

Vigilancia One Health, y su aplicación en la resistencia bacteriana.

Barbara Ghiglione.¹

¹Bioquímica. Ph.D. en Bioquímica y Biología Molecular-Ciencias Médicas
Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Memorias en presentación de PowerPoint.

.UBA FARMACIA Y BIOQUÍMICA

II Simposio en Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas



Análisis genómico de clones de alto riesgo de *Klebsiella pneumoniae* en aguas residuales.

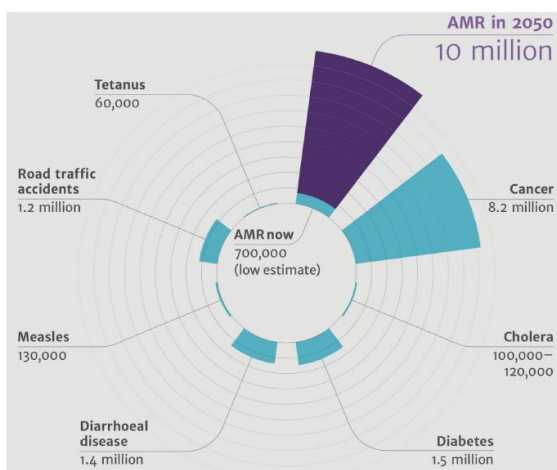
Perspectivas sobre la vigilancia basada en aguas residuales en entornos de bajos recursos y la aparición de RmtG en Argentina

Barbara Ghiglione, PhD
barbarag@ffyb.uba.ar
barbaraghiglione@gmail.com

- JTP Microbiología FFyB-UBA
- Investigadora Asistente de CONICET
- Laboratorio de Resistencia Bacteriana FFyB - UBA
- Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular IBaViM

Activar FFyB
Ve a Configuración par...

Infecciones y Resistencia a los Antimicrobianos (RAM) No hay tiempo que perder



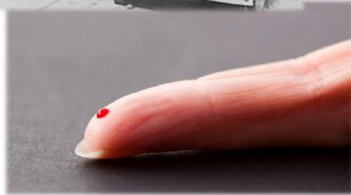
Principal causa de muerte

**100 x 10¹² USD
(100000000000000)**

Activar Windows
Ve a Configuración par...

¿DISTOPÍA?

1940



infobae

Últimas Noticias Rusia invade Ucrania Deportes Venezuela Tecnología ESPN Qué Puedo Ver Entretenimiento EEUU Newsletters

CIENCIA >

El aumento de la resistencia a los antibióticos podría causar 39 millones de muertes para 2050

Un estudio global publicado en la revista The Lancet alertó por la suba de infecciones que los medicamentos ya no pueden tratar de manera efectiva debido a la resistencia antimicrobiana. Los mayores de 70 años son el grupo más vulnerable

ARTICLES · Volume 404, Issue 10459, P1199-1226, September 28, 2024 · [Open Access](#)

[Download Full Issue](#)

Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050

[GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators¹](#)

Activar Windows

RAM y el ambiente

aspectos conocidos e interrelacionados

EVOLUCIÓN



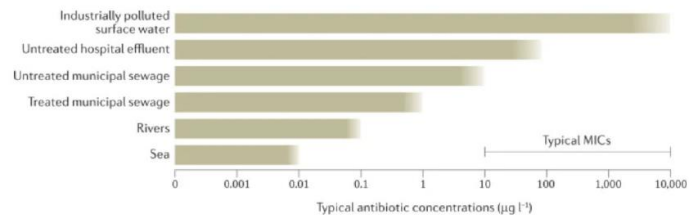
SELECCIÓN



TRANSMISIÓN



Fig. 2: Antibiotic concentrations in selected aquatic environments.



Review Article | Published: 04 November 2021

Antibiotic resistance in the environment

[D. G. Joakim Larsson](#) & [Carl-Fredrik Flach](#)

[Nature Reviews Microbiology](#) 20, 257–269 (2022) | [View this article](#)

Activar Windows

Ver Configuración par

El ambiente como reflejo de la clínica

El medio ambiente puede jugar un papel crucial en la vigilancia de la RAM, complementando el monitoreo de la situación en poblaciones humanas y animales

naturemedicine

Explore content ▾ About the journal ▾ Publish with us ▾

nature > nature medicine > comment > article

Comment | Published: 08 September 2022

Wastewater surveillance of pathogens can inform public health responses

Megan B. Diamond , Aparna Keshaviah , Ana I. Bento, Otakuye Conroy-Ben, Erin M. Driver, Katherine B. Ensor, Rolf U. Halden, Loren P. Hopkins, Katrin G. Kuhn, Christine L. Moe, Eric C. Rouchka, Ted Smith, Bradley S. Stevenson, Zachary Susswein, Jason R. Vogel, Marlene K. Wolfe, Lauren B. Stadler & Samuel V. Scarpino 

Nature Medicine 28, 1992–1995 (2022) | [Cite this article](#)

- 1929 *Salmonella enterica* aislada de efluentes cloacales para la detección de portadores.
Gray JDA: The isolation of *B. paratyphosus* B from sewage. The British Medical Journal 1929;142:144 <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.1.3551.142>
- 2003, OMS vigilancia ambiental de **poliovirus** (sensibilidad de la vigilancia de aguas residuales 100 individuos infectados (asintomáticos) en >10,000 personas)

