

Epidemiología genómica de *Acinetobacter baumannii* en Sudamérica

Diana Flores-León ^(1,2), Juan Ramírez-Illescas ⁽¹⁾, Maritza Mayta-Barríos ⁽¹⁾, Willi Quino ⁽¹⁾, Kevin Serrano-Segura ⁽¹⁾, Eva Huamani-Benitez ⁽¹⁾, Junior Caro-Castro ⁽¹⁾, Paul Fernández ⁽¹⁾, Ronnie G. Gavilán ^(1,2)

(1) Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, (2) Universidad Privada San Juan Bautista, Lima, Perú.

Introducción

Acinetobacter baumannii es un patógeno nosocomial oportunista responsable de una amplia gama de infecciones nosocomiales, incluyendo la neumonía asociada a ventilación mecánica y la bacteriemia (35-52 % de mortalidad), así como infecciones de la piel y los tejidos blandos, endocarditis, infecciones del tracto urinario, y meningitis. Los aislamientos nosocomiales de esta bacteria a menudo son resistentes a la mayoría de los antibióticos actualmente disponibles. Recientemente, *A. baumannii* resistente a los carbapenémicos ha sido considerada un patógeno crítico para la salud pública, encabezando la lista de prioridades mundiales de bacterias resistentes a los antibióticos publicada por la Organización Mundial de la Salud (Tacconelli et al., 2018). Aunque la estructura de la población de *A. baumannii* es bastante diversa, parece haber una propagación clonal de unos pocos linajes epidémicos que predominan sobre el resto. En particular, estos linajes están asociados con la producción de enzimas similares a OXA-23, OXA-24 u OXA-51 (Karah et al., 2012). Sin embargo, el conocimiento de la epidemiología y los perfiles de susceptibilidad antibacteriana de *A. baumannii* aún es incompleto en muchas partes del mundo, incluidos países de América Latina como Perú (Levy-Blitchtein et al., 2018).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar los linajes epidemiológicos y resistencia antimicrobiana de cepas de *A. baumannii* aisladas en Perú, utilizando métodos de secuenciación de última generación.

Metodología

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN: El estudio incluyó 16 cepas peruanas de *A. baumannii* recibidas por el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Salud (INS), y la información genómica de 85 cepas aisladas a nivel de Sudamérica descargadas del GenBank

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE *A. baumannii*: Las cepas fueron sembradas en Agar Trypticase soya (TSA) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. La especie *A. baumannii* fue confirmada empleando un analizador MALDI-Biotyper, siguiendo los protocolos del fabricante.

