

***Caratterizzazione molecolare
del fenotipo ESBL in
Enterobatteriacee ed altri
bacilli gram negativi di
interesse clinico***

Francisco Miguel Fernandez Parra

TAB3

Scuola Specializzata Superiore Medico Tecnica

Anno 2007/2008

Istituto Cantonale di Microbiologia
Bellinzona

Responsabili:

Antonella Demarta

Annapaola Caminada

1. Riassunto

Oggi giorno la produzione di enzimi capaci di idrolizzare ed inattivare i β -lattamici rappresenta uno dei meccanismi più importanti nella famiglia delle *Enterobacteriacee* e nei bacilli gram negativi di interesse clinico.

Questa resistenza è dovuta alla presenza di uno o più geni di resistenza i quali codificano per queste proteine inattivatrici.

I geni di resistenza più conosciuti e studiati sono *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{SHV} e *bla*_{AmpC}; ma negli ultimi tempi sta insorgendo un nuovo gene di resistenza, il *bla*_{CTX-M}.

La codificazione da parte di questi geni comporta una multiresistenza del ceppo batterico, ma nel caso di una mutazione, il batterio sarà abile di produrre delle β -lattamasi a spettro esteso (ESBL).

Questi patogeni con spettro di resistenza esteso si riscontrano soprattutto in luoghi di cura, quali ospedali acuti o case per anziani e si stima che l'acquisizione varia dai 10 ai 17 giorni dal ricovero, quindi un'ulteriore problema per il paziente già malato.

Si è deciso quindi di approfondire questi geni di resistenza caratterizzando 60 ceppi con fenotipo ESBL isolati dai due nosocomi acuti del Canton Ticino, l'Ospedale Regionale di Lugano e l'Ospedale Regionale Bellinzona e Valli.

Utilizzando la reazione polimerasica a catena (PCR) si è cercato di determinare la presenza a livello gnomico di questi geni di resistenza e secondariamente di evidenziare una possibile prevalenza sia regionale che nosocomiale. La reazione di PCR Multiplex ha permesso di amplificare una regione dei geni *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA} e *bla*_{SHV}; mentre in una reazione seconda reazione di PCR si è cercato di evidenziare la presenza del gene *bla*_{CMY-2}, descritto come il gene più frequente appartenente al gruppo eterogeneo AmpC. Si può notare che un'importante numero di ceppi ESBL sono appartenenti alla specie *E. coli* e si evidenzia la presenza importante di ceppi batterici presentanti i geni di resistenza *bla*_{TEM} e *bla*_{OXA} sia a livello territoriale che a livello ospedaliero, risultato che differisce parecchio da studi precedenti. Evidenziata la presenza di combinazioni geniche *bla*_{TEM} e *bla*_{OXA}, le quali possono conferire al batterio uno spettro di resistenza ancora maggiore.

Abstract

Today the production of enzymes that can hydrolyze and inactivate β -lactams is the most important mechanism of resistance in the family of *Enterobacteriaceae* and gram negative bacilli with clinical interest.

The resistance is due by a few mutated genes of resistance that codify one or more β -lactamases with an extended spectrum of resistance (ESBL).

The most know and studied genes of resistance are *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{SHV} and *bla*_{AmpC}; but now there is a new gene of resistance, *bla*_{CTX-M}.

The codification of these genes produce a multiresistance in the bacteria, and when begin a bacterial infection it can cause difficult on the prescription of an antibiotics therapy.

These multiresistance pathogens are found in Hospital or in nursing homes and the patient can contract it in a few days, more or less 10-17 days after the admission to hospital.

We decide to study these genes with a characterisation of 60 strains with a ESBL phenotype, isolated from two acute Hospital of our region, Ospedale Regionale di Lugano and Ospedale Regionale Bellinzona e Valli.

Using the polymerase chain reaction (PCR), we will found one or more genes of resistance and we will highlight a regional or nosocomial prevalence.

The PCR Multiplex has permit to amplify a region in the genes *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA} and *bla*_{SHV}; and a second PCR reaction highlight the presence of *bla*_{CMY-2}, the most described gene belong in the group of genes AmpC.

We can see the *Escherichia coli* is the most isolated strain with ESBL phenotype (66,6%) from the ICM since 2005. The genes *bla*_{TEM} and *bla*_{OXA} are more highlighted than *bla*_{SHV} in the strains isolated from the two acute Hospital tested.

But from the literature we can read the results of the study are different from another study published in other countries; for example in Spain were find more *bla*_{SHV} and *bla*_{TEM} than *bla*_{OXA}. We have found a presence of genic combination *bla*_{TEM} and *bla*_{OXA}, that can produce an higher extended spectrum of resistance to bacteria.