

Resumo

Caracterização de 16S rRNA metiltransferases produzidas por bacilos gram-negativos isolados em diversos hospitais do estado de São Paulo

Nathamy Fernanda dos Santos; Doroti de Oliveira Garcia (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. a Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil – 2018.

RESUMO

Os aminoglicosídeos (AGs) são antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções graves causadas por bacilos Gram-negativos (BGNs), e são algumas das poucas opções terapêuticas contra microrganismos multirresistentes no ambiente hospitalar. Contudo, há diversos relatos da produção de enzimas 16S rRNA metiltransferase (16S-RMTases), que conferem resistência em alto nível aos AGs, restringindo ainda mais as opções terapêuticas. Atualmente, estão descritos 10 tipos de 16S-RMTases: ArmA, RmtA até RmtH e NpmA. Os objetivos deste trabalho foram: i) caracterizar 16S-RMTases produzidas por BGNs isolados em diversos hospitais do Estado de São Paulo no período de 2012 a 2016, utilizando métodos fenotípicos e moleculares, ii) avaliar a disseminação clonal por PFGE, e iii) determinar o ambiente genético de 16S-RMTases. Foram selecionadas 54 cepas de BGNs (46 *K. pneumoniae*, 02 *E. coli*, 04 *P. aeruginosa*, 01 *E. hormaechei*, 01 *P. stuartii*), apresentando resistência aos AGs nos testes de disco-difusão e CIM \geq 256 $\mu\text{g/mL}$, provenientes de 27 instituições de saúde do Estado de São Paulo. Foram detectadas 16S-RMTases em todas as cepas selecionadas, sendo 54% (n=29) RmtB, 35% (n=19) RmtG, e 11% (n=6) RmtD. RmtB foi frequentemente encontrada nas instituições de saúde da cidade de São Paulo e região metropolitana, e RmtG frequentemente encontrada nas cidades do interior do Estado. A análise dos padrões de macro restrição do DNA genômico por PFGE dos isolados de *K. pneumoniae* (*K.p*) resultou em 12 perfis, sendo 7 deles perfis únicos. O perfil predominante foi denominado perfil A, abrangendo 43,5% dos isolados, seguido pelos perfis B (19,5%), C (13%), D (4,3%) e E (4,3%). Dentre as cepas selecionadas e produtoras de 16S-RMTases, 78% co-produziram carbapenemase (KPC), 4% metalobetalactamases (NDM e SPM), e 52% betalactamase de espectro estendido (ESBL) (CTX-M). O ST258 foi confirmado em *K.p* (598/14), pertencente ao perfil A de PFGE. Os genes *rmtB* e *rmtG* foram confirmados como genes passíveis de serem transferidos após experimentos de transformação e conjugação. Através de S1-PFGE foi demonstrada a provável transferência horizontal inter-espécie do gene *rmtB* em *K. p* (598/14) e *E. coli* (865/14) isoladas de amostra clínica do mesmo paciente. A análise do ambiente genético de *rmtB* em *K.p* (598/14) e *E. coli* (865/14), e *rmtG* em *E. hormaechei* (860/15), mostrou associação com a ISCR2, sugerindo um papel importante dessa sequência de inserção na mobilização de 16S-RMTases.

PALAVRAS-CHAVE: 16S rRNA metiltransferases. Aminoglicosídeos. Multirresistência.

Abstract

Characterization of 16S rRNA methyltransferases produced by isolated gram-negative bacilli in several hospitals in the state of São Paulo

Nathamy Fernanda dos Santos; Doroti de Oliveira Garcia (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. a Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil – 2018.

ABSTRACT

Aminoglycosides (AGs) are antimicrobials used in the treatment of severe infections caused by Gram-negative bacilli (GNBs), and are one of the few therapeutic options against multiresistant microorganisms in the hospital environment. However, there are several reports of the production of 16S rRNA methyltransferase (16S-RMTases) enzymes, which confer high level resistance to GAs, further restricting therapeutic options. Currently, 10 types of 16 S-RMTases are described: ArmA, RmtA to RmtH and NpmA. The objectives of this work were: i) to characterize 16S-RMTases produced by BGNs isolated in several hospitals of the State of São Paulo from 2012 to 2016, using phenotypic and molecular methods, ii) to evaluate the clonal dissemination by PFGE, and iii) to determine the genetic environment of 16S-RMTases. Fifty-six strains of BGNs (46 *K. pneumoniae*, 02 *E. coli*, 04 *P. aeruginosa*, 01 *E. hormaechei*, 01 *P. stuartii*) were selected, showing resistance to AGs in the disk-diffusion and MIC tests $\geq 256 \mu\text{g} / \text{mL}$, from 27 health institutions in the State of São Paulo. 16S-RMTases were detected in all selected strains, with 54% (n = 29) RmtB, 35% (n = 19) RmtG, and 11% (n = 6) RmtD. RmtB was frequently found in health facilities in the city of São Paulo and metropolitan region, and RmtG frequently found in cities in the interior of the state. The analysis of the macro restriction patterns of genomic DNA by PFGE of the isolates of *K. pneumoniae* resulted in 12 profiles, 7 of which were unique profiles. The predominant profile was profile A, comprising 43.5% of the isolates, followed by B (19.5%), C (13%), D (4.3%) and E (4.3%). Among the selected strains and producers of 16S-RMTases, 78% co-produced carbapenemase (KPC), 4% metallo-betaalactamases (NDM and SPM), and 52% extended spectrum beta-lactamase (ESBL) (CTX-M). ST258 was confirmed in *K. pneumoniae* (598/14), belonging to profile A of PFGE. The *rmtB* and *rmtG* genes were confirmed as transferable genes after transformation and conjugation experiments. Through S1-PFGE, the probable inter-species horizontal transfer of the *rmtB* gene in *K. pneumoniae* (598/14) and *E. coli* (865/14) isolated from a clinical sample from the same patient was demonstrated. Genetic analysis of *rmtB* in *K. pneumoniae* (598/14) and *E. coli* (865/14), and *rmtG* in *E. hormaechei* (860/15), showed association with ISCR2, suggesting an important role of this insertion sequence in the mobilization of 16S-RMTases.

KEYWORDS: 16S rRNA methyltransferases. Aminoglycosides. Multiresistance.