

CARATTERIZZAZIONE DEI MECCANISMI DI RESISTENZA ED EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE IN KLEBSIELLA PNEUMONIAE MULTI-ANTIBIOTICO-RESISTENTE MEDIANTE NGS

C. Venditti¹, A. Vulcano¹, S. D'arezzo¹, C. Nisii¹, M. Antonini¹, B. Bartolini¹, A. Cannas¹, A. Di Caro¹

¹INMI "Lazzaro Spallanzani", IRCCS Roma

INTRODUZIONE

La diffusione in ambiente ospedaliero di enterobatteri multi-antibiotico-resistente (MDR) è un importante problema di sanità pubblica. In Italia è diffusa soprattutto la *Klebsiella pneumoniae* produttrice della KPC-3 appartenente al complesso clonale ad alto rischio infettivologico CC528. Data l'importanza delle epidemie ospedaliere sostenute da *K. pneumoniae* MDR, scopo dello studio è stato di monitorare e caratterizzare isolati di *K. pneumoniae* produttori di KPC nel reparto di terapia intensiva del nostro ospedale mediante metodi avanzati di Next Generation Sequencing (NGS).

METODI

Trenta ceppi di *K. pneumoniae* MDR, isolati da 22 pazienti, sono stati investigati. La caratterizzazione fenotipica è stata eseguita con il sistema Vitek-2 (BioMérieux). La produzione di carbapenemasi è stata confermata con saggi di diffusione in agar con PBA (Liofilchem) seguita dallo screening molecolare mediante RT-PCR per identificare i geni KPC, VIM, NDM e OXA-48 e le beta-lattamasi a spettro esteso CTX-M di gruppo 1, 2 e 9 (Progenie Molecular).

La genotipizzazione è stata eseguita mediante Ion Torrent GSS5 (Thermo Fischer) e le sequenze analizzate mediante piattaforme bioinformatiche per la caratterizzazione dei geni di resistenza (ResFinder) e la tipizzazione mediante MLST classico (7 geni) ed il core genome MLST (cgMLST) (SeqSphere) che impiega 4058 geni target.

RISULTATI

Da Settembre 2017 ad Aprile 2018, 22 pazienti sono risultati positivi per *K. pneumoniae* MDR. In totale sono stati caratterizzati 30 ceppi; per pazienti con colonizzazione seguita da infezione sono stati analizzati campioni da siti diversi. L'analisi molecolare e genomica sulle sequenze ha identificato la presenza della KPC-3 in tutti gli isolati. In 7 isolati era presente anche la CTX-M-15 ed in uno la CMY-16. La tipizzazione mediante MLST ha mostrato la circolazione di 3 sequence types (ST) diversi; ST512 (nr.23), ST307 (nr.4) e ST3343 (nr.3). Il cgMLST ha evidenziato la presenza di un cluster aggiuntivo all'interno del ST512.

CONCLUSIONI

Da questo studio è emerso che la KPC-3 è la carbapenemasi più frequente ed il ST512 il clone più diffuso in ambiente ospedaliero seguito dal ST307 associato alla presenza della CTX-M-15 oltre la KPC-3. La presenza di due cluster all'interno dello stesso sequence type e la distribuzione dei ceppi ottenuta dal confronto dei profili allelici mediante il cgMLST, hanno mostrato un'analisi più approfondita della diversità genomica dei ceppi in esame. Le tecnologie basate su NGS hanno trasformato la tipizzazione molecolare fornendo un metodo con un maggior potere discriminante per identificare variazioni genome-wide, utile per la caratterizzazione di isolati batterici oggetto di indagine epidemiologica.