Vigilancia a gran escala de SARS-COV-2 herramienta sensible de alerta temprana para ayudar en la toma de decisiones de salud pública

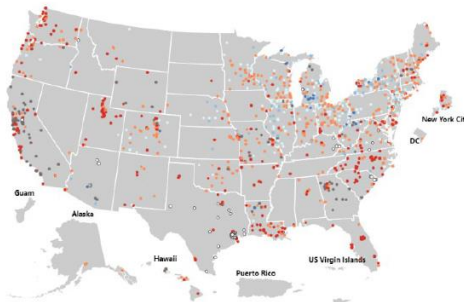


National Wastewater Surveillance System (NWSS)

Search



NATIONAL WASTEWATER
SURVEILLANCE SYSTEM



50% de la población total (>144 millones de personas)
PCR (qPCR o dPCR)
Muestreo 2 x semana

Potential pathogen targets

- SARS-CoV-2*
- Influenza A and B*
- Respiratory Syncytial Virus*
- Adenovirus 40/41
- Shiga toxin-producing *E. coli*
- *Campylobacter*
- Norovirus
- *Candida auris*
- Mpox (non-Variola Orthopox)*
- West Nile Virus

Antibiotic resistance genes

- Carbapenemases
- ESBLs
- Colistin resistance
- Vancomycin resistance

NOVEDADES

Fin 2024 año

calendario

Amy Kirby

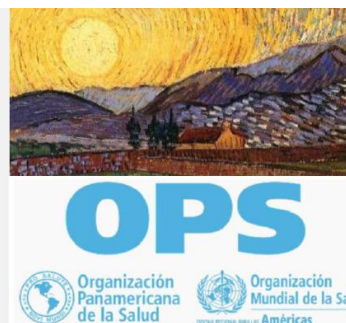
(Chief Science Officer)

MINISTERIO DE SALUD Y MINISTERIO DE OBRAS PÚBLICAS

Resolución Conjunta 1/2023

RESFC-2023-1-APN-MOP

Ciudad de Buenos Aires, 29/11/2023



Se creó la Red De Vigilancia Epidemiológica de Aguas Residuales

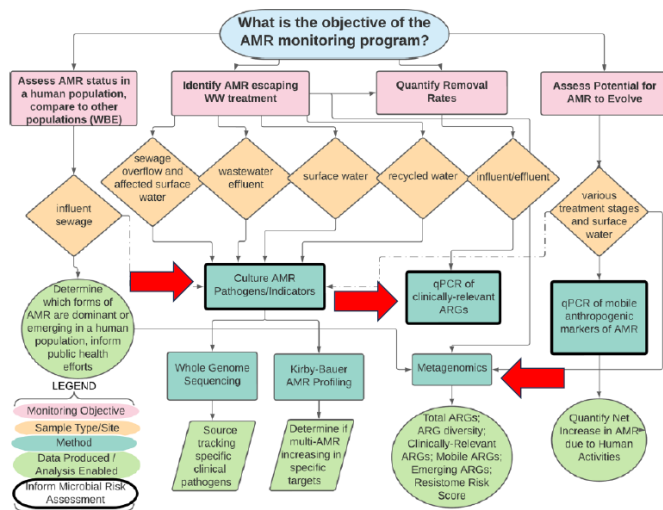
El Ministerio de Obras Públicas junto al Ministerio de Salud creó esta Red (ReVEAR), una herramienta que impulsa acciones intersectoriales para mejorar indicadores sanitarios, reduciendo riesgos ambientales y sociales.

Antimicrobial Resistance Monitoring of Water Environments: A Framework for Standardized Methods and Quality Control

Krista Liguori, Ishi Keenum, Benjamin C. Davis, Jeanette Calarco, Erin Milligan, Valerie J. Harwood, and Amy Pruden*

Cite This: *Environ. Sci. Technol.* 2022, 56, 9149–9160

Read Online



Vigilancia ambiental de la RAM: necesidad de métodos adaptables, modulares y estandarizados.

1. Evaluar el nivel de RAM en la población
2. Identificar RAM que se escapa de una planta
3. Cuantificar la eficacia de la remoción de GRAs
4. Evaluar el potencial de evolución de RAM en el medio ambiente

Activar Windo
Ve a Configuración

Systematic review of wastewater surveillance of antimicrobial resistance in human populations

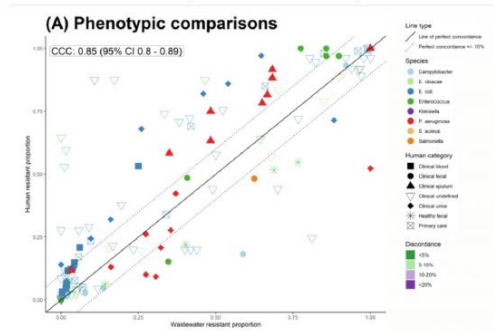
K.K. Chau^{a,*}, L. Barker^a, E.P. Budgell^a, K.D. Vihta^a, N. Sims^b, B. Kasprzyk-Hordern^b, E. Harriss^c, D.W. Crook^{a,d}, D.S. Read^e, A.S. Walker^{a,f}, N. Stoesser^{a,d}

Environment International 162 (2022) 107171

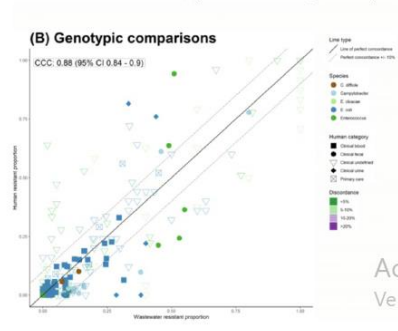
Revisión sistemática de Chau et al. (2022) analizó 33 estudios sobre prevalencia de RAM en aguas residuales y poblaciones humanas.

