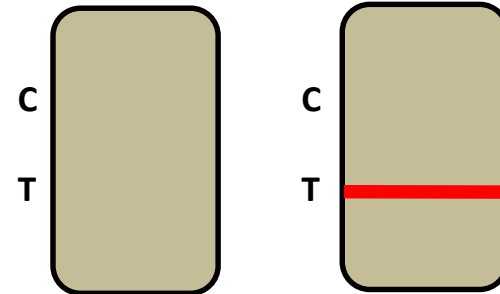
Risultato negativo



Risultato positivo

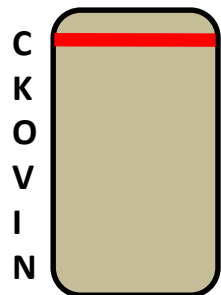


Risultati NON validi

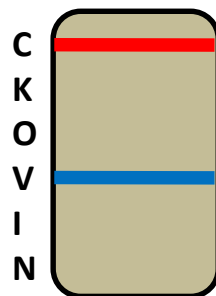


TEST RAPIDO PER LA RILEVAZIONE DI 5 DIVERSE CARBAPENEMASI: KPC, VIM, IMP, NDM, OXA

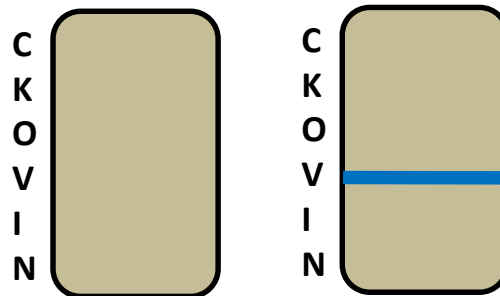
Risultato negativo



Risultato positivo per VIM



Risultati NON validi



TEST FENOTIPICI DI CONFERMA

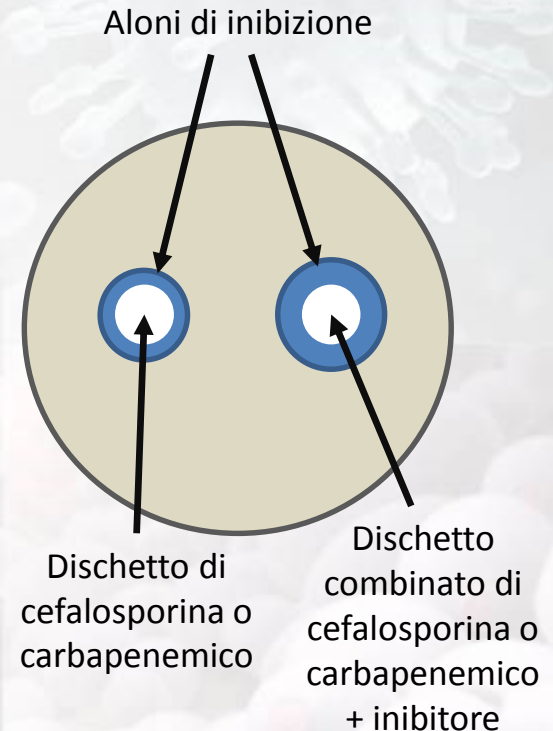
Disco diffusione: test combinazione su dischetto

- ❑ Rilevazione dei **produttori di ESBL** tramite test di sinergia con **clavulanato**
- ❑ Rilevazione dei **produttori di KPC** tramite test di sinergia con **acido boronico**
- ❑ Rilevazione dei **produttori di MBL** tramite in test di sinergia con **EDTA o DPA**

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Confronto tra gli aloni di inibizione prodotti dai due dischi di antibiotico+inibitore e del solo antibiotico

- ➔ una **differenza ≥ 5 mm** nel diametro della zona di inibizione: test positivo per ESBL
- ➔ una **differenza ≥ 4 mm** nel diametro della zona di inibizione: test positivo per KPC
- ➔ una **differenza ≥ 5 mm** nel diametro delle zone di inibizione: test positivo per MBL



CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

- ❑ Vantaggiosa applicazione dei **test immunocromatografici** per la ricerca di **marcatori di resistenza**, quali CTX-M, KPC, VIM, IMP, NDM, OXA negli enterobatteri
 - ❑ **Diagnostica rapida ed affidabile**
 - ❑ **Prevenzione e controllo delle infezioni** → interventi per ridurre la diffusione delle resistenze e salvaguardare la salute pubblica
 - ❑ **Terapia antimicrobica appropriata** → uso efficace degli antibiotici: limitare l'uso improprio dei farmaci che favorisce lo sviluppo di nuove resistenze
 - ❑ Significativi **miglioramenti degli esiti clinici e finanziari**: riduzione della durata del ricovero ospedaliero, della mortalità e dei costi ospedalieri
- ❑ Possibilità di ampliare tali esami diagnostici con lo scopo di utilizzarli per la **ricerca di altri marcatori di resistenza**.

Grazie per l'attenzione

RINGRAZIAMENTI

Master in Diagnostica Microbiologica Avanzata

Docenti di riferimento

Dott.ssa Laura Pagani

Dott. Fausto Baldanti

Dott.ssa Roberta Migliavacca

Tutor

Dott.ssa Patrizia Cambieri

Segreteria

Daniela Sartori

Con il patrocinio di:

