

POTENCIAL TRANSFERENCIA *IN VIVO* DE bla_{NDM-1} POR UN PLÁSMIDO IncC ENTRE *Acinetobacter baumannii* ST578 Y *Klebsiella pneumoniae* ST307 EN UN PACIENTE DE UCI EN MEDELLÍN, COLOMBIA

Rada Ana M¹, García Cristian I², Agudelo Carlos A², Pizza María J², Atehortúa Santiago^{2,3}

¹Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín.

²Universidad Pontificia Bolivariana - Clínica Universitaria, Medellín.

³Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín.

RESUMEN

Introducción: Las infecciones causadas por bacterias productoras de carbapenemasas tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM), representan una preocupación debido a las limitadas opciones de tratamiento. La diseminación intra y entre especies bacterianas de esta carbapenemasa a través de plásmidos desempeña un papel importante en su propagación. **Objetivo:** Caracterizar el genoma completo de aislamientos de *A. baumannii* y *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemicos recuperados de un paciente con peritonitis en un hospital de Colombia, para determinar la posible transferencia in vivo de bla_{NDM} . **Materiales y Métodos:** El perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos se realizó por Vitek-2 y la detección del gen bla_{NDM} por PCR. Se secuencio el genoma completo de estos en la plataforma Illumina, analizando los ensamblajes en el servidor Center for Genomic Epidemiology y el entorno de bla_{NDM} mediante BLASTn y BLASTp. **Conclusión:** Los hallazgos clínicos y el análisis del genoma respaldan la posibilidad que bla_{NDM-1} fue transferido in vivo por un plásmido IncC entre *A. baumannii* y *K. pneumoniae* durante la colonización e infección del paciente.

Palabras clave: Colombia, bla_{NDM-1} , *Acinetobacter baumannii* ST578, *Klebsiella pneumoniae* ST307, Plásmido IncC.

INTRODUCCIÓN

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista asociado a infecciones intrahospitalarias de preocupación por ser uno de los organismos multirresistentes (MDR) más exitosos. Así mismo, *Klebsiella pneumoniae* ST307 un clon MDR de alto riesgo. En estas bacterias se ha reportado la producción de carbapenemasas tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM) y específicamente NDM-1, que hidroliza todos los betalactámicos excepto aztreonam, convirtiéndose las infecciones por estas bacterias en una

preocupación creciente debido a sus opciones terapéuticas limitadas. El gen que codifica para esta carbapenemasasa se encuentra en plásmidos de diferentes grupos de incompatibilidad (Inc); específicamente, se ha detectado en plásmidos conjugativos en aislamientos provenientes de Colombia, que pueden ser transferidos intra y entre especies (1); lo que indica diferentes posibilidades para su adquisición y propagación horizontal en el ámbito hospitalario, y la necesidad de implementar medidas de control para evitar su diseminación.

OBJETIVO

Caracterizar el genoma completo de aislamientos de *A. baumannii* y *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos recuperados de un paciente con peritonitis en una UCI de un hospital de tercer nivel de Colombia en 2018, para determinar la posible transferencia in vivo de *bla*_{NDM} entre estas bacterias durante la estancia hospitalaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

El perfil de susceptibilidad antimicrobiano de los aislamientos recuperados del paciente fue determinado por Vitek-2, interpretando la CIM de acuerdo a los puntos de corte establecidos por el CLSI, detectando resistencia a carbapenémicos en el aislamiento de *A. baumannii* Ab0718 y *K. pneumoniae* Kpn2518, siendo ambos positivos para el método modificado de inactivación de carbapenémico (mCIM) y Kpn2518 para la prueba de sinergia de doble disco entre meropenem e imipenem versus EDTA. Mediante PCR se confirmó que los aislamientos albergaban el gen *bla*_{NDM}. Posteriormente, se realizó la preparación de librería genómica y secuenciación de ADN en plataforma illumina empleando el equipo MiSeq. La limpieza y el ensamblaje *de novo* se llevó a cabo en el CLC Genomics Workbench, versión 8.5. Los genomas fueron anotados usando el servidor RAST y los ensamblajes fueron tipificados en el servidor Center for Genomic Epidemiology. Adicionalmente, la región que rodea a *bla*_{NDM} se analizó utilizando BLASTn y BLASTp.

RESULTADOS

Los aislamientos fueron recuperados de un hombre de 31 años, remitido el 6 de enero de 2018 con peritonitis generalizada en la UCI de un hospital de tercer nivel de la ciudad de Medellín. Se documentó colonización rectal por *K. pneumoniae* BLEE+ y en tracto urinario por *A. baumannii* MDR Ab0718 y *K. pneumoniae* BLEE+. Posteriormente, presentó eventos de peritonitis secundaria polimicrobiana. Además, bacteriemia por *K. pneumoniae* BLEE+ por lo que recibió tratamiento con carbapenémicos; presentando

luego un hemocultivo positivo por *K. pneumoniae* MDR Kpn2518, seguidamente fungemia por *Candida tropicalis*, con buena evolución clínica posterior al tratamiento.

