

Evidencia de la diseminación de Tn5482-like en *E. faecium* genotipo *vanA* de Argentina

Faccone D, A Corso, P Gagetti, M Galas y "Grupo Argentino VRE".

Servicio Antimicrobianos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI)-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Av. Velez Sarsfield 563. Buenos Aires, Argentina. dfaccone@anlis.gov.ar



FIGURA 1



Introducción:

La resistencia adquirida a glicopéptidos en *Enterococcus* spp se puede diseminar de forma clonal u horizontal. La diseminación horizontal ocurre por medio de transposones (Tn) insertos en plásmidos o Tn conjugativos. El genotipo de resistencia a vancomicina más difundido es el *vanA*, el cual es parte del Tn 1546 (10.8-kb). Se han descrito diversas secuencias de inserción, deleciones y mutaciones que juegan un rol importante en la diversidad del Tn 1546. De Lencastre ha propuesto que la presencia de IS 1251 ubicada en la región intergénica *vanS-vanH* es indicativa de la presencia de un Tn de mayor tamaño (~26 kb) llamado Tn5482. Por lo tanto, la detección de IS 1251 en esa zona específica podría ser utilizada como un marcador molecular para diferenciar Tn 1546 de Tn5482 (Fig. 3). En el INEI, se estudiaron 189 *E. faecium* resistentes a vancomicina (VREfm) de 30 hospitales (Tabla 1) y 5 ciudades del país (Fig. 1), los cuales se diferenciaron por *SmaI*-PFGE en 35 tipos clonales, 33 con genotipo *vanA* y 2 *vanB* (Fig. 2). El tipo clonal A fue dominante (60% de los VREfm) y se demostró la diseminación intra e inter-laboratorio de este clon epidémico.

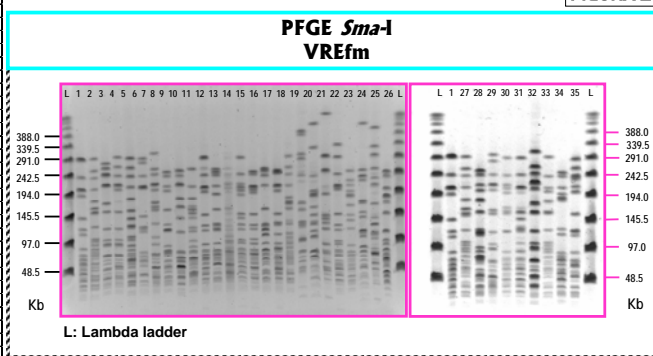
Objetivos:

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el Tn responsable de la resistencia *vanA* en distintos clones de VREfm hallados en Argentina, por medio de la utilización de un método de "screening" basado en PCR-RFLP de IS 1251 en la región *vanS-vanH*.

TABLA 1

| Grupo Argentino VRE. No. de aislamientos estudiados por Hospital | | | | | | |
|--|------------------------------|-----------------|--------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| HOSPITAL CODE | HOSPITAL | CITY | No. ISOLATES | PUBLIC / PRIVATE | MICROBIOLOGY | INFECTIOLOGY / EPIDEMIOLOGY |
| AER | Htal. Aeronáutico | Capital Federal | 4 | Private | Liliana Targa | Edith Carbone |
| ANT | Sanatorio Antártida | Capital Federal | 3 | Private | Adriana Fano | Javier Alticus |
| BAN | Problema Bancario | Capital Federal | 2 | Private | Graciela Miranda | Luján Gracida |
| BIZ | Clin. Biotecnia | Capital Federal | 1 | Private | Julio Pace | María Pastagosa |
| CML | Clinica Modelo de Lanus | Buenos Aires | 1 | Private | Karina Merker | Adriana Romani |
| COS | Htal. Cosme Argersich | Capital Federal | 18 | Public | Laura Lopez Moral | Claudia Rodriguez |
| DUR | Htal. Durand | Capital Federal | 20 | Public | Rosa Fabre | R. Rovinsky / G. Levy Hara |
| ENI | HIGA "Evita" | Buenos Aires | 18 | Public | Ana María Togneri | Edith Dinstein |
| FJV | Fund. Favaloro | Capital Federal | 5 | Private | María Yukoneto | Claudia Nagel |
| FER | Htal. Fernandez | Capital Federal | 18 | Public | Sara Kuffman | Marcelo Del Castillo |
| FLE | FLENI | Capital Federal | 2 | Private | L. Guelfand / S. Mangano | |
| GAR | Htal. Garrahan | Capital Federal | 1 | Public | Horacio Lopardo | |
| HCC | Htal. Córdoba | Córdoba | 2 | Public | Oja Perlo | Carlos Bergallo |
| HEE | Htal. Dr. V. Tisaman | Buenos Aires | 1 | Public | Victoria Mazoni / Patricia Sosa | |
| IPA | Sanatorio Centro Médico IPAM | Ricardo | 2 | Private | Emilia Sutilich / Rodolfo Nolaro | Mirta Castelli |
| LAE | Laboratorio Especializado | Capital Federal | 1 | Private | Sara Kuffman | |
| MIT | Sanatorio Mitr | Capital Federal | 1 | Private | Ana Dinarino | Javier Alticus |
| MUN | Htal. Muñiz | Capital Federal | 9 | Public | Raquel Caljotes / Elsa Couto | |
| PER | Htal. Julio C. Perrando | Chaco | 7 | Public | María Cristina Redondo | Ernesto Ilievich |
| PIN | Htal. Pirovano | Capital Federal | 15 | Public | C. Laura M. Pinto / L. Rivera | Zsuzsar Garcia Medina |
| PRB | Htal. Pirovano | Capital Federal | 4 | Public | Maríaela Turco | |
| POS | Htal. Dr. A. Posadas | Buenos Aires | 11 | Public | A. Di Bittol / Adriana F. Lausi | Hector Laplante |
| QUE | Htal. de Quemas | Capital Federal | 12 | Public | Jaime Kovensky | Nora Grinberg |
| REI | Hospital Reina Fabiola | Córdoba | 1 | Private | Marina Bottiglieri | Paula Budini |
| REV | Htal. Rivadavia | Capital Federal | 1 | Public | Alicia Lupo | |
| SMP | Htal. San Martín La Plata | Buenos Aires | 20 | Public | Carмен Legrito / Jose Castano | Cecilia Camerano |
| STJ | Htal. Francisco Santolanni | Capital Federal | 2 | Public | María Teresa Lopez Reyes | Gabriela Vidal Pablo Scapellato |
| TOR | Htal. Tomu | Capital Federal | 1 | Public | María Hoffman / Hugo Villar | Miriam Burgos |
| YLP | HIGA Vicente Lopez y Planes | Buenos Aires | 1 | Public | Hebe Gullo | |
| ZUB | Hospital Zubizarra | Capital Federal | 1 | Public | Rosa Mondino | |

