



IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO



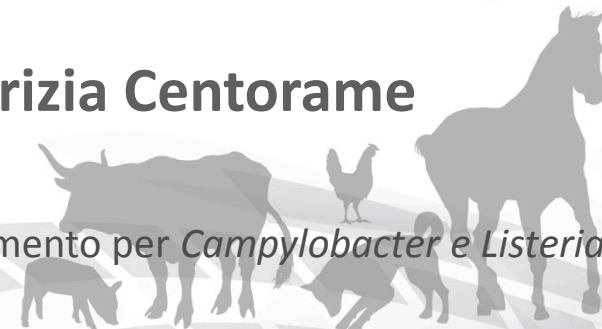
*Listeria monocytogenes*


National Reference Laboratory

**Determinazione della sensibilità agli antimicrobici di *Listeria monocytogenes* con il metodo della micro-diluizione in brodo**

**Patrizia Centorame**

**Teramo 15-16 dicembre 2015: Workshop I Laboratori Nazionali di Riferimento per *Campylobacter* e *Listeria monocytogenes*.**






I primi ceppi di *Listeria monocytogenes* resistenti agli antibiotici sono stati isolati in Francia nel 1988.

- Una terapia antibiotica adeguata per la listeriosi rappresenta un problema di salute pubblica data la letalità di *Listeria monocytogenes* in più del 30% dei casi clinici.



# Sensibilità agli antibiotici e *Listeria spp.*



I batteri appartenenti al genere *Listeria* sono suscettibili ad un ampio numero di antibiotici ad eccezione delle cefalosporine e fosfomicine.

- Attualmente il trattamento di prima scelta nell'uomo è costituito dalla somministrazione di ampicillina o penicillina G combinate con un aminoglicoside come gentamicina (Granier SA et al 2011).
- L'associazione di trimethoprim/sulfamethoxazole è la seconda scelta.



# Criteri di riferimento CLSI


- Nelle linee guida fornite da CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) USA, riguardo a *Listeria monocytogenes* sono riportati i break-point per Penicillina G, Ampicillina e trimethoprim/sulfamethoxazole.
- Per gli altri antibiotici sono stati adottati i break-points calcolati per gli Enterococchi o per gli Streptococchi.



# Criteri di riferimento EUCAST

- Nel mese di Gennaio 2012, per i ceppi clinici, è stato introdotto il nuovo standard EUCAST (**European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**)
- Per l'interpretazione dei saggi di sensibilità agli agenti antimicrobici in sostituzione del sistema USA CLSI in precedenza adottato dai Laboratori italiani e attualmente ancora utilizzato per i ceppi clinici veterinari.





Nel corso del 2015 il LNR Lm in collaborazione con il CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER L'ANTIBIOTICORESISTENZA dell'IZS LT di Roma ha messo a punto una piastra a 96 pozzetti con 12 antibiotici

- Sono stati inserite nei pozzetti le concentrazioni di antimicrobici per soddisfare i criteri riportati nei break-point EUCAST ed i relativi istogrammi di distribuzione delle MIC per ciascun antibiotico scelto relativamente al patogeno *Listeria monocytogenes*.