Alta concordancia entre RAM en aguas residuales y poblaciones humanas

CCC de 0.85 para datos fenotípicos

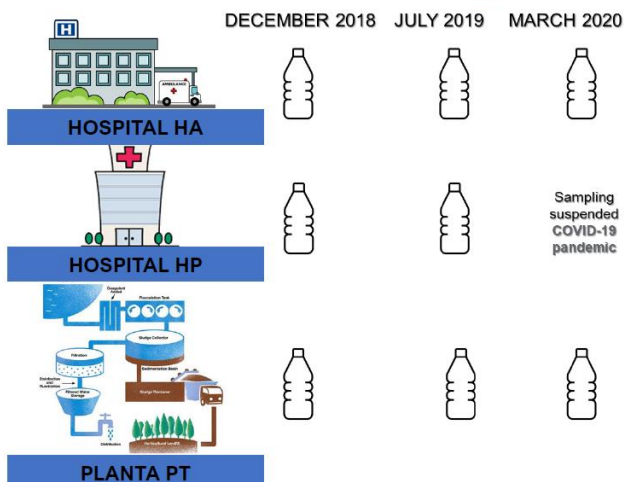


CCC de 0.88 para datos genotípicos



Activar Win
Ve a Configuración

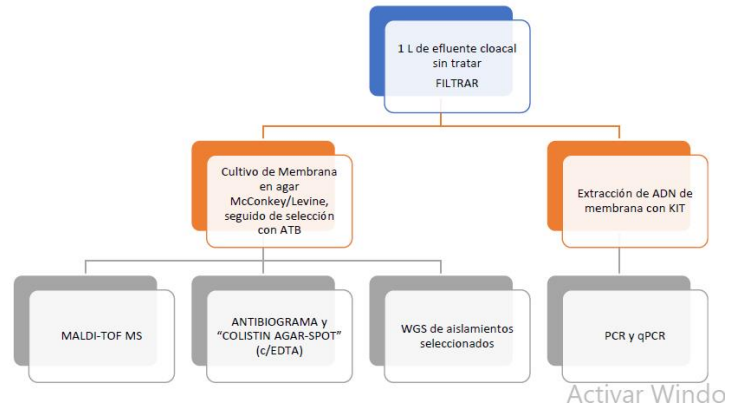
Proyecto piloto UBA-USP-HOSPITALES CABA – PT 2018-2019-2020



- Establecer los criterios metodológicos para un proyecto a futuro
- ¿Qué diversidad encontraremos?
¿Los clones circulantes en la clínica, prevalecen en los efluentes analizados?
- ¿Persisten las mismas plataformas genéticas o hay otras desconocidas?

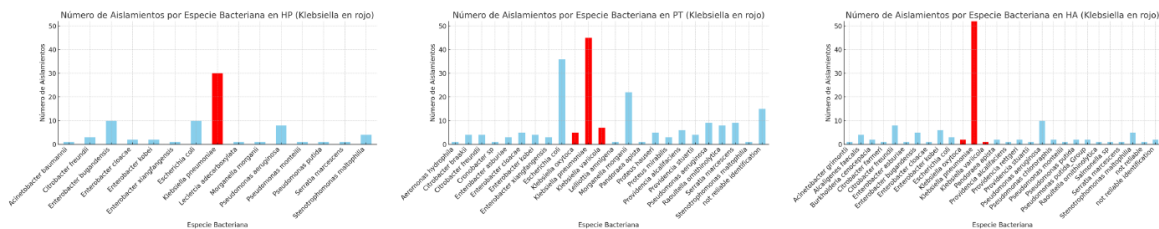
Activar Wind
Ve a Configuración

Metodología simplificada En búsqueda de la diversidad



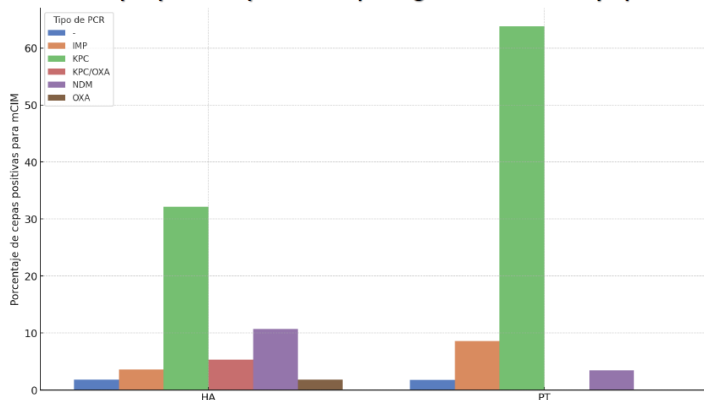
Frecuencia de aislamientos por sitio de muestreo

Se recuperaron 402 aislamientos, de los cuales 144 pertenecían al género *Klebsiella* según MALDI-TOF MS. Fue el género mayoritario.



