



Universidad de Concepción  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



## Capacidad de transferencia de $bla_{KPC}$ en *Enterobacteriaceae*



Seminario de Título presentado a la  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Para optar al título de Biólogo

Mario Andrés Quezada Aguiluz

Concepción, Marzo de 2015

## RESUMEN

*Enterobacteriaceae* es una familia de bacilos Gram negativos que se localizan principalmente en el intestino del hombre y otros animales. Su importancia clínica radica en que algunas cepas de esta familia presentan genes que les confieren resistencia a determinados antimicrobianos de uso frecuente en clínica. Estas cepas pueden colonizar pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos con una alta mortalidad asociada, especialmente en aquellos pacientes que reciben tratamiento con antimicrobianos, favoreciendo así la selección de cepas consideradas multiresistentes. Uno de los grupos de antimicrobianos de elección frente a estas infecciones lo constituyen los carbapenémicos, pertenecientes al grupo de los beta-lactámicos. Sin embargo, en el año 2001 se reportó la primera aparición en EEUU de la enzima denominada KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, enzima producida por una cepa de *K. pneumoniae* que presenta actividad hidrolítica sobre los antibióticos carbapenémicos. Actualmente, esta enzima ha sido aislada en cepas de géneros como *Serratia*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e inclusive, en bacilos Gram negativos no fermentadores de gran relevancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

El gen que codifica para esta enzima,  $bla_{KPC}$ , se encuentra inserto en un transposón tipo 3 denominado Tn4401, localizado principalmente en plásmidos transferibles, movilizables y en ocasiones, no conjugativos, lo cual ha facilitado su diseminación mundial. Se ha detectado KPC en diferentes países, de todos los continentes, detectándose algunos en forma endémica.

El objetivo de este seminario de título fue determinar la capacidad de transferencia de  $bla_{KPC}$  de enterobacterias aisladas en hospitales chilenos. Para ello se utilizaron 12 cepas clínicas de enterobacterias que sintetizan esta enzima KPC. Las cepas fueron proporcionadas por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), y se utilizaron como cepas dadoras en ensayos de conjugación. Entre las especies ensayadas se incluyó *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* y *Serratia marcescens*. En los experimentos de conjugación se utilizó la cepa *E. coli* K-12 como receptora, y presión selectiva en Agar MacConkey y agar tripticasa de soya, utilizando ampicilina, ertapenem, amikacina, cefotaxima y azida de sodio como agentes selectivos. Las transconjugantes se identificaron mediante el método de escala bioquímica, agar cromogénico y los test confirmatorios realizados para beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (test de sinergia con ácido clavulánico, test de Hodge modificado, test de ácido fenilborónico y CARBA-NP test). Los perfiles de resistencia de las cepas transconjugantes se determinaron por medio del método de difusión en placas de agar Mueller-Hinton y los valores de CMI mediante microdilución.

Los resultados permitieron comprobar que el gen  $bla_{KPC}$  sólo se transfirió desde la cepa de *S. marcescens* UC-366, mostrando halos de inhibición disminuidos para 17 antibióticos, y valores de resistente para 6 antibióticos (2 familias distintas), entre los que se encuentra resistencia a cefalosporinas de tercera generación y ciprofloxacina. En los ensayos de determinación de la concentración mínima inhibitoria se observó el aumento en los valores de CMI de las cepas

transconjugantes con respecto a la cepa receptora, principalmente a ampicilina (512 veces), ciprofloxacino (32 veces), imipenem, cefotaxima y amikacina (4 veces), ertapenem (2 veces). El gen *bla<sub>KPC</sub>* se detectó por medio de PCR convencional, en todas las transconjugantes seleccionadas.

En conclusión, la transferencia de *bla<sub>KPC</sub>* desde diferentes especies de enterobacterias aisladas en hospitales chilenos nos es un fenómeno genético frecuente, posiblemente debido a que no en todas las especies este gen se encuentra localizado en plásmidos conjugativos. Sin embargo, se debe destacar que en la cepa de *S. marcescens* se cotransfirió la resistencia a carbapenémicos con la resistencia a otros importantes antibióticos de uso en clínica, como cefotaxima y ciprofloxacina, lo que hace aún más preocupante la diseminación de estas enterobacterias multiresistentes, limitando el tratamiento de las infecciones que ellas producen en los hospitales de Chile y el mundo.