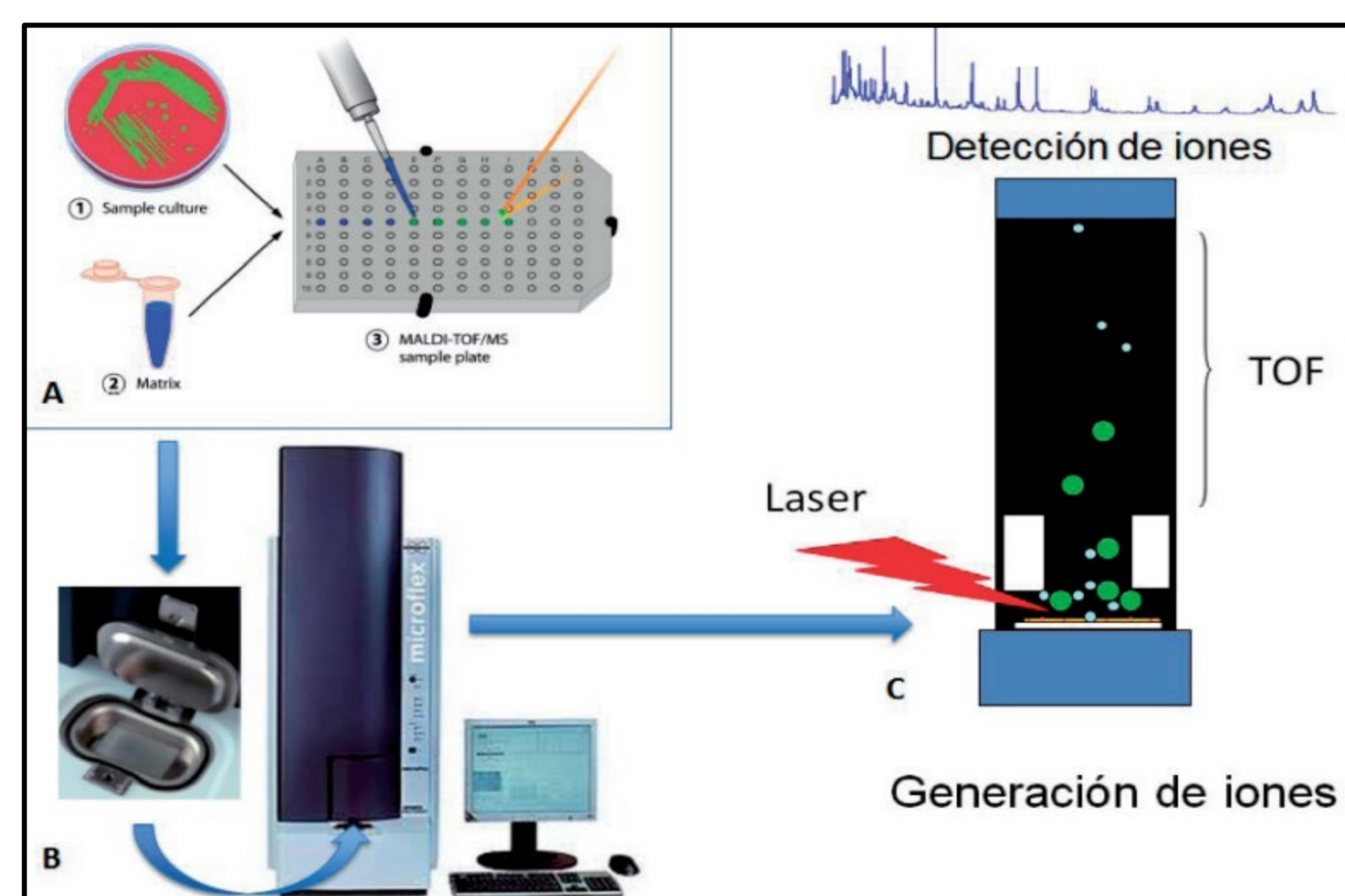


Figura 1. Esquema de análisis y caracterización de *A. baumannii* mediante MALDI-TOF

PREPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE BIBLIOTECAS: La extracción del ADN genómico se realizó con el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Alemania). La concentración del ADN se cuantificó en un fluorómetro Qubit 3.0 (Invitrogen, Malasia). Las bibliotecas se realizaron con el kit de preparación Nextera XT (Illumina, EE. UU.) y la secuenciación genómica con un secuenciador MiSeq (Illumina, EE. UU.).

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO: La calidad de las secuencias se evaluó mediante FastQC. Las secuencias se ensamblaron *de novo* utilizando A5-miseq. Los genotipos se asignaron mediante MLST (<https://pubmlst.org/organisms/acinetobacter-baumannii>). La inferencia filogenética se realizó a partir del genoma core empleando RaxML (Stamatakis, 2014), y el genoma de referencia de *A. Baumannii* K09-14.

DETECCION DE GENES DE RESISTENCIA: Los genes homólogos para resistencia antimicrobiana se identificaron a partir de la base de datos de ResFinder, con una identidad >90 % y cobertura de alineamiento >60 %. La información se asoció a la filogenia previamente obtenida.

Tabla 1. Genotipos de las cepas de *A. baumannii* determinados por MLST incluidas en el estudio y su asociación con los genes *blaOXA*.

Genotipo (MLST)	País	Nro de cepas	Genes <i>blaOXA</i> asociados
ST-79	Argentina y Brasil y Perú	24	OXA-23, OXA-65
ST-1	Brasil y Chile	18	OXA-23, OXA-69
ST-15	Brasil y Chile	16	OXA-23, OXA-51
ST-2	Perú	11	OXA-66, OXA-72
ST-25	Argentina y Brasil	10	OXA-23, OXA-64
Otros ST (10)	Brasil, Colombia y Chile	10	Diversos OXA acordes a cada ST
No identificado	Argentina y Brasil	12	Diversos OXA

Resultados y discusión

GENOTIPOS CIRCULANTES DE *A. baumannii*: Se detectaron 15 ST diferentes según MLST. Los genotipos mas frecuentes fueron ST-79 (23.8%), ST-1 (17.8%), ST-15 (15.8%), ST-2 (10.9%) y ST-25 (9.9%). Los únicos genotipos reportados para Perú fueron ST-2 y ST-79 (Tabla 1), lo que concuerda con lo mencionado por Levy-Blitchtein et al. (2018).

FILOGENIA DE *A. baumannii*: Las cepas de un mismo genotipo (ST) se agruparon mayoritariamente dentro del mismo clado. Las cepas peruanas del ST-2 estuvieron filogenéticamente relacionadas a una cepa ST-49 de Brasil, mientras que las cepas peruanas del ST-79 estuvieron relacionadas a una cepa del mismo genotipo pero aisladas en Argentina (Figura 2).

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *A. baumannii*: Se encontraron genes de resistencia para múltiples familias de antibióticos, entre las que destacan la resistencia a sulfamidas (*sul*), tetraciclinas (*tet*), aminoglucósicos (*aac*, *ant* y *aph*), cloranfenicol (*cat*, *floR*), diaminopirimidinas (*dfra*), además de la resistencia a carbapenémicos mediante síntesis de carbapenemasas (*blaOXA*) (Figura 2). Además, se observó una asociación entre los genotipos de *A. baumannii* y la presencia de las variantes intrínseca y extrínseca de los genes *blaOXA* (Tabla 1), algo que también había sido reportado previamente por Levy-Blitchtein et al. (2018).

