

Caracterización de genes de resistencia, virulencia, estrés y metales pesados de aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* de Perú

Angie K. Castillo, Rosario Huerto-Huánuco, Luciano A. Palomino-Kobayashi, Joaquim Ruiz

Grupo de Investigación en Dinámicas y Epidemiología de la Resistencia a Antimicrobianos - “One Health”, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

Introducción

La resistencia a antibióticos (RAM) implica una amenaza a la salud pública en pleno siglo XXI, al estimarse que morirán 10 millones de personas por año para el 2050. Las bacterias gramnegativas y, prioritariamente, las que están dentro del grupo EsKAPEc fueron responsables de 929 000 (660 000–1 270 000) muertes atribuibles a la RAM y 3,57 millones (2, 62–4, 78) muertes asociadas con RAM en 2019 [1].

Según la lista actualizada de patógenos prioritarios de la OMS (2024), *A. baumannii* y *K. pneumoniae* son considerados patógenos críticos; mientras que *P. aeruginosa* se encuentra dentro del grupo de prioridad alta. La Secuenciación de Nueva Generación permite obtener información acerca del genoma completo del microorganismo de manera eficiente y rápida, brindándonos información relevante para la lucha contra la RAM. Asimismo, la resistencia a metales pesados contribuye en la co-selección, evolución y distribución de los genes de la RAM.

El objetivo de este estudio fue caracterizar genes de resistencia, virulencia, estrés y metales pesados de aislados clínicos de *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* de diferentes hospitales del Perú durante el periodo de la COVID-19.

Metodología

Un total de 23 cepas clínicas: *A. baumannii* (5), *K. pneumoniae* (7) y *P. aeruginosa* (11) fueron aisladas de hospitales peruanos (Lima, Piura y Arequipa) durante la pandemia de la COVID-19 (2021-2022). La extracción de ADN se realizó con el ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep Kit (Zymo Research, California, Estados Unidos de América) siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se cuantificó el ADN mediante fluorometría tomando el ratio de 260/280 como indicador de pureza cuando se encontraba en el rango de 1,8-2,0 y se observó la calidad mediante un gel de electroforesis.

