

TRASMISSIONE GENI DI RESISTENZA IN GRAM-NEGATIVI

C. Venditti¹, S. D'arezzo¹, A. Vulcano¹, E. Bordi¹, C. Nisii¹, A. Di Caro¹

¹INMI "L. Spallanzani" Roma

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni si è assistito ad un incremento di Enterobatteri produttori di carbapenemasi (CPE) in tutto il mondo data la loro capacità di diffusione clonale fra pazienti diversi e la capacità di trasmissione di geni di resistenza mediante elementi genetici mobili tra batteri di specie diversa. I geni di resistenza più diffusi codificano per la carbapenemasi di tipo KPC e la specie batterica più frequentemente isolata è la *Klebsiella pneumoniae*. Scopo di questo studio è stato quello di valutare il possibile trasferimento orizzontale di geni di resistenza tra CPE diverse da *K. pneumoniae*.

METODI

La sorveglianza epidemiologica per la ricerca di CPE è stata eseguita su tamponi rettali seminati su terreni cromogeni (CHROMagar, BioMérieux). L'identificazione e la caratterizzazione fenotipica sono state eseguite con il sistema Vitek 2 (BioMérieux). I geni codificanti le carbapenemasi (KPC, VIM, NDM, OXA-48, IMP, BIC, SPM, SIM, GIM, DIM, AIM) e le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) quali SHV, TEM e le classi CTX-M, sono stati ricercati mediante PCR e analisi di sequenza. La tipizzazione delle sequenze che regolano la replicazione dei plasmidi (repliconi) è stata eseguita mediante PCR-Based Replicon Typing (PBRT) (Diatheva). Il DNA plasmidico estratto con il kit PureLink™ HiPure Plasmid Filter Midiprep (Invitrogen) è stato trasformato in cellule competenti *E. coli* DH5α (Invitrogen) e studiato con l'analisi di restrizione di frammenti RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) con gli enzimi EcoRI e PstI.

RISULTATI

Un tampone rettale di un paziente ospedalizzato è risultato positivo per la ricerca di CPE ad un *Citrobacter freundii* e un *Escherichia coli*. La caratterizzazione fenotipica degli isolati ha mostrato profili di antibiotico-resistenza a beta-lattamici e carbapenemi. L'analisi molecolare e la sequenza hanno confermato, in entrambi i ceppi e nei corrispettivi trasformanti, la presenza della KPC-3 e della ESBL SHV-11. La tipizzazione dei repliconi ha mostrato la presenza nel ceppo di *E. coli* e nel suo trasformatante dei repliconi FIB e FII e nel ceppo di *C. freundii* e nel suo trasformatante del replicone FIB. Con la metodica RFLP è stato osservato per i plasmidi estratti dai due trasformanti, lo stesso profilo di restrizione, confermando l'ipotesi del trasferimento dello stesso plasmide tra una specie batterica e l'altra.

CONCLUSIONI

Da questo studio emerge la facilità con la quale geni di resistenza sono trasferiti mediante plasmidi tra batteri Gram-negativi. Al fine di contenere la diffusione di CPE è necessario implementare la sorveglianza non solo dei casi d'infezione e/o colonizzazione sostenute da *K. pneumoniae* ma anche di specie meno patogene che potrebbero fungere da serbatoio di geni di resistenza. La tempestiva identificazione e denuncia di tutte le specie di Enterobatteri resistenti ai carbapenemi e alle beta-lattamasi, permette, attraverso l'isolamento del paziente, di evitare la diffusione dei geni di resistenza.