## SENSITITRE CUSTOM PLATE FORMAT

2011140914

Plate Code: **ITIZSL**

Date: **23-Jul-15**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	DAP 0.12	ERY 0.06	LZD 0.12	MERO 0.015	P/T4 0.12/4	AMP 0.015	AMP 4	PEN 0.015	PEN 4	TET 0.06	SXT 0.002/0.04	SXT 0.25/4.75
<b>B</b>	DAP 0.25	ERY 0.12	LZD 0.25	MERO 0.03	P/T4 0.25/4	AMP 0.03	AMP 8	PEN 0.03	PEN 8	TET 0.12	SXT 0.004/0.08	SXT 0.5/9.5
<b>C</b>	DAP 0.5	ERY 0.25	LZD 0.5	MERO 0.06	P/T4 0.5/4	AMP 0.06	<b>GEN</b> 0.03	PEN 0.06	<b>TGC</b> 0.06	TET 0.25	SXT 0.008/0.15	SXT 1/19
<b>D</b>	DAP 1	ERY 0.5	LZD 1	MERO 0.12	P/T4 1/4	AMP 0.12	GEN 0.06	PEN 0.12	TGC 0.12	TET 0.5	SXT 0.015/0.3	<b>VAN</b> 0.25
<b>E</b>	DAP 2	ERY 1	LZD 2	MERO 0.25	P/T4 2/4	AMP 0.25	GEN 0.12	PEN 0.25	TGC 0.25	TET 1	SXT 0.03/0.6	VAN 0.5
<b>F</b>	DAP 4	ERY 2	LZD 4	MERO 0.5	P/T4 4/4	AMP 0.5	GEN 0.25	PEN 0.5	TGC 0.5	TET 2	SXT 0.06/1.18	VAN 1
<b>G</b>	DAP 8	ERY 4	LZD 8	MERO 1	P/T4 8/4	AMP 1	GEN 0.5	PEN 1	TGC 1	TET 4	SXT 0.12/2.37	VAN 2
<b>H</b>	DAP 16	ERY 8	LZD 16	MERO 2	P/T4 16/4	AMP 2	GEN 1	PEN 2	<b>VAN</b> 64	VAN 128	<b>POS</b> <b>CON</b>	<b>POS</b> <b>CON</b>

### ANTIMICROBICS

DAP	Daptomycin
ERY	Erythromycin
LZD	Linezolid
MERO	Meropenem
P/T4	Piperacillin / tazobactam constant 4
AMP	Ampicillin
GEN	Gentamicin
PEN	Penicillin
TGC	Tigecycline
VAN	Vancomycin
TET	Tetracycline
SXT	Trimethoprim / sulfamethoxazole
POS	Positive Control








# Metodo

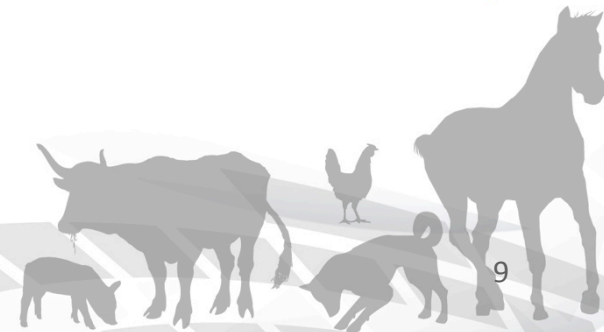
- Si utilizzano 100  $\mu$ l di sospensione batterica in soluzione fisiologica
- Torbidità di 0,5 Mc Farland vengono addizionati al brodo Muller–Hinton con sangue di cavallo.
- Si dispensano nei pozzetti 100  $\mu$ l
- Incubazione a 37° C per 24 h
- Lettura manuale della piastra o utilizzo del sistema di lettura Vizion.
- Per la refertazione saranno utilizzati i criteri stabiliti dal CLSI o dall'EUCAST.






# Risultati del LNR Lm 2015

- 
- Ceppi sia umani che alimentari hanno mostrato una certa omogeneità nei valori di MIC per gli antibiotici testati.
  - Alcuni ceppi analizzati hanno fornito un risultato di resistenza alla tetraciclina (La maggior parte di questi ceppi appartengono ai Clonal Complex 1, 3 e 8).



# Conclusioni

- 
- I batteri appartenenti al genere *Listeria* sono sensibili a quasi tutti gli antibiotici in uso
  - In futuro la situazione potrebbe evolversi verso la resistenza e la successiva multi-resistenza.
  - Tale metodo di prova e l'utilizzo del pannello messo a punto costituiranno un valido ausilio al fine di monitorare l'evoluzione della sensibilità agli antimicrobici di *Listeria monocytogenes*.





**Grazie a tutti per  
l'attenzione!!!**

REPARTO DI BATTERIOLOGIA E  
IGIENE DELLE PRODUZIONI  
LATTIERO CASEARIE

CENTRO DI REFERENZA  
NAZIONALE PER  
L'ANTIBIOTICORESISTENZA  
dell'IZS LT di Roma.

E... tutti il personale del Reparto di Igiene e Tecnologie degli Alimenti e del laboratorio LNR AM

