

CAM-ALAM 2016 – 26-30/09 ROSARIO, STA FE

MA-0128

Análisis cinético de OXA-438, una nueva variante de β -lactamasas de clase D derivadas de la carbapenemasa OXA-48

D De Belder, B Ghiglione, G Gutkind, F Pasterán, A Corso, S Gómez, P Power

Introducción: Nuevas variantes de β -lactamasas de clase D derivadas de OXA-48 con la capacidad de hidrolizar oximino-cefalosporinas (OC) como cefotaxima (CTX) y ceftazidima (CAZ), e incluso carbapenemes (Cb), son cada vez más frecuentes. En Argentina, OXA-163 emergió en 2012 y se diseminó significativamente. OXA-163 presenta una delección de 4 residuos (STRI entre las posiciones 218-221), y las sustituciones D224E/T225P en la vecindad del motivo conservado KTG. Una nueva variante derivada de OXA-48/OXA-163, OXA-247, fue detectada en un aislamiento clínico de *Escherichia coli*.

Objetivos: Reportar la emergencia de OXA-438, y evaluar comparativamente sus parámetros cinéticos con otras enzimas halladas local e internacionalmente: OXA-163, OXA-247 y OXA-48.

Metodología: Los genes blaOXA-163, blaOXA-247, blaOXA-438 y blaOXA-48 fueron clonados en vectores apropiados, a partir de los aislamientos clínicos o transconjugantes (TC). Se determinó la CIM a β -lactámicos por microdilución (CLSI 2015). Las β -lactamasas fueron producidas a partir de *E. coli* BL21 y purificadas a homogeneidad. Los parámetros cinéticos en estado estacionario, fueron determinados por espectrofotometría, en presencia y ausencia de 50 mM de bicarbonato de sodio (NaHCO₃). El perfil plasmídico fue estudiado por conjugación biparental, digestión con nucleasa S1 y PFGE, y tipificación basada en PCR. Modelos moleculares in silico fueron realizados por Yasara y PyMol.

Resultados: Los aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* (Kpn)-163 (OXA-163), Kpn247 (OXA-247) y Eco438 (OXA-438) fueron resistentes a Cb, no así Eco48 (OXA-48). Los genes blaOXA-163 y blaOXA-247 se localizaron en un plásmido conjugativo IncQ de 70 kb, y blaOXA-438 en un plásmido conjugativo Inc11 de 56 kb. Comparado con OXA-48, OXA-438 presentó diferentes mutaciones en la vecindad del dominio conservado KTG (214-216): una delección de 2 residuos (R220-I221) y el cambio D224E (común en OXA-163). De las 4 enzimas, OXA-163 presentó mayor eficiencia hidrolítica (kcat/Km) sobre cefalotina (CTN), seguida por OXA-438, OXA-48 y OXA-247. La mayor eficiencia hidrolítica sobre CTX y ampicilina (AMP) fue presentada por OXA-438, seguida de OXA-48, OXA-163 y OXA-247. La afinidad sobre IMI de todas las enzimas fue muy elevada (Km muy bajas). Además, la cabamilación de la enzima mediada por bicarbonato mejoró la hidrólisis de OXA-438 frente a CTN y CTX, comparado con OXA-48.

Conclusiones: OXA-438 presentó un comportamiento cinético mejorado sobre CTX y CTN, a expensas de AMP, sobre todo luego del agregado de NaHCO₃. Las mutaciones que ocurren en el entorno del motivo conservado KTG de estas cuatro variantes podrían contribuir a los diferentes perfiles hidrolíticos observados. En los aislamientos clínicos, la coexistencia de otros mecanismos podría contribuir a la resistencia global observada.