

**DISTRIBUZIONE DELLE VARIANTI ENZIMATICHE DI CARBAPENEMASI DI TIPO KPC IN CEPPI CLINICI DI KLEBSIELLA PNEUMONIAE**

F. Frascaro<sup>1</sup>, G. Fregni Serpini<sup>1</sup>, S. Tagliazucchi<sup>1</sup>, P. Pini<sup>1</sup>, G. Forbicini<sup>1</sup>, R. Magnani<sup>1</sup>, N. Nanni<sup>1</sup>, W. Gennari<sup>1</sup>, A. Grottola<sup>1</sup>, F. Rumpianesi<sup>1</sup>, C. Venturelli<sup>1</sup>, M. Pecorari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico, Modena*

**INTRODUZIONE**

La produzione di carbapenemasi di classe A in ceppi di Enterobacteriaceae rappresenta uno dei più preoccupanti meccanismi alla base dell'insorgenza della resistenza agli antimicrobici. Tra le carbapenemasi di classe A, le KPC rappresentano gli enzimi più diffusi in Europa e in Italia e la specie maggiormente interessata è *K. pneumoniae*.

Lo scopo di questo studio è quello di indagare la distribuzione delle varianti enzimatiche di KPC in ceppi di *K. pneumoniae*, tramite la messa a punto di un metodo molecolare in grado di identificare e di differenziare i geni plasmidici bla<sub>KPC</sub>.

**METODI**

Sono stati caratterizzati 34 ceppi clinici di *K. pneumoniae* colistino-resistenti e produttori di KPC di classe A, isolati da pazienti ricoverati in diversi reparti del Policlinico di Modena da Gennaio 2013 a Dicembre 2014. I ceppi, isolati da 26 campioni di feci, 4 di urine, 4 di sangue periferico, erano stati precedentemente identificati e sottoposti ai test di sensibilità agli antimicrobici rispettivamente con Vitek MS e Vitek2 systems (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Le concentrazioni minime inibenti per meropenem, imipenem e colistina erano state confermate tramite E-test. La produzione di carbapenemasi era stata confermata utilizzando il kit KPC/MBL (Rosco diagnostica, A/S, Denmark).

Tutti i ceppi clinici sono stati caratterizzati tramite Multi Locus Sequence Typing (MLST). L'identificazione delle varianti enzimatiche KPC è stata effettuata mediante amplificazione parziale (872bp) in PCR dei geni bla<sub>KPC</sub> e successiva caratterizzazione mediante sequenziamento genico. Il sequenziamento è stato effettuato usando i primers specifici di PCR e ulteriori due primers interni.

**RISULTATI**

L'analisi mediante MLST ha identificato 31 ceppi con ST512 (91.1%), 2 ceppi con ST258 (5.9%) ed 1 con ST37 (3.0%). L'analisi delle varianti enzimatiche del gene bla<sub>KPC</sub> ha evidenziato 31 ceppi con la variante KPC-3 indistinguibile dalla variante 19 e 3 ceppi con variante KPC-2.

**CONCLUSIONI**

Il metodo molecolare messo a punto in questo studio è risultato idoneo all'identificazione delle varianti enzimatiche di bla<sub>KPC</sub>. Inoltre è in grado di distinguere univocamente la variante KPC-2 da tutte le altre, mentre distingue la variante KPC-3 da tutte le altre tranne la KPC-19 a causa della sostituzione di due basi all'estremità 3' del gene di quest'ultima. La variante KPC-3/19 è stata identificata esclusivamente nei ceppi con ST512, mentre la variante KPC-2 è stata trovata nei ceppi con ST258 e ST37.

In Italia la prima segnalazione di isolati di *K. pneumoniae* produttori di KPC risale al 2008 con una predominanza di KPC-3 e KPC-2, mentre la variante KPC-19 è stata recentemente isolata in un solo ceppo di *K. pneumoniae* con ST1519. Nel nostro studio i ceppi con la variante KPC -3/19, presente in tutti i ceppi con ST512, potrebbero essere portatori della variante 3 piuttosto che della 19. Alla luce di quanto detto si rende necessario modificare la scelta dei primers allo scopo di distinguere le due varianti enzimatiche.