

CARATTERIZZAZIONE DEI MECCANISMI DI RESISTENZA E TIPIZZAZIONE DI CITROBACTER SPP MULTI-ANTIBIOTICO-RESISTENTE (MDR)

C. Venditti¹, A. Vulcano¹, S. D'arezzo¹, C. Nisii¹, A. Piscini¹, A. Mazzarelli¹, E. Bordi¹, M.G. Paglia¹, A. Di Caro¹

¹UOC Microbiologia e Banca Biologica INMI "Lazzaro Spallanzani", IRCCS Roma

INTRODUZIONE

La diffusione di enterobatteri produttori di carbapenemasi (CPE) è un importante problema di sanità pubblica. La carbapenemasi KPC, maggiormente associata a *Klebsiella pneumoniae*, si riscontra sempre più spesso anche in altri enterobatteri considerati a basso potenziale patogeno. Tra questi, *Citrobacter* spp, Gram-negativo commensale del tratto gastrointestinale umano, è stato recentemente associato ad infezioni nosocomiali gravi. Scopo dello studio è stato di monitorare la presenza di *Citrobacter* produttore di carbapenemasi in tamponi rettali.

METODI

Tutti i ceppi di *Citrobacter* spp, isolati da tamponi rettali seminati su terreni cromogeni (CHROMagar, BioMérieux), sono stati identificati con i sistemi Vitek 2 (BioMérieux) e MALDI-TOF (Bruker Daltonics). La conferma della produzione di carbapenemasi è stata eseguita mediante saggi di diffusione in agar con acido-fenilboronico PBA ed EDTA (Liofilchem). Una RT-PCR (Progenie Molecular), seguita da analisi di sequenza, è stata utilizzata per identificare i geni KPC, VIM, NDM e OXA-48 e beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) CTX-M di gruppo 1, 2 e 9. La tipizzazione degli isolati di *C. freundii* è stata eseguita mediante PCR Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST). La tipizzazione dei 2 *C. farmeri* è stata eseguita mediante metodica Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) utilizzando l'oligonucleotide ERIC-2.

RISULTATI

Nel periodo marzo 2014 giugno 2016, sono stati osservati 11 tamponi rettali positivi per *Citrobacter* spp produttori di carbapenemasi (9 *C. freundii* e 2 *C. farmeri*). Di questi 11, 1 *C. freundii* è stato isolato nel 2014, 2 nel 2015 ed i restanti 6 *C. freundii* e 2 *C. farmeri* nel 2016. L'analisi molecolare e la sequenza hanno confermato in tutti gli isolati la presenza della KPC-3. In 2 isolati di *C. freundii* era presente anche VIM-2 e CTX-M-9. L'ESBL SHV-11 è stata identificata in 7/9 *C. freundii* mentre TEM-1 in 5/9. Entrambe le ESBL sono state identificate nei 2 *C. farmeri*. La tipizzazione mediante MLST ha dimostrato la circolazione di 5 sequence types (ST) diversi per i 9 *C. freundii*; ST91 (nr.3), ST96 (nr.2), ST22 (1) e due nuovi cloni qui denominati STnew1 (nr.1) e STnew2 (nr.2). I risultati ottenuti mediante ERIC-2 hanno evidenziato profili di fingerprinting molto simili per gli isolati di *C. farmeri*.

CONCLUSIONI

Abbiamo osservato un aumento di colonizzazioni da *Citrobacter* spp produttori di KPC tra il 2014 e il 2016; nell'ultimo anno la specie *C. freundii* è stata la CPE più frequentemente isolata da tamponi rettali preceduta solo da *K. pneumoniae*. ST91 è l'unico clone presente in tutti e tre gli anni di sorveglianza. Questa eterogeneità clonale potrebbe essere correlata alla circolazione di elementi genetici mobili quali trasposoni e plasmidi contenenti geni di resistenza. Non sono state osservate infezioni gravi nei pazienti colonizzati, il che rafforza l'importanza della sorveglianza attiva di colonizzazioni da enterobatteri MDR.