

XV CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGIA (CAM 2019)
25 A 27 DE SEPTIEMBRE DE 2019 - BUENOS AIRES

TRABAJO PRESENTADO POR EL SERVICIO DE ANTIMICROBIANOS

Miércoles 25 de septiembre: Presentación oral: Poster 3

10. DISEÑO DE UNA PCR MÚLTIPLE PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ENTEROBACTERIAS, *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp.

Albornoz E., Danze D., De Mendieta J.M., Celaya F., Ceriana P., Pasterán F., Corso A., Faccone D. Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

Introducción: En 2018 se aprobó en Argentina el uso de ceftacidima/avibactam (CZA) para el tratamiento de infecciones causadas por gérmenes difíciles de tratar, como enterobacterias (ETB) y *Pseudomonas* spp. (PS) productoras de carbapenemasa (CBP). CZA es una combinación de β -lactámico/inhibidor de β -lactamasa de 2^o generación capaz de inhibir CBP de Clase A (KPC), Clase C (AmpC) y Clase D (familia OXA-48), pero no de Clase B (MBL), por lo que cobra relevancia la diferenciación entre los tipos de CBP presentes en los aislamientos clínicos de ETB y PS.

Adicionalmente, se incluyó *Acinetobacter* spp. (AC) en este estudio.

El objetivo de este trabajo fue diseñar una PCR múltiple para detectar en simultáneo los genes de CBP más frecuentes de Argentina: *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{OXA-48-like} (O48L), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{IMP} (IMP) y *bla*_{NDM} (NDM).

M y M: Se utilizaron 105 aislamientos clínicos (75 ETB, 20 PS y 10 AC): 90 productores de CBP y 15 no productores de CBP. El extracto de ADN se obtuvo por calentamiento (10 min. a 100°C) de una suspensión de colonias en agua bidestilada y posterior centrifugación a 12000 G por 5 min. La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 50 μ L, en diferentes condiciones, modificando la temperatura de pegado y concentración de los cebadores. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en un gel de agarosa 1% teñido con bromuro de etidio. Los productos de PCR se secuenciaron por el método de Sanger.

Resultados: Las condiciones óptimas para la reacción fueron: 50 mM de KCl, 20 mM de Tris-HCl (pH: 8,4), 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada deoxinucleótido trifosfato, 0,4 U/ μ L Taq-DNA polimerasa, 0,2 μ M de cada cebador para O48L, NDM y VIM; 0,4 μ M de cada cebador para KPC y 0,48 μ M de cada cebador para IMP. Se utilizaron 5 μ L del extracto de ADN como templado. Condiciones de ciclado: 5 min. a 95°C, 35 ciclos de 30 seg. a 95°C, 30 seg. a 54°C y 60 seg. a 72°C, con un paso final de 10 min. a 72°C. En 88/90 aislamientos portadores de CBP se obtuvo la amplificación del tamaño esperado (10/10 VIM, 10/10 IMP, 24/26 NDM, 16/16 KPC, 10/10 O48L, 2/2 KPC+O48L, 4/4 KPC+NDM, 8/8 O48L+NDM, 3/3 NDM+IMP, 1/1 O48L+VIM). En 2/26 cepas portadoras de NDM se obtuvo una amplificación inespecífica adicional del tamaño correspondiente a VIM. En 14/15 aislamientos no portadores de CBP no se obtuvo amplificación, en el restante se obtuvo una amplificación inespecífica del tamaño correspondiente a VIM. La sensibilidad (S) y especificidad (E) global fue 100% y 99% respectivamente y por mecanismo: 100% S y E para KPC, OXA-48-like, NDM e IMP y 100% S y 96% E para VIM.

Conclusiones: La PCR múltiple permitió detectar en simultáneo KPC, O48L, NDM, IMP y VIM en aislamientos clínicos de ETB, PS y AC. Esta PCR múltiple permitirá a los laboratorios clínicos la caracterización de las CBP prevalentes de Argentina, la detección de aislamientos portadores de más de una CBP y desestimar el uso de CZA en ETB y PS productoras de MBL.