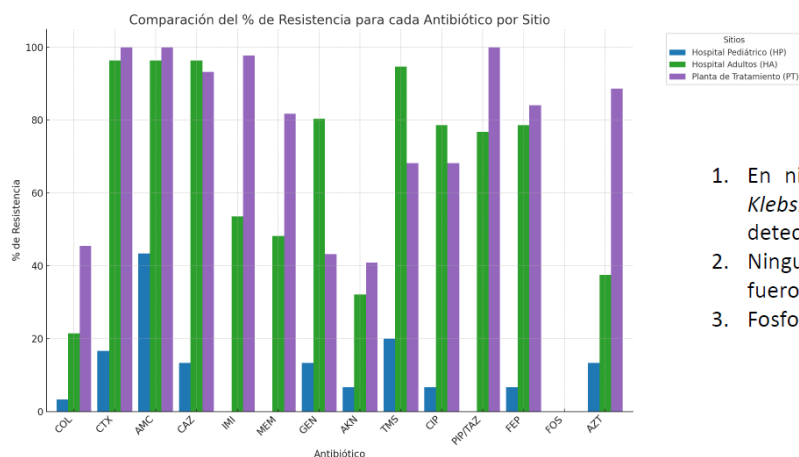
Detección de carbapenemasas

% de cepas positivas para mCIM por lugar de aislamiento y tipo de bla (PCR)



- 76/144 fueron mCIM (+)
- Ningún aislamiento de HP (30) fue productor de carbapenemasa
- Las cepas mCIM (+) con KPC/OXA fueron productoras de la CARBAPENEMASA KPC-2 y la BLEE OXA-163
- No se detectaron DOBLE PRODUCTORAS de CBPasas

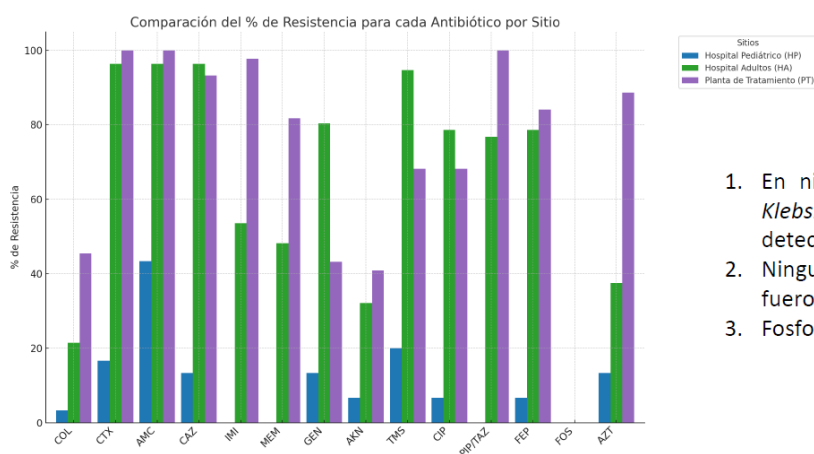
Perfil de Sensibilidad Antibiótica en *Klebsiella* sp. por sitio de aislamiento



1. En ninguno de los aislamientos de *Klebsiella* sp. resistentes a colistina se detectó la presencia de MCR-1.
2. Ninguno de los aislamientos de HP fueron R a CBP.
3. Fosfomicina fue el ATB más activo.

Activar Win

Perfil de Sensibilidad Antibiótica en *Klebsiella* sp. por sitio de aislamiento



1. En ninguno de los aislamientos de *Klebsiella* sp. resistentes a colistina se detectó la presencia de MCR-1.
2. Ninguno de los aislamientos de HP fueron R a CBP.
3. Fosfomicina fue el ATB más activo.

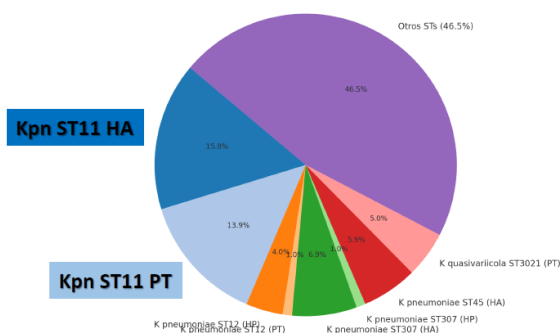
SGC de 101 aislamientos

La mayoría de los aislamientos pertenecían a *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. (75/101)

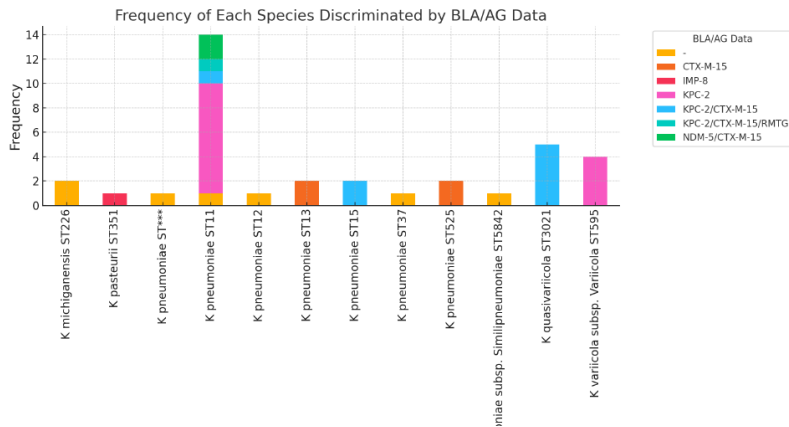
	N° aislamientos	mCIM +	N° aislamientos WGS	mCIM +
HA	56	31	43	25
HP	30	0	22	0
PT	58	45	36	15

