

VIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE BACTERIOLOGÍA, MICOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA CLÍNICAS (SADEBAC), 6-9 DE NOVIEMBRE DE 2018, BUENOS AIRES

"*bla*_{OXA-163} y Variantes Halladas en Argentina *bla*_{OXA-247} y *bla*_{OXA-438} se Localizan en un Plásmido IncN2"

Juan De Mendieta, Denise De Belder, Nathalie Tijet, Roberto Melano, Melina Rapoport, Fernando Pasterán, B. Gatti, M. Bettiol, A. Di Bella, Alejandra Corso, Sonia Gomez.

INTRODUCCIÓN: OXA-163 es una β -lactamasa de clase D ampliamente diseminada en Argentina que deriva de la carbapenemasa OXA-48. OXA-163 hidroliza eficientemente las cefalosporinas de espectro extendido (CEE) pero débilmente a los carbapenemes (Cb). Nuevas variantes alélicas, OXA-247 y OXA-438, fueron detectadas en un aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* respectivamente, en dos hospitales de nuestro país. Las tres variantes locales poseen diferentes mutaciones en la vecindad del motivo conservado KTG respecto de *bla*_{OXA-48} y muestran distinto poder hidrolítico frente a los Cb. Por el momento se desconoce el mecanismo de diseminación de estas enzimas.

OBJETIVOS: Caracterizar los plásmidos portadores de *bla*_{OXA-163}, *bla*_{OXA-247} y *bla*_{OXA-438} de Argentina.

M&M: Se determinó la sensibilidad a los carbapenemes y cefalosporinas de *K. pneumoniae* (KpnO163 y KpnO247) y *E. coli* (EcoO438) por el método de microdilución (CLSI). Para la conjugación biparental se utilizó *E. coli* J53 resistente a azida o *Salmonella* spp M1744 seleccionando con ampicilina (50 μ g/ml) y azida (200 μ g/ml), o en medio SS con ampicilina, respectivamente. Los plásmidos fueron secuenciados con tecnología Illumina (MiSeq) y para ello fueron extraídos de sus transconjugantes con kit comercial. Luego se utilizó Nextera XT para construir las bibliotecas. El ensamble de contigs se realizó con el programa CLC Genomics workbench (CLC bio, Qiagen). La anotación se realizó con el programa Prokka y posterior corrección manual. Los grupos de incompatibilidad de plásmidos, los factores de virulencia y los genes de resistencia acompañantes fueron analizados en Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>). El análisis del entorno genético inmediato se realizó *in silico* y todos los gaps hallados fueron cerrados por PCR. Para el análisis comparativo de secuencias se utilizó Mauve (<http://asap.ahabs.wisc.edu/mauve/download.php>).

RESULTADOS: Los aislamientos resultaron resistentes a las CEE, CAZ (μ g/ml): OXA-438, 2; OXA-247, 32; OXA-163, 256; y a los carbapenemes, IMI (μ g/ml): OXA-438, 8; OXA-247, 4 y OXA-163, 1. Los aislamientos portaron entre 3 y 5 plásmidos >48.5Kb-300 Kb. Las variantes *bla*_{OXA-163}, *bla*_{OXA-247} y *bla*_{OXA-438} fueron halladas en plásmidos de ca. 69Kb con 99% de identidad entre sí y similar a uno descrito previamente (CP015078). Estos plásmidos fueron transferibles por conjugación y portan un replicón IncN₂. El entorno inmediato de los tres alelos de OXA fue idéntico entre sí y similares al hallado en CP015078. Se caracterizó por estar flanqueado por diversos vestigios de transposasas (TnpA) pertenecientes a la familia del Tn3 en el orden: Δ Tn3; TnpA de Tn21; IS4321; Δ TnAs2; Δ TnpA (flía. IS3); *bla*_{OXA-163/247/438}; Δ Tn1999.2; Δ TnpA; IS6100; Δ TnAr3.

CONCLUSION: Las variantes alélicas de OXA-48 detectadas en Argentina, OXA-163, OXA-247 y OXA-438, se localizan en un mismo plásmido conjugativo, dentro de estructuras que poseen una conformación en mosaico, producto de eventos de recombinación y de transposición no relacionados. Otros estudios serán necesarios para saber si la amplia diseminación de OXA-163 en Argentina se debe al plásmido IncN2 descrito aquí, y si estas estructuras son capaces de movilizarse de manera independiente.