

# VALUTAZIONE DELLE PERFORMANCE DEL TEST AD FOSFOMYCIN IN ISOLATI CLINICI DI *ENTEROBACTERALES* MULTIRESISTENTI

E.M. Parisio<sup>1</sup>, G. Camarlinghi<sup>1</sup>, M. Coppi<sup>2</sup>, C. Niccolai<sup>2</sup>, A. Antonelli<sup>2</sup>, M. Nardone<sup>1</sup>, C. Vettori<sup>1</sup>, F. Brocco<sup>3</sup>, F. Demetrio<sup>3</sup>, F.C. Agostino<sup>1</sup>, G.M. Rossolini<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Analisi Chimico Cliniche P.O. San Luca, Azienda UsI Nord Ovest, Lucca  
<sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze  
<sup>3</sup> Liofilchem srl, Roseto degli Abruzzi, Teramo  
<sup>4</sup> Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi

## INTRODUZIONE-SCOPO

Le infezioni causate da *Enterobacteriales* multiresistenti, in particolare ceppi produttori di carbapenemasi (CPE) di tipo KPC, NDM e VIM, rappresentano in Italia un'emergenza per la salute pubblica a causa delle limitate opzioni terapeutiche (1). Attualmente è in corso un'epidemia di *Enterobacteriales* produttori di NDM nella Regione Toscana (2). La fosfomicina è un antibiotico ad ampio spettro utilizzato come ultima risorsa in caso di infezioni da CPE. In letteratura è riportato che alcune metodiche commerciali per la determinazione della MIC per *Enterobacteriales* multiresistenti presentano risultati discordanti ed inaffidabili rispetto alla metodica di riferimento in agar diluizione (3). Lo scopo di questo lavoro è stato la valutazione delle performance del primo test in commercio in agar diluizione per fosfomicina (AD Fosfomicin, Liofilchem), rispetto alla metodica di riferimento, in una collezione di *Enterobacteriales* multiresistenti produttori di carbapenemasi.

## MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati 108 ceppi di *Enterobacteriales* produttori di carbapenemasi di tipo KPC (n=57), NDM (n=45), VIM (n=5) e OXA-48 (n=1) isolati da emocolture (n=52), urino-colture (n=27), materiali respiratori (n=6), materiali vari (n=8) e tamponi rettali (n=15). Tutti i ceppi sono stati confermati come produttori di KPC, NDM, VIM e OXA-48 tramite PCR Real Time. I risultati del test di sensibilità alla fosfomicina eseguiti tramite agar diluizione di riferimento sono stati confrontati con quelli ottenuti con il test AD Fosfomicin. Il test è stato eseguito secondo le istruzioni del produttore ed i risultati ottenuti sono stati interpretati secondo i criteri di EUCAST. Category agreement (CA), Major Error (ME), Very Major Error (VME) ed Essential Agreement (EA) sono stati valutati secondo le linee guida ISO 20776-2:2007.

SPECIE BATTERICA	MECCANISMO DI RESISTENZA	N. ISOLATI	AD Reference		AD Fosfomicin			
			S	R	CA	EA	ME	VME
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC	57	48 (84%)	9 (16%)	79%	96%	25%	0%
	NDM	27	24 (89%)	3 (11%)	100%	96%	0%	0%
	VIM	5	5 (100%)	0 (0%)	100%	-*	0%	0%
	OXA-48	1	0 (0%)	1 (100%)	100%	-*	-	-
<i>Escherichia coli</i>	NDM	15	15 (100%)	0(0%)	93%	-**	7%	0%
Altre specie*	NDM	3	2(67%)	1(33%)	100%	-*	0%	0%
TOT.		108	107 (93.5%)	7 (6.5%)	88%	96%	13%	0%