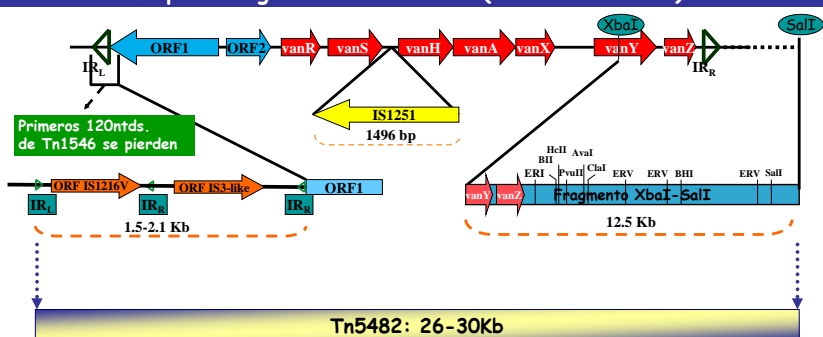
FIGURA 2



Se seleccionó un aislamiento representativo de cada uno de los 33 tipos clonales *vanA* previamente caracterizados (ver flechas Fig. 2). La presencia de IS 1251 se determinó por medio de la amplificación por PCR de la región intergénica *vanS-vanH*. La obtención de fragmentos de 1871-bp o 364-bp fueron indicativos de presencia o ausencia de IS 1251, respectivamente. Los fragmentos de 1871-bp se analizaron por RFLP utilizando las enzimas de restricción *HindIII* y *EcoRI*.

FIGURA 3

Disposición genética de Tn5482 (Tn1546::IS1251)



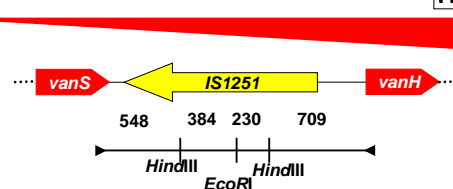
En los 33 tipos clonales de VREfm estudiados se obtuvo un fragmento de amplificación de 1871-bp (Fig. 4) indicativo de la presencia de IS 1251. Los tamaños de los fragmentos obtenidos por PCR-RFLP de IS 1251 fueron los esperados según la secuencia reportada en Genbank: 709-bp, 614-bp y 548-bp con *HindIII*; 939-bp y 932-bp con *EcoRI* y 709-bp, 548-bp, 384-bp y 230-bp con *HindIII* + *EcoRI* (Fig. 4 y 5).

Conclusiones

Nuestros resultados indican la presencia de IS 1251 en la región intergénica *vanS-vanH* y sugieren la posible diseminación horizontal de Tn5482 en VREfm de Argentina.

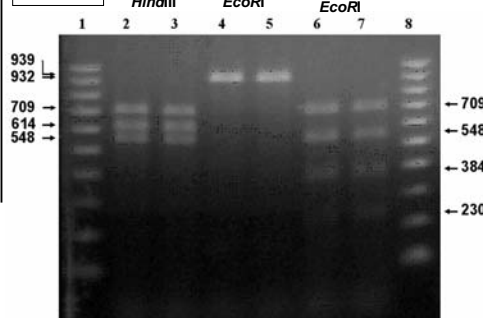
Resultados

FIGURA 4



Representación esquemática de las posiciones de restricción del amplicon *vanSH* (1871-bp) y los tamaños de los fragmentos generados.

FIGURA 5



Restricción del amplicon *vanSH* (1871-bp) utilizando las enzimas *HindIII* y *EcoRI*. Líneas 1 y 8, 100-bp ladder; líneas 2 y 3 amplicon *vanSH* digerido con *HindIII*; líneas 4 y 5 con *EcoRI*; 6 y 7 digestión combinada con ambas enzimas.

1- De Lencastre H, Brown AE, Chung M, Armstrong D, Tomasz A. "Role of transposon Tn5482 in the epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in the pediatric oncology unit of a New York City Hospital." Microbial Drug Resistance 1999;5:113-129.
 2- Handwerker S, Skoble J. "Identification of chromosomal mobile element conferring high-level vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*." Antimicrob Agents Chemother 1995;39:2446-2453.
 3- Corso A, Faccone D, Gagetti P, Togneri A, Lopardo H, Melano R, Rodriguez V, Rodriguez M, and Galas M "First Report of *vanA* *Enterococcus gallinarum* Dissemination within an Intensive Care Unit in Argentina" International Journal of Antimicrobial Agents. 2004 En Prensa.