Según morfología de la colonia, patrón de bandas REP y ERIC y antibiograma procuramos quedarnos con aislamientos

Distribución de Especies Bacterianas del Complejo K por ST y Sitio de Aislamiento



Planta de Tratamiento

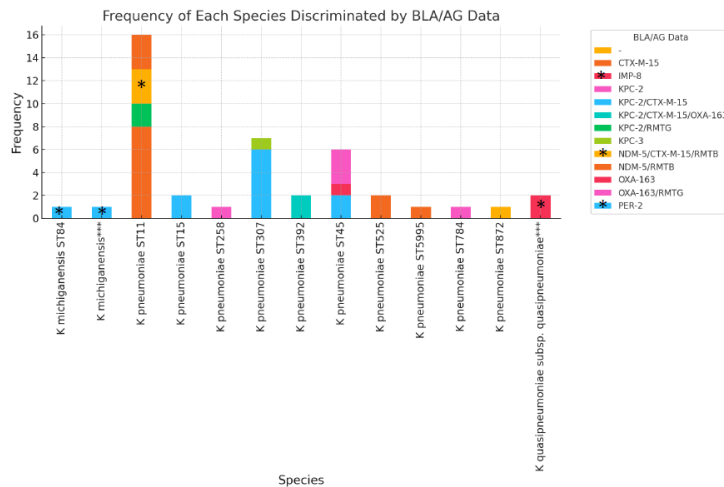


- Kpn ST11 –
- Kpn ST11 KPC-2
- Kpn ST11 KPC-2/CTX-M-15
- Kpn ST11 NDM-5/CTX-M-15
- Kpn ST11 KPC-2/CTX-M-15/RMTG

K. pasteurii IMP-8

K quasivariicola KPC-2/CTX-M-15

Hospital HA



- Kpn ST11 CTX-M-15
- Kpn ST11 KPC-2/RMTG
- Kpn ST11 NDM-5/CTX-M-15/RMTB
- Kpn ST11 NDM-5/RMTB

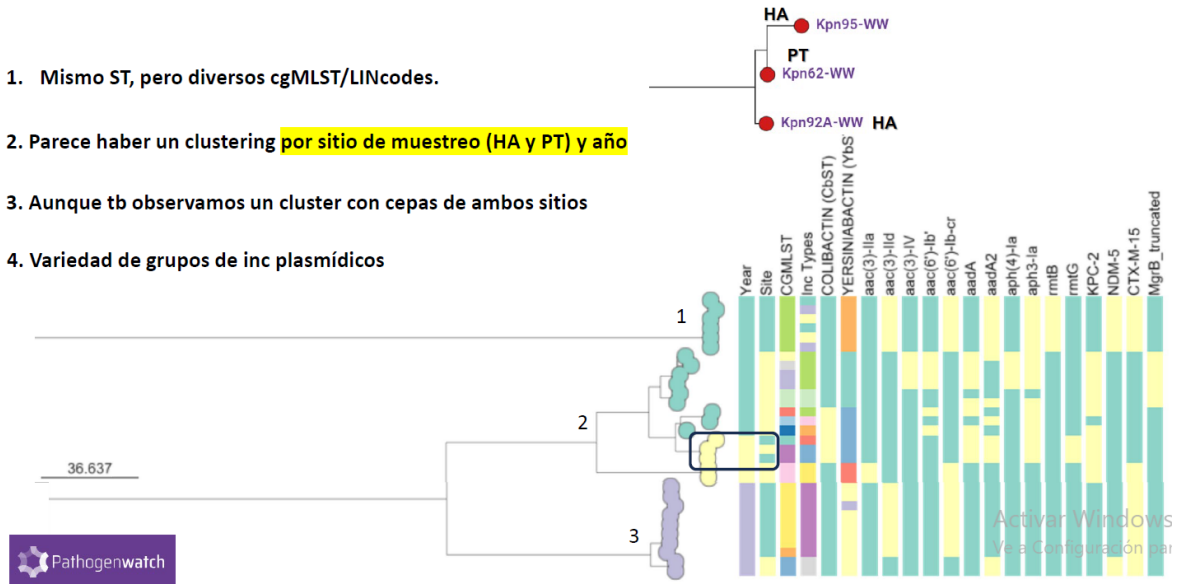
- Kpn ST307 KPC-3
- Kpn ST307 KPC-2/CTX-M-15

- Kpn ST45 KPC-2
- Kpn ST45 KPC-2/CTX-M-15
- Kpn ST45 OXA-163/RMTG

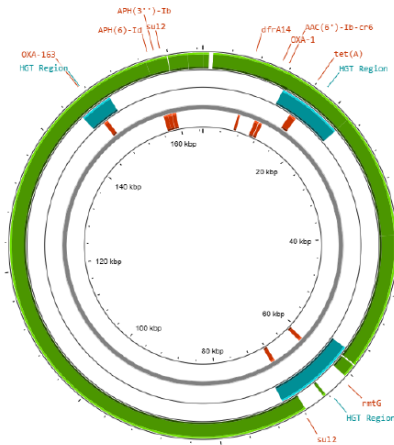
Windows
Ve a Configuración por

Árbol de Genoma conservado de Kpn ST11

1. Mismo ST, pero diversos cgMLST/LINcodes.
2. Parece haber un clustering **por sitio de muestreo (HA y PT) y año**
3. Aunque tb observamos un cluster con cepas de ambos sitios
4. Variedad de grupos de inc plasmídicos



