



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas - Programa de Magíster en Ciencias con mención en
Microbiología

Localización y entorno genético del gen *bla*_{KPC} en aislados clínicos de enterobacterias recuperadas en hospitales chilenos

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias con mención en Microbiología

CARLA VERÓNICA BARRÍA LOAIZA
CONCEPCIÓN-CHILE
2015

Profesor Guía: Dra. Helia Magaly Bello Toledo
Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

RESUMEN

Las enterobacterias son una familia de bacilos Gram negativos que se localizan principalmente en el intestino del hombre y otros animales de sangre caliente. Su importancia clínica radica en que al menos 15 especies de esta familia pueden ocasionar diferentes cuadros clínicos, y de estas especies, algunas cepas poseen genes que les confieren resistencia frente a determinados antimicrobianos de uso en clínica, las cuales pueden colonizar pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos, especialmente, aquellos pacientes que reciben tratamiento con antimicrobianos, favoreciendo así la selección de estas cepas, las cuales son consideradas en la actualidad como multiresistentes.

Los antimicrobianos de elección frente a estas infecciones lo constituyen los carbapenémicos, pertenecientes al grupo de los β -lactámicos. En el año 2001 se reportó la primera aparición en Estados Unidos de la enzima denominada KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, producida por una cepa de *K. pneumoniae*, la cual presentó actividad hidrolítica sobre los antibióticos carbapenémicos. Actualmente, esta enzima ha sido aislada en cepas de diversos géneros de enterobacterias e inclusive, en microorganismos no fermentadores. El gen que codifica para esta enzima, *bla*_{KPC}, se encontró inserto en un transposón tipo Tn3 denominado Tn4401, localizado principalmente en plásmidos, los cuales pueden ser conjugativos o no conjugativos, lo que ha facilitado su diseminación mundial. En la actualidad, se han descrito ambientes genéticos que difieren de Tn4401, principalmente debido a rearrreglos genéticos como inserciones o deleciones de genes.

Cepas productoras de la enzima KPC han sido detectadas en diversos países de todos los continentes. En marzo de 2012, se aisló por primera vez una cepa de *K. pneumoniae* portadora de *bla*_{KPC} en Chile, y entre los años 2012 y 2013, suman 19 aislamientos con similares características.

El objetivo de esta tesis fue determinar la localización y el entorno genético de *bla*_{KPC} en cepas clínicas de enterobacterias aisladas en hospitales chilenos. Para ello, se utilizaron 19 cepas clínicas de enterobacterias *bla*_{KPC} positivas, a las cuales se les determinó su patrón de resistencia a antimicrobianos de diversos grupos. Luego, se seleccionaron 7 cepas que fueron sometidas a ensayos de curación plasmídica para determinar la localización genética de *bla*_{KPC} y adicionalmente, las mismas 7 cepas fueron utilizadas como cepas dadoras en ensayos de conjugación, con el fin de evaluar la capacidad de transferencia del gen a una cepa susceptible a carbapenémicos. Finalmente, mediante PCR y secuenciación se caracterizó el entorno genético de *bla*_{KPC} en los 19 aislados clínicos.

Como resultado, en las 19 cepas de enterobacterias, 17 correspondientes a *K. pneumoniae*, 1 cepa de *K. oxytoca* y 1 cepa de *E. coli*, se obtuvo un fenotipo de multiresistencia. En las 7 cepas seleccionadas, 6 *K. pneumoniae* y 1 cepa de *E. coli*, *bla*_{KPC} se localizó en plásmidos y al evaluar la capacidad de transferencia de éstos, se determinó que en ningún caso hubo transferencia. La caracterización del entorno genético de *bla*_{KPC} en las 19 cepas, indicó que en 13 cepas *bla*_{KPC} se localizó en la plataforma variante 1a y en 6 cepas en el transposón Tn4401, isoforma a (Tn4401a). Dentro de los hallazgos más importantes de esta tesis, destacan la descripción de un secuencio-tipo nuevo en cepas de *K. pneumoniae*, probablemente autóctono de Chile, ST1161, y la detección de una nueva variante de KPC (KPC-24). Por último, se describe por primera vez la plataforma variante 1a en una cepa de *K. oxytoca*, así como una cepa de *K. pneumoniae* ST29 productora de KPC-2.

En conclusión, en este trabajo se pudo demostrar la peligrosidad de estas cepas, por su fenotipo de multiresistencia, disminuyendo las posibilidades de tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos. Por otro lado, en las cepas chilenas productoras de KPC, *bla*_{KPC} se encuentra localizado en plásmidos no conjugativos y, en la mayoría de ellas, en la plataforma genética variante 1a.