P132

BATTERIOLOGIA

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA RESISTENZA AL CEFTAZIDIME-AVIBACTAM IN ISOLATI CLINICI DI KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUTTRICE DI KPC-3

C. Venditti [3], O. Butera [3], S. D'Arezzo [3], A. Vulcano [3], A. Mazzarelli [3], P. Noto [5], M.B. Balice [1], G. Parisi [4], M. Meledandri [2], C. Nisii [3], A. Di Caro [3]

[1]*Laboratorio Analisi, Fondazione Santa Lucia IRCCS, Roma, Italia*

[2]*Laboratorio di Microbiologia e Virologia, San Filippo Neri, Roma, Italia*

[3]*Laboratorio di Microbiologia, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive L. Spallanzani, Roma, Italia*

[4]*Laboratorio di Microbiologia, San Camillo, Roma, Italia*

[5]*U.O.C. Infezioni Sistemiche Immunodepresso, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive L. Spallanzani, Roma, Italia*

INTRODUZIONE

La diffusione in ambiente ospedaliero di enterobatteri resistenti ai carbapenemi rappresenta da anni uno dei maggiori problemi per la sanità pubblica. In Italia, tale resistenza è associata principalmente alla carbapenemasi KPC-3 presente in Klebsiella pneumoniae. Nel 2015 è stato approvato con successo una nuova combinazione antibiotica: il ceftazidime-avibactam (CAZ-AVI). Tuttavia, in breve tempo sono aumentate le segnalazioni di resistenza, in particolare dovute a mutazioni a carico dell'enzima KPC in pazienti sotto trattamento antibiotico.
Scopo dello studio è stato di monitorare e caratterizzare i meccanismi di resistenza al CAZ-AVI in isolati clinici di K. pneumoniae provenienti da 5 diversi ospedali di Roma.

METODI

Tredici ceppi di K. pneumoniae, isolati da 10 pazienti, sono stati investigati. La caratterizzazione fenotipica è stata eseguita con il sistema Phoenix (Becton Dickinson Diagnostics); e la minima concentrazione inibente (MIC) al CAZ-AVI valutata mediante le strisce a gradiente di concertazione (Liofilchem). La presenza di carbapenemasi è stata confermata mediante RT-PCR per identificare i geni KPC, VIM, NDM e OXA-48 (Progenie Molecular). I meccanismi di resistenza nel gene KPC sono stati identificati con sequenziamento Sanger. L'epidemiologia molecolare è stata eseguita con sequenziamento dei genomi (Ion Torrent GSS5, Thermo Fisher) e analisi core genome MLST (cgMLST) mediante il software bioinformatico Ridom (SeqSphere) che permette di comparare 2.358 geni all'interno del genoma.

RISULTATI

Dei 13 ceppi di K. pneumoniae isolati da 10 pazienti diversi, 10 mostravano un profilo di resistenza al CAZ-AVI con MIC da 12 a 128 mg/L. Il meccanismo di resistenza al CAZ-AVI è stato identificato per 5/10 isolati nei quali l'analisi molecolare sulle sequenze ha identificato la presenza di mutazioni nel gene della KPC-3; 4/5 ceppi con la mutazione risultavano sensibili ai carbapenemi. I restanti 5/10 ceppi resistenti CAZ-AVI possedevano un gene wild-type della KPC-3 ed erano resistenti a tutti i carbapenemi. Per tre pazienti è stato caratterizzato anche il ceppo di K. pneumoniae precedente all'insorgenza della resistenza al CAZ-AVI; tutti e tre gli isolati erano sensibili al CAZ-AVI e resistenti ai carbapenemi.
La tipizzazione mediante cgMLST ha mostrato la circolazione di 3 sequence types (ST) diversi; ST512 (nr.10), ST307 (nr.2) e ST101 (nr.1) e la presenza di 4 cluster in base ai 2358 geni analizzati.

CONCLUSIONI

Le opzioni terapeutiche disponibili per il trattamento di infezioni gravi sostenute da KPC-K. pneumoniae sono limitate e la resistenza al CAZ-AVI rappresenta oggi una sfida globale. Nel loro insieme, i nostri risultati supportano l'osservazione che le mutazioni a carico del gene della KPC svolgono un ruolo chiave nell'insorgenza alla resistenza al CAZ-AVI e contestualmente determinano perdita dell'attività idrolitica dell'enzima. Ulteriori analisi sullo studio dei difetti di permeabilità come mutazioni a carico delle porine (OmpK35 e OmpK36) sono necessarie per identificare possibili meccanismi coinvolti nella resistenza in isolati con geni wild-type.