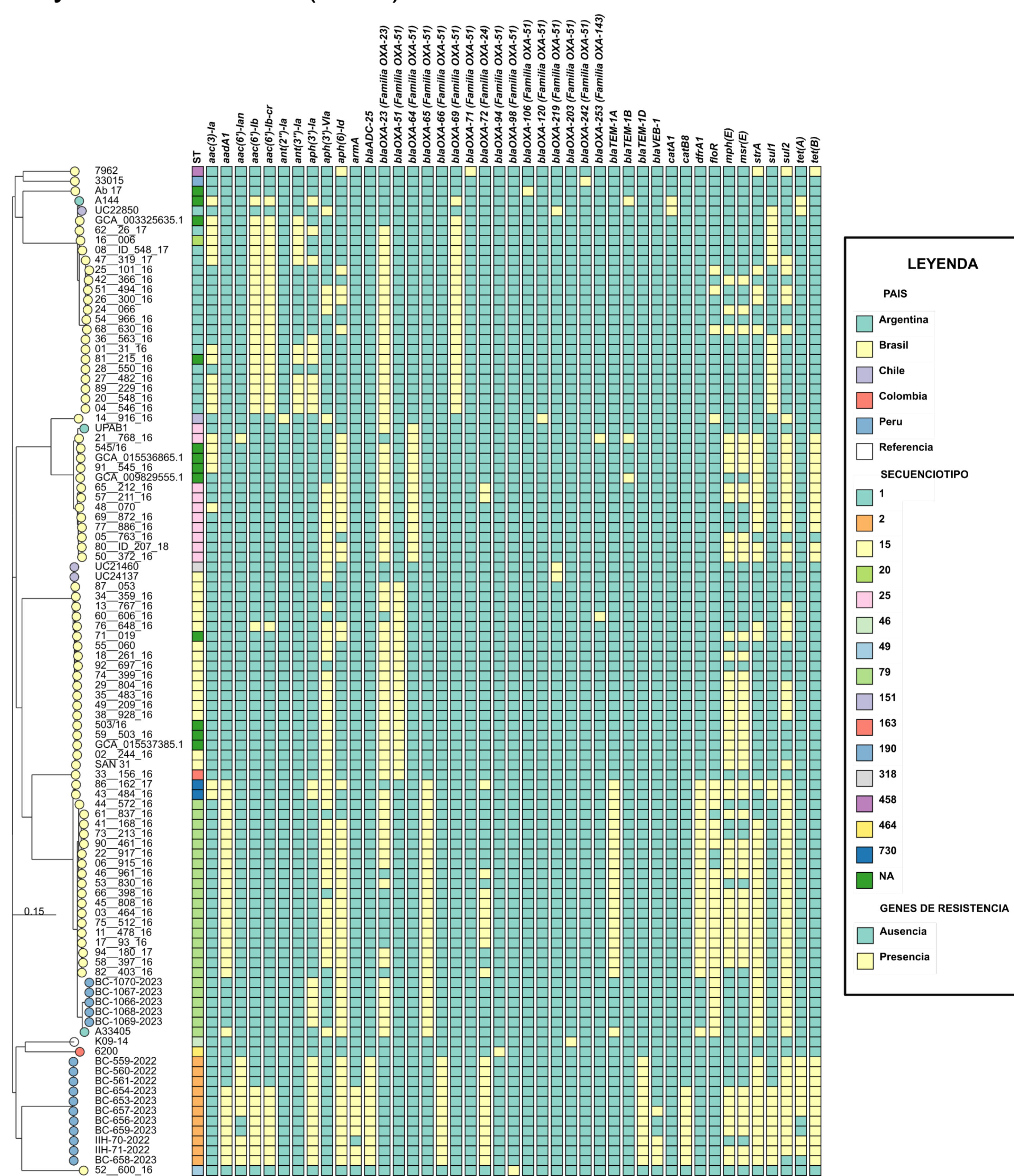


Figura 2. Filogenia de cepas de *A. baumannii* recuperadas en Perú y Sudamérica. El color de los nodos indica el país de donde fueron aisladas las cepas, la primera fila de bloques representa el secuenciotipo (ST) mediante colores diferentes, mientras que los bloques restantes indican la presencia/ausencia de genes de resistencia, según la leyenda.

Conclusiones

- Los dos genotipos circulantes de *A. baumannii* en Perú corresponden a ST-2 y ST-79. A nivel de Sudamérica, el ST-2 parece circular únicamente en Perú
- Se detectó resistencia a múltiples familias de antibióticos en todas las cepas peruanas y las de Sudamérica, destacando los genes para la síntesis de carbapenemasas (familia *blaOXA*), cuyas variantes genéticas parecen ser específicas de cada genotipo de *A. baumannii*.
- Se resalta la importancia del continuo monitoreo genómico de la resistencia antimicrobiana de *A. baumannii* empleando secuenciación de genoma completo.

Referencias

1. Tacconelli E et al. 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. The Lancet. Infectious diseases, vol, 18 318–327.
2. Karah N et al. 2012. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. Drug resistance updates, vol 15, 237–247.
3. Levy-Blitchtein S et al. 2018. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. Emerging microbes & infections, vol 7, 119.
4. Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics (9), vol 30, 1312–1313.