La tipificación del ensamblaje del genoma de los aislamientos con sospecha de producción de metalcarbapenemas, *A. baumannii* Ab0718 y *K. pneumoniae* Kpn2518, indicó que portaron el ST578 y ST307, respectivamente. En el resistoma, se encontró que portaron en común genes que confieren resistencia a betalactámicos: *bla*_{NDM-1} y *bla*_{OXA-1}; así como a aminoglucósidos (*aph(6')-Ib/aac(6')-Ib-cr/aph(3')-VIa/strA*); macrólidos (*mph(A)*), fenicoles (*catB3*), rifampicina (*arr3*), sulfonamidas (*sul1/sul2*) y tetraciclinas (*tetB*). Adicionalmente, Kpn2518 portó *bla*_{SHV-28}/*bla*_{CTX-M15}/*qnrB1/oqxB-A/aac(3')-IIa*.

Igualmente, portaron el mismo replicón de plásmido tipo IncC y entorno genético de *bla*_{NDM-1}. El análisis de BLAST reveló que los contigs del ensamblaje de *novo* de ambos aislamientos mostraron similitudes con el plásmido p6Pmi283-NDM tipo IncC de ~211 kb (número de acceso CP077964) identificado previamente en *Proteus mirabilis* (6Pmi283) MDR, en Colombia, cubriendo ~80% de la columna vertebral de este.

DISCUSIÓN

En este estudio de acuerdo al análisis genómico, se identificó tanto en *A. baumannii* ST578 como *K. pneumoniae* ST307 recuperados de un paciente con peritonitis generalizada, el gen *bla*_{NDM} con el mismo entorno genético, el replicón de plásmido tipo IncC y los contigs del ensamblaje de *novo* mostraron una cobertura del ~80% de la columna vertebral del plásmido p6Pmi283-NDM, identificado previamente en Colombia en *Proteus mirabilis* (6Pmi283) MDR. Reportes recientes en países de Europa indican la transferencia in vivo de *bla*_{NDM-1} entre especies (2). Sin embargo, hasta donde sabemos, este es el primer informe de *A. baumannii* y *K. pneumoniae* aislados del mismo paciente que albergan *bla*_{NDM-1} con el mismo grupo de genes circundantes y replicón de plásmido tipo IncC en Colombia. Se reconoce *bla*_{NDM-1} como un gen versátil para incorporarse a diferentes tipos de elementos móviles y el tipo de plásmido IncC ha recibido atención debido a su amplia gama de huéspedes y por albergar genes clave de resistencia a los antibióticos. En nuestro caso, la transferencia in vivo de plásmidos entre aislamientos pudo ocurrir debido a que el paciente tenía tratamiento antimicrobiano de amplio espectro y varias recaídas de infección, sugiriendo que, bajo presión antimicrobiana, puede darse el movimiento de estos elementos móviles. Se requieren futuros estudios de secuenciación de lectura larga para confirmar la secuencia completa de este plásmido.

CONCLUSIÓN

Los hallazgos clínicos y el análisis del genoma respaldan la posibilidad que *bla*_{NDM-1} podría haber sido transferido por un plásmido IncC entre *A. baumannii* y *K. pneumoniae* en el mismo paciente durante el tiempo de colonización e infección bajo presión antimicrobiana; lo cual justifica la detección de NDM en el ámbito hospitalario y una mayor vigilancia para implementar medidas para abordar su diseminación.

BIBIOGRAFÍA

1. Marquez-Ortiz, R. A., Haggerty, L., Olarte, N., Duarte, C., Garza-Ramos, U., Silva-Sanchez, J., Castro, B. E., Sim, E. M., Beltran, M., Moncada, M. V., Valderrama, A., Castellanos, J. E., Charles, I. G., Vanegas, N., Escobar-Perez, J., & Petty, N. K. (2017). Genomic Epidemiology of NDM-1-Encoding Plasmids in Latin American Clinical Isolates Reveals Insights into the Evolution of Multidrug Resistance. *Genome biology and evolution*, 9(6), 1725–1741.
2. Meletis, G., Malousi, A., Tychala, A., Kassomenaki, A., Vlachodimou, N., Mantzana, P., Metallidis, S., Skoura, L., & Protonotariou, E. (2023). Probable Three-Species In Vivo Transfer of *bla*_{NDM-1} in a Single Patient in Greece: Occurrence of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, and *Morganella morganii*. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1206.