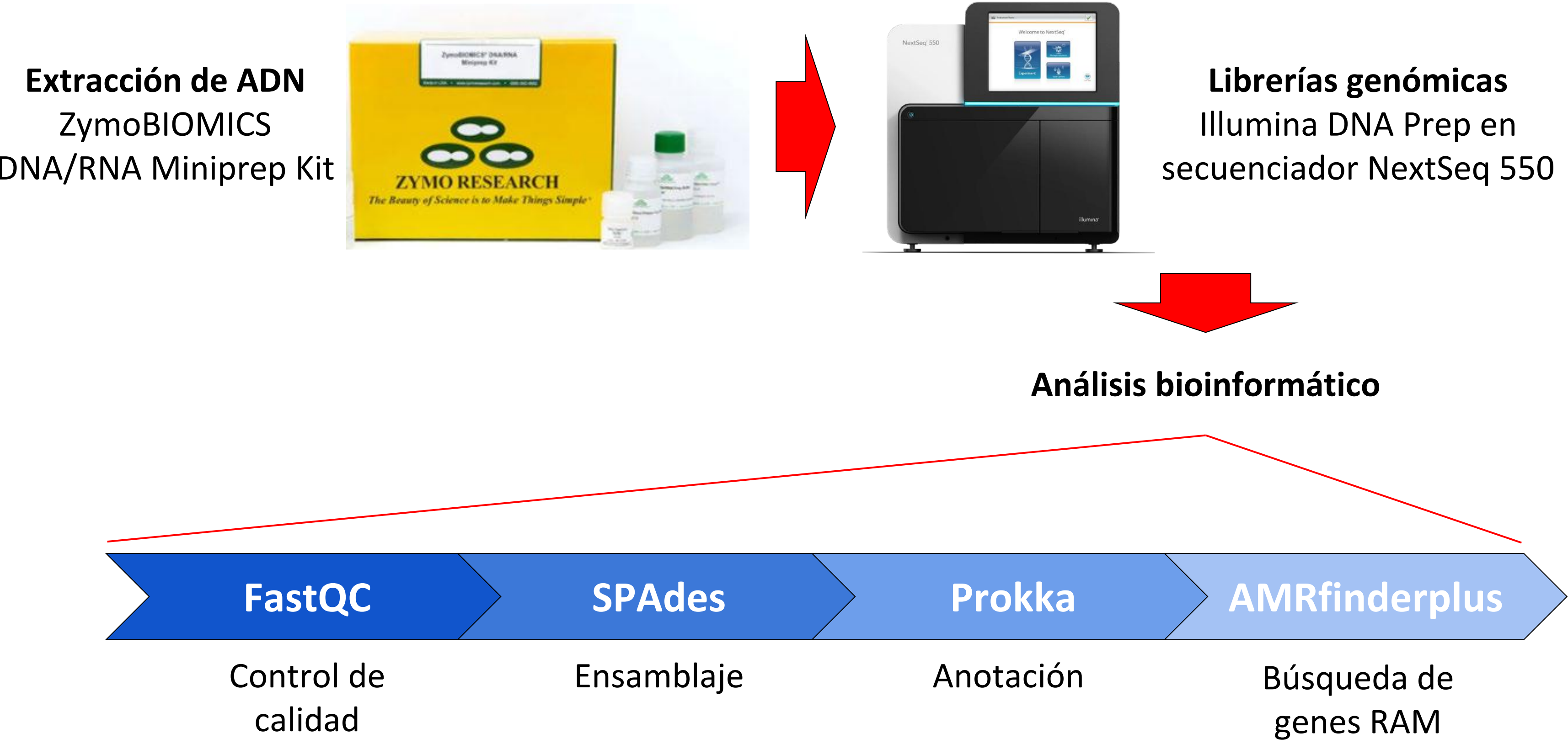


Figura 1. Flujo de trabajo para la obtención de los genomas bacterianos.

Las librerías genómicas se obtuvieron con el kit Illumina DNA Prep (Illumina, California, Estados Unidos de América) y el secuenciamiento se llevó a cabo en una plataforma NextSeq 550 (Illumina, California, Estados Unidos de América), con una longitud de lectura 2x150 y utilizando las especificaciones sugeridas por el fabricante. El control de calidad de las reads se realizó con FastQC. El ensamblaje *de novo* se realizó usando SPAdes y la anotación de genes se obtuvo con Prokka. La determinación de los genes de resistencia antimicrobiana se realizaron mediante la herramienta AMRfinderplus.

