

**CO-ESPRESSIONE DELLE  $\beta$ -LATTAMASI KPC-3, OXA-48 E CTX-M-15 IN ISOLATI CLINICI DI K. PNEUMONIAE, SELEZIONATE PRESSO L'AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA INTEGRATA DI VERONA**

A. Piccirilli <sup>1</sup>, V. Piccirilli <sup>1</sup>, A. Bazaj <sup>2</sup>, L. Maccacaro <sup>3</sup>, G. Cornaglia <sup>3</sup>, M. Perilli <sup>1</sup>, G. Amicosante <sup>1</sup>, P. Fazi <sup>4</sup>, G. Lo Cascio <sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Università dell'Aquila, L'Aquila*

<sup>2</sup>*SEZ. MICROBIOLOGIA, DIP. IGIENE E SANITA' PUBBLICA, UNIVERSITA' DI VERONA*

<sup>3</sup>*U.O.C. di Microbiologia e Virologia, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona*

<sup>4</sup>*UOC Microbiologia e virologia clinica, ASL PESCARA*

**INTRODUZIONE**

L'enorme diffusione di ceppi di *Klebsiella pneumoniae* (KPN) con resistenza a diverse classi di antibiotici, inclusi i carbapenemi, sta diventando un serio problema per la salute pubblica. KPN può esprimere carbapenemasi di classe A (es. KPC), di classe B (es. NDM e VIM) o di classe D (es. OXA-48) oppure  $\beta$ -lattamasi ad ampio spettro (ESBLs), in particolare enzimi CTX-M, oppure enzimi di origine plasmidica di classe C (es. CMY). La presenza di questi enzimi associata molto spesso alla perdita di porine rende molto più complicata la scelta terapeutica. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare dal punto di vista molecolare ceppi di KPN isolati presso l'AOUI di Verona.

**METODI**

Per il presente lavoro sono stati selezionati 30 ceppi di KPN da emocolture di pazienti ricoverati presso diversi reparti dell'AOUI. L'identificazione dei ceppi è stata effettuata mediante spettrofotometria di massa Vitek-MS (Biomerieux) e confermata con Maldi-Tof (Microflex LT; Bruker) e mediante tecnica MLST. Il test di suscettibilità agli antibiotici è stato effettuato con Vitek2 (Biomerieux-France) e le resistenze confermate con Etest (Biomerieux) o microdiluizione (MIC-STRIP Merlin Diagnostika). La presenza di integroni, trasposoni e geni codificanti per  $\beta$ -lattamasi, è stata valutata mediante saggi di PCR utilizzando specifici primers per ogni classe di  $\beta$ -lattamasi e tipologia di elemento genetico mobile. La natura dei geni è stata esplorata mediante sequenziamento di Sanger utilizzando un sequenziatore automatizzato (ABI PRISM 3500, Life Technology).

**RISULTATI**

Tutti ceppi di *K. pneumoniae*, isolati sulla base del fenotipo di resistenza, all'analisi molecolare hanno mostrato la presenza del gene cromosomico blaSHV-1. Per quanto riguarda le carbapenemasi, la  $\beta$ -lattamasi KPC-3 è presente nell'81% dei ceppi mentre la OXA-48 nel restante 19%. In tutti i ceppi la  $\beta$ -lattamasi KPC-3 è localizzata all'interno di un trasposone di circa 10 Kb del tipo Tn4401a. Nel 77% dei ceppi studiati è stata trovata la  $\beta$ -lattamasi ad ampio spettro CTX-M-15. Nel 47% degli isolati era presente un integrone di classe 1 con all'interno della regione variabile una cassetta genica di 770 bp corrispondente al gene aad2 che codifica per una aminoglicoside adeniltrasferasi che conferisce resistenza alla streptomina e spectinomina.

**CONCLUSIONI**

La co-espressione di  $\beta$ -lattamasi ad ampio spettro (CTX-M-15) e carbapenemasi (KPC-3 e OXA-48), unitamente alla presenza di enzimi che conferiscono resistenza agli aminoglicosidi nello stesso ceppo di KPN, riduce notevolmente l'opzione terapeutica. La presenza di KPN multiresistente in reparti ospedalieri rappresenta infatti un serio problema che dovrebbe sensibilizzare gli operatori ad attuare misure di contenimento.