Emergencia de rmtG



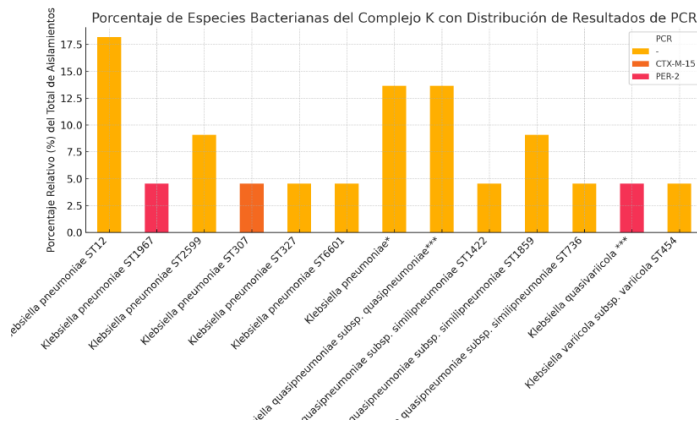
La secuenciación con Nanopore permitió el cierre del plásmido portador de rmtG. Este pertenecía a IncC y tenía una cobertura del 95% y una similitud del 99,98% con p21014_170Kb de *K. pneumoniae* de origen humano en Argentina, expresando una variante de OXA-163.

Nos preguntamos...

- ¿El “clustering” que vemos sugiere que los diferentes sitios pueden estar "seleccionando" diferentes subcomunidades de *Klebsiella* sp?
- ¿Los inc groups están asociados a genes de RAM?
- ¿Las cepas que circulan provienen de un trasfondo genético uniforme que van incorporando plásmidos o bien son trasfondos heterogéneos que coexisten y emergen en base a la oportunidad y a la presión de selección? Una oportunidad para cerrar plásmidos y genomas.

- PT
- Kpn ST11 –
- Kpn ST11 KPC-2
- Kpn ST11 KPC-2/CTX-M-15
- Kpn ST11 NDM-5/CTX-M-15
- HA
- Kpn ST11 CTX-M-15
- Kpn ST11 NDM-5/CTX-M-15/RMTB
- Kpn ST11 NDM-5/RMTB

Hospital HP



- Kpn ST307 CTX-M-15
- *K. quasivariicola**** PER-2
- La mayoría de los aislamientos tenían
- un fenotipo WT

Árbol de genoma conservado de Kpn ST307

¿Un clon de la clínica o del agua residual?



1- Uno de los clones, aislado de HA en el 2018, tenía un Virulence Score de 3

2- Fue el único aislamiento con AEROBACTINA

3 - Fue el único aislamiento con KPC-3



Activar Windows
Ve a Configuración p

Core Genome Clustering por PW

Core genome clustering

[klebsiella_1](#)

Cluster of 437 at threshold of 1



Kpn101-WW	307	4_1_2_52_1_1_7
SAMN14537681	307	4_1_2_52_1_1_7

Changing epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Argentina: Emergence of hypermucoviscous ST25 and high-risk clone ST307

Daniela Cejas^{a,b}, Alan Elena^{a,b}, Daiana Guevara Nuñez^c, Priscila Sevillano Platero^{a,f}, Adriana De Paulis^c, Francisco Magariños^d, Claudia Alfonso^d, María Alejandra Berger^e, Liliana Fernández-Canigia^e, Gabriel Gutkind^{a,b}, Marcela Radice^{a,b,*}



Characterization of Emerging Pathogens Carrying *bla*_{KPC-2} Gene in IncP-6 Plasmids Isolated From Urban Sewage in Argentina

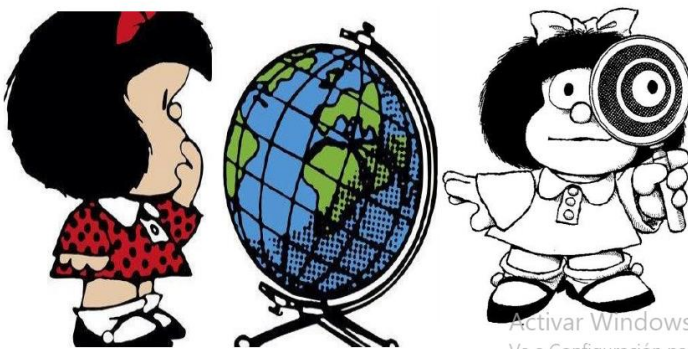
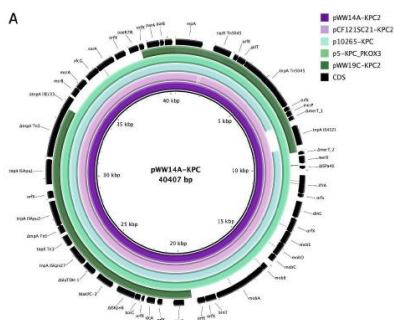
Barbara Ghigloni^{1,2}, María Sol Haim¹, Pedro Ponzotti¹, Florencia Brunetti^{1,2}, Gabriela D'Amico González^{1,2}, José Di Conza^{1,2}, Roque Figueroa-Espinoza^{1,2}, Lilia Nájera³, María Toranzo Pego Razzolini⁴, Bruna Figue⁵, Fernanda Esposito⁶, Maximiliano Vander Horden⁶, Nilton Lincopan⁶, Gabriel Gutkind^{1,2}, Pablo Power^{1,2} and Milena Droga^{1*}

OPEN ACCESS

Microb Drug Resist. 2022 Oct;28(10):957-961. doi: 10.1089/mdr.2021.0466. Epub 2022 Aug 18.