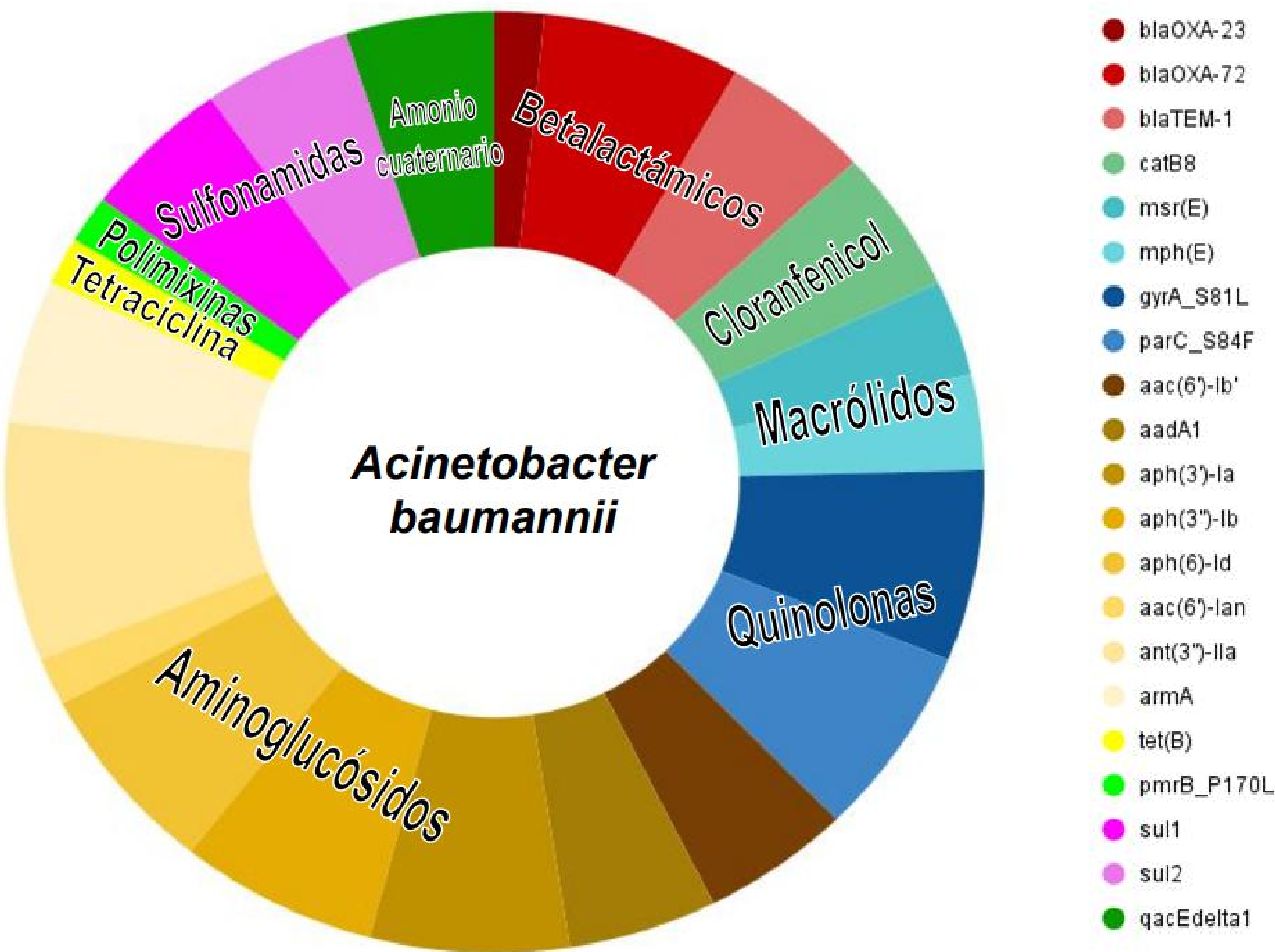


Figura 2. Diversidad de genes de resistencia clasificados por familia de *A. baumannii*.

Resultados y discusión

La mayor diversidad de genes de resistencia, se obtuvo en *K. pneumoniae* (Figura 3), donde inclusive se halló el gen *Inu(G)* que codifica para resistencia a Lincosamida, antibiótico para combatir bacterias grampositivas, y se halló también el gen *ble_{MBL}* que codifica una proteína de resistencia a bleomicina, el cual se usa como medicamento para tratar cáncer. Además, se ha encontrado que el gen *bla_{NDM}* con este último gen se coexpresan con el mismo promotor [2].

