P056

Batteriologia

STUDIO DEL PROFILO METABOLICO DI CEPPI DI KLEBSIELLA PNEUMONIAE MEDIANTE SPETTROSCOPIA DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (1H-NMR)

M. Salvo [2], L. Laghi [1], S. Ambretti [3], A. Marangoni [2], C. Foschi [2]
[1]*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna*
[2]*Microbiologia, DIMES, Università di Bologna*
[3]*U.O. Microbiologia, Azienda Ospedaliera Sant'Orsola-Malpighi, Bologna*

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni si è assistito ad un notevole aumento dei fenomeni di resistenza ai farmaci carbapenemici in ceppi di Klebsiella pneumoniae (KP), per lo più mediati dalla produzione di carbapenemasi di tipo KPC.
Lo studio del profilo metabolico di questi microorganismi rappresenta un approccio innovativo in grado di fornire informazioni utili per la messa a punto di nuove metodiche diagnostiche e lo sviluppo di nuovi agenti terapeutici.
Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare il profilo metabolico di diversi ceppi di KP, caratterizzati da specifici fenotipi di resistenza, mediante spettrometria di risonanza magnetica nucleare.

METODI

Sono stati inclusi nello studio 59 ceppi di KP, di cui 27 non-produttori di carbapenemasi (16 wild-type e 11 produttori di ESBL) e 32 produttori di carbapenemasi (24 KPC, 4 MBL e 4 OXA-48). I ceppi sono stati isolati da vari campioni clinici provenienti da pazienti ricoverati presso il Policlinico Sant'Orsola-Malpighi di Bologna. Tramite micro-diluizione in brodo secondo linee guida EUCAST, sono state calcolate le minime concentrazioni inibenti (MIC) del meropenem.
Dopo una crescita O/N in brodo Mueller-Hinton (MH), la sospensione batterica di ogni ceppo è stata standardizzata a 2.8 McF ed è stata centrifugata al fine di separare il pellet batterico dal surnatante. Il surnatante è stato filtrato e congelato, fino al momento dell'analisi metabolica, mentre i metaboliti intracellulari sono stati estratti processando il pellet con metanolo freddo.
L'analisi metabolomica è stata condotta a partire da 700 µL di surnatante e da 100 µL di lisato intracellulare, tramite spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (1H-NMR), con spettrometro AVANCE III (Bruker).
Lo stesso protocollo è stato inoltre utilizzato per studiare il profilo metabolico di 8 ceppi di KP (4 wild-type e 4 KPC produttori) in condizioni di 'stress', facendo crescere i ceppi in presenza di meropenem ad una concentrazione pari a 1/8 della MIC.

RISULTATI

I risultati preliminari evidenziano la presenza di differenze nel profilo metabolico fra ceppi produttori e non produttori di carbapenemasi. Per i ceppi non-carbapenemasi produttori le MIC del meropenem erano comprese tra 0.008 e 0.25 mg/L, mentre per i ceppi produttori variavano tra 0.5 e 512 mg/L. In caso di 'stress' indotto da concentrazioni sub-letali di meropenem, emerge una maggior 'perturbazione metabolica' nei ceppi KPC-produttori.

CONCLUSIONI

Lo studio metabolomico permetterà di ampliare la conoscenza delle basi fisiologiche della cellula batterica e dei meccanismi di virulenza associati. Inoltre, l'identificazione di biomarker metabolici specifici potrebbe aprire nuovi scenari per l'approccio diagnostico e terapeutico delle infezioni da ceppi di KP produttori di carbapenemasi.