Emergence of Urease-Negative *Klebsiella pneumoniae* ST340 Carrying an IncP6 Plasmid-Mediated *bla*_{KPC-2} Gene

José Di Conza^{1,2}, María E Badaracco³, Yanina Calza³, Harrison Fontana⁴, Nilton Lincopan⁴, Laura Peña³, Gabriel Gutkind^{1,2}



Reservorios viajeros

- POCAS CARBAPENEMASAS EN LAS SALAS, MUCHAS CARBAPENEMASAS EN LAS TUBERÍAS.
- Sin embargo, encontraron estructuras comunes de plásmidos en ambas poblaciones, lo que resalta un potencial reservorio ambiental de elementos móviles que pueden contribuir a la propagación de genes de resistencia.

mBio. 2018 Feb 6;9(1):e02011-17. doi: 10.1128/mBio.02011-17.

Genomic Analysis of Hospital Plumbing Reveals Diverse Reservoir of Bacterial Plasmids Conferring Carbapenem Resistance

Rebecca A Weingarten^{#1}, Ryan C Johnson^{#2}, Sean Conlan^{#2}, Amanda M Ramsburg¹, John P Dekker¹, Anna F Lau¹, Pavel Khil¹, Robin T Odom¹, Clay Deming², Morgan Park³, Pamela J Thomas³; NISC Comparative Sequencing Program; David K Henderson¹, Tara N Palmore^{#1}, Julia A Segre^{#2}, Karen M Frank^{#4}

Activar Windows
Vea a Configuración de Windows

Y NDM-1?

Citrobacter amalonaticus strain M21015 plasmid pNDM-M21015, complete sequence

NCBI Reference Sequence: NZ_MK041212.1

Paciente pediátrico BA 2016

[FASTA](#) [Graphics](#)

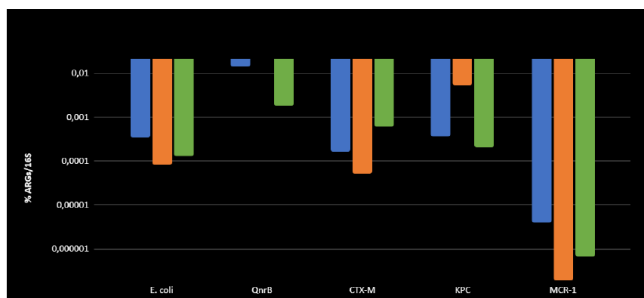
Short communication

Characterization of a multidrug resistant *Citrobacter amalonaticus* clinical isolate harboring *bla*_{NDM-1} and *mcr-1.5* genes

Diego Faccone^{a b}, Ezequiel Albornoz^a, Nathalie Tijet^c, Estefania Biondi^d,
Sonia Gomez^{a b}, Fernando Pasterán^a, Miryam Vazquez^d, Roberto G. Melano^{c e},
Alejandra Corso^a  

Activar Wir
Ver a Configuración

Cuantificación de GRAs por qPCR



Perspectivas: Protocolos estandarizados

Home / Publications / Overview / WHO integrated global surveillance on ESBL-producing E. coli using a "One Health" approach: Implementation and opportunities

WHO integrated global surveillance on ESBL-producing E. coli using a "One Health" approach: implementation and opportunities

16 March 2021 | Publication



Overview

WHO and the Advisory Group on Integrated Surveillance on AMR (AGISAR) supported WHO to develop a standard protocol for integrated multisectoral surveillance. The model targets monitoring one indicator, the extended spectrum beta-lactamases (ESBL) producing *Escherichia coli* across the human, animal and environmental sectors, the "Tricycle protocol". This protocol includes standard methodologies in the human, food chain and environmental sectors to be implemented in low resource settings to facilitate the establishment of the integrated multisectoral surveillance on AMR. Countries can build from this simple approach a complete national surveillance system that involves other cross cutting pathogens, resistance mechanisms and expand the implementation in different cities and provinces in the country to get more evidence of the spread of the antimicrobial resistance in the different sectors and allow the implementation of interventions in a holistic way to contain AMR.

WHO TEAM

Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS), Surveillance, Prevention and Control (SPC)