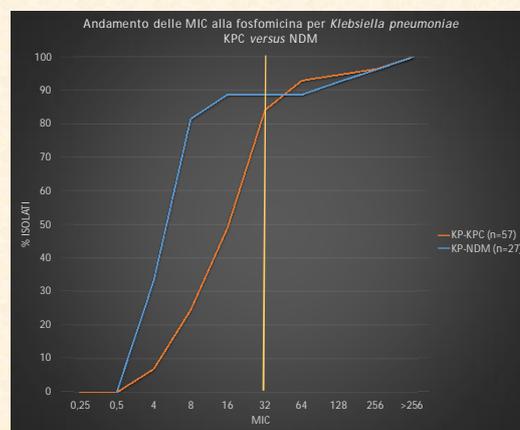


Grafico 1: Distribuzione dei valori di MIC alla fosfomicina ottenuti con metodica in agar diluizione di riferimento

Tabella 1: Valutazione della performance del test AD Fosfomicin rispetto alla metodica in agar diluizione di riferimento (\*l'EA non è stato calcolato per i gruppi di batteri in numero inferiore a 10) (\*\* la maggior parte dei *E.coli* ha mostrato una MIC alla fosfomicina in AD di riferimento <=0,25 mg/L, non utilizzabile per il calcolo di EA)

AD Reference (KPC)	≤0,25/2	4	8	16	32	64	128	256	>256
≤0,25/2	3	9							
4		1	1						
8									
16									
32									
64									
128									
256									
>256									

Figura 1: Distribuzione dei valori di MIC di *Klebsiella pneumoniae* di tipo KPC alla fosfomicina ottenuti con metodica AD Fosfomicin

AD Reference (NDM)	≤0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
≤0,25	3	9										
0,5		1	1									
1												
2												
4												
8												
16												
32												
64												
128												
256												
>256												

Figura 2: Distribuzione dei valori di MIC di *Klebsiella pneumoniae* di tipo NDM alla fosfomicina ottenuti con metodica AD Fosfomicin

## RISULTATI

L'87% dei ceppi testati è risultato sensibile alla fosfomicina utilizzando la metodica di riferimento in agar diluizione. Il test AD Fosfomicin ha mostrato rispettivamente il 97%, l'88%, l'11% e lo 0% di EA, CA, ME e VME, rispetto alla metodica di riferimento. L'analisi dei dati per i soli ceppi di tipo NDM (11% di resistenti) mostra un EA del 96%, CA del 100%, un ME ed un VME dello 0%. I risultati sugli isolati di KPC (16% di resistenti) mostrano un EA del 96%, CA del 79%, un ME del 25% ed un VME dello 0%. I dati, come riportato in tabella 1, sono stati analizzati suddividendo le specie batteriche studiate in base al meccanismo di resistenza ai carbapenemi. Nel grafico 1 viene riportata la distribuzione delle MIC alla fosfomicina per KP-KPC e KP-NDM. L'80% dei ceppi KP-NDM presentano una MIC di 8 mg/L mentre l'84% dei ceppi di KP-KPC risultano avere una MIC al breakpoint di 32 mg/L. Nelle figure 1 e 2 vengono riportate le distribuzioni dei valori di MIC per KP-KPC e per KP-NDM ottenute con la metodica AD Fosfomicin rispetto alla metodica di riferimento in agar diluizione.

## CONCLUSIONI

I dati presentati indicano che il test AD Fosfomicin ha un'ottima correlazione rispetto alla metodica di riferimento per i ceppi NDM. Ulteriori test e uno studio più approfondito saranno necessari per valutare la performance del test con i ceppi KP-KPC per la presenza di numerosi valori di MIC vicini al breakpoint.

**BIBLIOGRAFIA**  
 1. Giani T, Antonelli A, Caltagirone M, Mauri C, Nicchi J, Arena F, et al. Evolving beta-lactamase epidemiology in Enterobacteriaceae from Italian nationwide surveillance, October 2013: KPC-carbapenemase spreading among outpatients. Euro Surveill 2017;22. [pii: 30583].  
 2. RAPID RISK ASSESSMENT Regional outbreak of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, Italy, 2018–2019  
 3. Camarlinghi G, Parisio EM, Antonelli A, et al. Discrepancies in fosfomicin susceptibility testing of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* with various commercial methods. In press: Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases 2018.