

**TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI  
STIPITI DI  
*Stenotrophomonas maltophilia***

Filipponi Maura

Formazione Tecnico in Analisi Biomediche

Scuola Specializzata Superiore Medico Tecnica, Locarno  
2008

Lavoro di diploma svolto presso l'Istituto Cantonale di Microbiologia, Bellinzona  
Responsabili Demarta Antonella e Caminada Annapaola

## 1. RIASSUNTO

Il numero delle infezioni ospedaliere causate da *Stenotrophomonas maltophilia* è in continuo aumento dal 1970 quando fu stato isolato la prima volta in un paziente affetto da Fibrosi Cistica.

*Stenotrophomonas maltophilia* è un batterio ambientale isolato in particolare dalla rizosfera ma è anche un batterio opportunisto, infatti tende a colonizzare e ad infettare pazienti immunocompromessi e ospedalizzati per un lungo periodo di tempo.

La trasmissione paziente-paziente non è molto frequente, mentre sembra essere di importanza la trasmissione attraverso apparecchiature come apparecchi per la ventilazione e per la dialisi.

Lo scopo di questo lavoro è di valutare la diversità genetica del gene della girasi (subunità B del gene della girasi, *gyrB*) di stipti di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati all'Istituto Cantonale di Microbiologia (ICM), per poter individuare eventuali gruppi con caratteristiche di patogenicità specifiche.

L'amplificazione del gene della girasi (*gyrB*) permetterà anche di valutare se l'uso di soli RFLP per la differenziazione dei ceppi sia sufficientemente discriminante.

Poter analizzare solo gli RFLP ha come vantaggio per l'Istituto Cantonale di Microbiologia (ICM) un metodo affidabile di tipizzazione di una specie batterica patogena opportunisto con una prevalenza in aumento anche nel nostro territorio.

### Materiali e metodi:

L'estrazione di DNA da coltura batterica è stata eseguita con il metodo classico fenolo-cloroformio.

Per l'amplificazione della subunità B del gene della girasi (*gyrB*) sono stati usati dei primers degenerati UP1 e UP2r che amplificano un frammento di 1200 paia di basi.

Per la reazione di sequenza sono stati utilizzati i primers UP1S e UP2Sr.

Per la digestione enzimatica è stato utilizzato l'enzima di restrizione *HaeIII* che taglia la sequenza producendo *blunt ends*. Questo enzima taglia la subunità B della girasi producendo dei patterns composti da 5 a 8 bande.

### Risultati:

Come risultato finale ho ottenuto la costruzione di due dendrogrammi, uno costruito con le sequenze e l'altro grazie ai patterns delle digestioni enzimatiche.

### Conclusioni:

Comparando i due dendrogrammi si può dire che attraverso l'analisi di RFLP si sono trovati dei risultati simili. Ma si è constatato che la sola analisi di RFLP non discrimina a sufficienza all'interno della specie di *Stenotrophomonas maltophilia* e che quindi questa tecnica è utile per la differenziazione di questi ceppi da altri ceppi di *Stenotrophomonas* ma non si può utilizzare per indagini epidemiologiche.

## ABSTRACT

The number of nosocomial infection due to the *Stenotrophomonas maltophilia* has increased since 1970 when it was first isolated in a Fibrosis Cystic patient.

*Stenotrophomonas maltophilia* is an environmental bacteria isolated in rizosfera but it is also an opportunistic bacteria, in fact it can colonize immunocompromised and long-stay hospitalized patients.

Patient to patient transmission is not frequent but transmission with nosocomial equipment like equipment for ventilation, for dialysis, etc is important.

The aim of this work is to evaluate the genetic diversity of *Stenotrophomonas maltophilia* with *gyrB* gene isolated at Istituto Cantonale di Microbiologia (ICM) and identify if there are some groups with specific pathogenicity.

The amplification of girase gene (subunit B of girase gene, *gyrB*) could evaluate if the use only of RFLP for differentiation of strains is sufficiently discriminatory.

To be able to analyze only RFLP is convenient for ICM because it is a reliable method for the tipization of opportunistic pathogen with an increasing prevalence in our territory.

### Materials and methods:

DNA extraction by bacteria culture was effectuated with the classic method phenol-chloroform.

For the amplification of subunit B of girase gene degenerated primers UP1 and UP2r were used, which amplify a fragment of 1200 base pairs.

For the sequencing reaction the primers UP2S and UP2Sr. were used

For enzymatic reactions the endonuclease *HaeIII* that cuts the sequence in *blunt ends* was used.

This enzyme cuts the sequence and produces patterns with 5 to 8 bands.

### Results:

The final results was to obtain two dendrogams. One constructed with the sequences and the other with the patterns of enzymatic digestions.

### Conclusions:

By comparing the two dendrogams we are able to see that RFLP analysis and sequences are similar.

However we established that only RFLP use is not sufficiently discriminatory in *Stenotrophomonas maltophilia* strains.

So this method could be used only to differentiate *Stenotrophomonas maltophilia* to another *Stenotrophomonas* but not for epidemiological research.