EDITORS

World Health Organization

NUMBER OF PAGES

76

REFERENCE NUMBERS

ISBN: 978-92-4-002140-2

COPYRIGHT



...Y más de 1 solo biomarcador

- Enterococos
- Pseudomonas
- Acinetobacter
- Aeromonas
- Levaduras

<i>Escherichia coli</i>	- Aligns with existing regulatory requirements - EPA and ISO standard methods available - Recreational water regulations in U.S. - Human clinical and One Health relevance - Utilities already have infrastructure in place - mTEC agar well validated for drinking water, surface water, and wastewater - WHO Tricycle protocol already available	- health risk or the broader resistome - Current regulatory trends are moving towards more precise targets, rather than indicators. - <i>E. coli</i> is a genetically complex target - Clinical relevance and forms of resistance are site-specific
<i>Enterococcus</i> spp.	- Provides insight into Gram + AMR to complement Gram – monitoring - EPA and ISO standard methods available - Recreational water regulations in U.S.; drinking water standards in EU - mEI agar well validated for drinking water, surface water, and wastewater	- Broad range of <i>Enterococcus</i> species that vary in clinical relevance - Speciation and genotyping needed for determining clinical relevance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- Environmentally-relevant target that can regrow in water systems and capture potential for evolution of new forms of resistance - Multi-drug resistant forms are highly clinically relevant - Especially relevant to recycled water, where fecal indicators are expected to be diminished	- Standard methods not established for wastewater, recycled water, or surface water - Not currently monitored by water utilities - Sampling protocols will require more complexity (where, when) to capture regrowth
<i>Acinetobacter baumannii</i>	- Clinically relevant with emerging evidence of environmental sources - Carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i> of particular concern	- No published method to date reliably recovers the target from wastewater, recycled water, or surface water
<i>Aeromonas</i> spp.	- EPA standard methods available for assessing regrowth in drinking water that could be adapted - Published research indicates that it captures potential for new forms of resistance to evolve during wastewater treatment	- Less human clinical relevance than the other culture-based options - Not widely monitored by utilities, methods would need validation for wastewater, recycled water, and surface water

Activar Win

“Near site sampling” (COST EFFECTIVE)



Wastewater-based epidemiology for surveillance of infectious diseases in healthcare settings

Francis Hassard^{a,b}, Yadira Bajón-Fernández^{a,b} and Victor Castro-Gutierrez^c

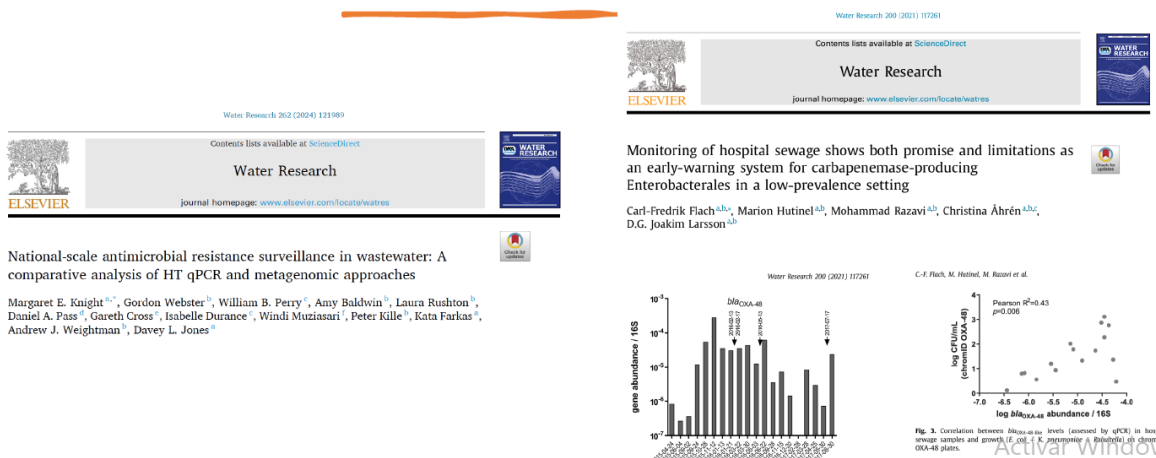
Wastewater monitoring for detection of public health markers during the COVID-19 pandemic: Near-source monitoring of schools in England over an academic year

Francis Hassard , Milan Vu , Shadi Rahimzadeh , Victor Castro-Gutierrez, Isobel Stanton, Beata Burczynska, Dirk Wildeboer, Gianluca Baio, Mathew R. Brown, Hemda Garelick, Jan Hofman, Barbara Kasprzyk-Hordern, Azeem Majeed [...], Mariachiara Di Cesare [view all]

Published: May 30, 2023 • <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286250>

Activar Win
Ve a Configuraci

qPCR para complementar el cultivo



Conclusiones

- Medición directa de BRA viables: El cultivo de indicadores fecales o patógenos proporciona una medida directa, con posibilidades de perfil fenotípico y genotípico mediante WGS.
- Protocolo Triciclo de la OMS: Lanzado para enumerar *E. coli* productora de BLEE, aplicable en el marco de Una Salud.
- Protocolos similares: Desarrollados para *Enterobacterales* y BGNMF resistentes, enfocados en BLEE y resistencia a carbapenemes, otras resistencias.
- Ventaja del cultivo en LMIC: Infraestructura de monitoreo de bajo costo y ampliamente disponible, con posibilidad de enviar aislamientos a laboratorios centralizados.
- Monitoreo molecular: Adaptable a LMIC, con qPCR para cuantificación sensible de objetivos específicos de resistencia y evaluación de la eficacia del tratamiento de agua en la reducción de AMR o bien de medidas de control de infección.

GRACIAS

Hospitales, AYSA
Directivos y personal



Dra. Milena Dropa
Milena.Dropa@cranfield.ac.uk
milenadropa@gmail.com



Dra. María Sol Haim
solhaim@gmail.com

UBA FARMACIA Y BIOQUÍMICA



IBaViM
Instituto de Investigaciones en
Bacteriología y Virología Molecular

Dra Pamela Valva
Dr. Hernán Pérez
MSc Noelia Costanzo



CONICET



Barbara Ghiglione, PhD
barbarag@ffyba.uba.ar
barbaraghiglione@gmail.com