

Título em Português:

Avaliação in vitro da possibilidade de disseminação da resistência bacteriana aos carbapenêmicos mediada pelo gene blaKPC através de conjugação

Título em Inglês:

In vitro evaluation of the possible dissemination of bacterial resistance to carbapenem mediated by the blaKPC gene via conjugation

Autor:

Iago Silva e Carvalho

Instituição:

Universidade de São Paulo

Unidade:

Instituto de Física de São Carlos

Orientador:

Ilana Lopes Baratella da Cunha Camargo

Área de Pesquisa / SubÁrea: Microbiologia Aplicada**Agência Financiadora:**

CNPq - PIBIC

Avaliação *in vitro* da possibilidade de disseminação da resistência bacteriana aos carbapenêmicos mediada pelo gene *bla_{KPC}* através da conjugação

Iago Silva e Carvalho,

Camila M. S. Boralli,

Ilana L. B. C. Camargo

USP – Universidade de São Paulo

lagocarvalho0167@usp.br

Objetivos

Nosso objetivo foi avaliar a disseminação de plasmídeos contendo o gene *bla_{KPC}* em ambientes genéticos diferentes do Tn4401 (NTE_{KPC}) entre bactérias de diferentes espécies através da conjugação e verificar se a frequência dessa transferência é a mesma entre todas as espécies.

Métodos e Procedimentos

Os isolados resistentes a carbapenêmicos presente nos Laboratório de Epidemiologia e Microbiologia Molecular (LEMIMo – USP) são provenientes de hospitais de Ribeirão Preto – SP, Belo Horizonte – MG, São Carlos – SP e Manaus – AM. (SISGEN A4A1558).

Pseudomonas aeruginosa PAO1, *Escherichia coli* J53, *Klebsiella pneumoniae* AMPK36 e *K. pneumoniae* AMPK32 foram bactérias receptoras. Seis amostras doadoras foram selecionadas contendo NTE_{KPC} (*A. baumannii* AM86, *A. baumannii* ACI07, *E. coli* J53_pAMKP10, *K. pneumoniae* SCLM106, *E. coli* RPEc01, *E. cloacae* RPEc01).

E. coli J53_pAMKP10 é um transconjugante obtido pelo nosso grupo previamente através de conjugação do plasmídeo pAMKP10 contendo o gene *bla_{KPC}* da amostra resistente aos carbapenêmicos *K. pneumoniae* AMKP10

que é do mesmo clone que a sensível *K. pneumoniae* AMKP36. As demais doadoras são isolados clínicos.

Os ensaios de conjugação foram realizados em caldo BHI, com culturas crescidas *overnight* na proporção de 1:1, com cultivo em placas com meio seletivo para as transconjugantes. Tanto as receptoras iniciais quanto as transconjugantes foram quantificadas (UFC/mL) após diluição seriada e inoculação em placas seletivas. A frequência de conjugação foi calculada pelo número de transconjugantes dividido pelo total de recipientes (transconjugantes/células recipientes). As bactérias transconjugantes foram selecionadas para detecção do gene *bla_{KPC}* via PCR com primers descrito por Poirel et al. .

Resultados

E. coli J53_pAMKP10 conjugou com *K. pneumoniae* AMPK36 com frequência de 0,63 transconjugantes/receptor. *E. coli* RPEc01 e *E. cloacae* RPEc01 conjugaram com *K. pneumoniae* AMPK32 com frequências de conjugação de $4,5 \times 10^{-5}$ e $5,7 \times 10^{-7}$ transconjugantes/receptor, respectivamente. Houve também conjugação a partir da *K. pneumoniae* SCLM106 para *E. coli* J53 porém em frequências muito baixas, sendo aproximadamente $3,5 \times 10^{10}$

transconjugantes/receptor e para *K. pneumoniae* AMKP36 na frequência de 1,52 x 10⁻³ transconjugantes/receptor.

Conclusões

A conjugação entre isolados de *K. pneumoniae* e de *E. coli* para *K. pneumoniae* ocorreram em maior frequência do que de *K. pneumoniae* para outras espécies. Este fato deve ser melhor estudado com maior número de isolados clínicos de diversas espécies. Porém, já reflete a realidade clínica em que há mais *bla_{KPC}* em isolados da espécie *K. pneumoniae*.

Referências Bibliográficas

- [1] Services, U. D. of H. and H. Antibiotic resistance threats in the United States. Centers Dis. Control Prev. 1–113 (2019).
- [2] Dhingra, S. et al. Microbial Resistance Movements: An Overview of Global Public Health Threats Posed by Antimicrobial Resistance, and How Best to Counter. Front. Public Heal. 8, 1–22 (2020).
- [3] Frost, L. S., Leplae, R., Summers, A. O. & Toussaint, A. Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. Nat. Rev. Microbiol. 3, 722–732 (2005).
- [4] Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N. & Jensen, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. Clin. Microbiol. Rev. 31, 1–61 (2018).
- [5] El-Gamal, M. I. et al. Recent updates of carbapenem antibiotics. Eur. J. Med. Chem. 131, 185–195 (2017).
- [6] Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011 May;70(1):119-23. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002. Epub 2011 Mar 12. PMID: 21398074.