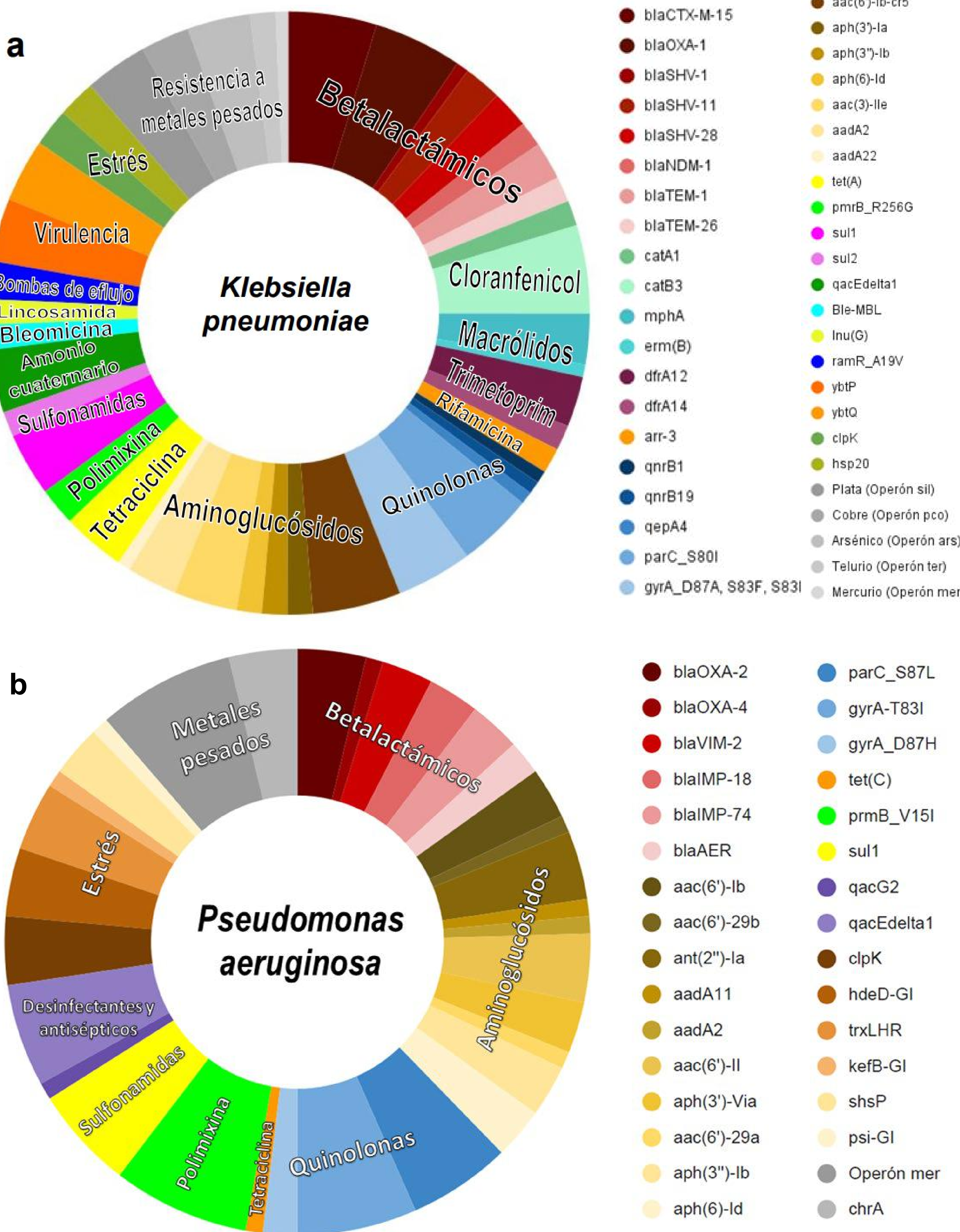


Figura 3. Diversidad de genes de resistencia clasificados por familia. (a) *K. pneumoniae* y (b) *P. aeruginosa*.

En el caso de *A. baumannii* predominaban los genes de resistencia para aminoglucósidos. En *P. aeruginosa*, se encontraron los genes *bla_{VIM-2}*, *bla_{IMP-18}*, *bla_{IMP-74}* y *bla_{AER}*, que codifican enzimas que dan resistencia a carbapenémicos. Asimismo, se encontraron 5 genes (*clpK*, *hdeD_{GI}*, *trxLHR*, *kefB_{GI}* y *shsP*) asociados a la presencia de un locus transmisible de tolerancia al estrés (tLST), que es una isla genómica que da resistencia al calor y al cloro [3]. Adicionalmente, se encontró un 60,9% de prevalencia del total de cepas para *qacEΔ1* que se asocia con la presencia de Integrón de clase I [4]. Respecto a los metales pesados, fue *K. pneumoniae* quien tuvo mayor hasta 5 operones dirigidos a metales diferentes.

Conclusiones

- Los genes de resistencia predominantes fueron hacia betalactámicos y aminoglucósidos, siendo *K. pneumoniae*, quien tuvo mayor diversidad de genes de resistencia a antibióticos y metales pesados.
- Algunas cepas presentaron genes de resistencia hacia grupos de medicamentos no usados directamente contra ellas.

Referencias

- Antimicrobial Resistance Collaborators. (2022). Articles Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019?: a systematic analysis. 399.
- Dortet, L., Girlich, D., Virlouvet, A. L., et al. (2017). Characterization of BRPMBL, the bleomycin resistance protein associated with the Carbapenemase NDM. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(3), 10-1128.
- Wang, Z., Hu, H., Zhu, T., Zheng, et al. (2021). Ecology and Function of the Transmissible Locus of Stress Tolerance in Escherichia coli and Plant-Associated Enterobacteriaceae. *MSystems*, 6(4).
- Stalder, T., Barraud, O., Casellas, M., Dagot, C., & Ploy, M. C. (2012). Integron involvement in environmental spread of antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, 3, 119.