

---

*Resumo*

## **Análise do genoma completo de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC-2 isoladas do meio ambiente e ambiente hospitalar**

**Gabriela Rodrigues Francisco; Doroti de Oliveira Garcia (orientadora)**

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

---

### **RESUMO**

*Klebsiella pneumoniae* pertence à família Enterobacteriaceae. É um bacilo Gram-negativo, oportunista e seus principais alvos são indivíduos hospitalizados e imunodeprimidos. O aumento da ocorrência de *K. pneumoniae* MDR (Multirresistentes) e XDR (Extensivamente resistentes) é em decorrência de múltiplos fatores, tais como, disseminação de linhagens genéticas multirresistentes, aquisição de plasmídeos carreadores de genes de resistência localizados em transposons bem-sucedidos. A luta contra o desenvolvimento e disseminação da resistência aos antimicrobianos estava mais focada nos cenários hospitalar e de comunidade. No entanto, recentemente, o meio ambiente também foi colocado como fonte e rota de disseminação da resistência aos antimicrobianos. A sequência tipo (ST) 437 de *K. pneumoniae* é a mais frequente entre os isolados brasileiros e pertence ao complexo clonal (CC) 258, considerado de alto risco. Este ST também foi relatado na água dos principais rios da cidade de São Paulo, o rio Tietê e o rio Pinheiros. O objetivo deste estudo foi sequenciar o genoma completo de três cepas de *K. pneumoniae* produtoras de KPC-2, pertencentes ao ST437, sendo um isolado clínico e dois isolados do meio ambiente, analisar seu resistoma, viruloma, verificar a estabilidade do plasmídeo carreador do gene blaKPC-2 e analisar o ambiente genético dos genes blaKPC-2 e blaCTX-M-15. As cepas foram resistentes e apresentaram CIM em alto nível para a maioria dos antimicrobianos testados e a análise pela ferramenta ResFinder mostrou a presença dos seguintes genes de resistência aos antimicrobianos: aac(6')Ib-cr (resistência aos aminoglicosídeos); blaOXA-1, blaSHV-11, blaCTX-M-15 e blaKPC-2 (resistência aos betalactâmicos); aac(6')Ib-cr, oqxA e oqxB (resistência às quinolonas); fosA (resistência à fosfomicina); mph(A) (resistência aos macrolídeos); catB4 (resistência ao fenicol); sul1 (resistência à sulfonamida) e dfrA30 (resistência ao trimetoprim). O gene blaKPC-2 está flanqueado pelas ISKpn7 e ISKpn6, inserido no transposon Tn4401 isoforma b. O blaCTX-M-15 está flaqueado por uma cópia truncada da ISEcp1 e uma cópia também truncada da transposase do Tn2. À jusante da transposase do Tn2 foi observada um região flanqueada por duas cópias de IS26 que compreende os genes de resistência blaOXA-1, aac(6')-Ib-cr5 e catB4. Foram observados também plasmídeos pertencentes aos grupos de incompatibilidade N, FIB e FII. Foram, também, detectados genes responsáveis por virulência, bombas de efluxo, resistência a metais, metais pesados e resistência a amônio quaternário. Foi observada estabilidade do plasmídeo carreador do blaKPC-2 por aproximadamente 100 gerações. Podemos inferir que o mesmo tipo de cepa presente nos isolados clínicos de hospitais, também está presente no meio ambiente. Este fato pode estar relacionado com a falta de legislação e infra-estrutura para o tratamento do efluente antes de descartá-los levando à contaminação dos rios, podendo atingir animais e seres humanos. Sendo assim, é importante o conceito de Saúde Única (One Health), que une meio ambiente, saúde animal e saúde humana no combate à disseminação de mecanismos de resistência aos antimicrobianos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Meio ambiente. *K. pneumoniae*. Betalactamases. WGS.

---

*Abstract*

## ***Analysis of the complete genome of *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 isolated from the environment and hospital environment***

**Gabriela Rodrigues Francisco; Doroti de Oliveira Garcia (orientadora)**

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

---

### **ABSTRACT**

*Klebsiella pneumoniae* belonging to the Enterobacteriaceae family, is a Gram-negative, opportunistic bacillus and its main targets are inpatients and immunosuppressed individuals. The increase in the occurrence of *K. pneumoniae* MDR (Multi-resistant) and XDR (Extensively resistant) is due to multiple factors, such as dissemination of multiresistant genetic lines, acquisition of plasmids carrying resistance genes located in successful transposons. The fight against the development and spread of antimicrobial resistance was more focused on hospital and community settings. However, recently, the environment has also been placed as a source and route of dissemination of antimicrobial resistance. *K. pneumoniae* belonging to Sequence Type (ST) 437 is the most frequent among Brazilian isolates and belongs to the clonal complex (CC) 258, considered to be a high risk clonal group. This ST was also reported in the water of the main rivers in Sao Paulo City, Tietê and Pinheiros Rivers. The aim of this study was to sequence the complete genome of three strains of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to ST437, one clinical isolate and two isolates from the environment, to analyze its resistance, viruloma, to verify the stability of the plasmid carrier blaKPC-2 gene and to analyze the genetic environment of the blaKPC-2 and blaCTX-M-15 genes. Samples were resistant and showed high MIC for most of the antimicrobials tested and ResFinder analyse showed the presence of the following resistance genes: aac(6')Ib-cr (aminoglycoside resistance); blaOXA-1, blaSHV-11, blaCTX-M-15 and blaKPC-2 (beta-lactam resistance); aac(6')Ib-cr, oqxA and oqxB (quinolone resistance); fosA (fosfomycin resistance); mph(A) (macrolide resistance); catB (phenicol resistance); sul1 (sulphonamide resistance) and dfrA30 (trimethoprim resistance). blaKPC-2 gene is flanked by ISKpn7 and ISKpn6, inserted into transposon Tn4401 isoform b. blaCTX-M-15 is flanked by a truncated copy of ISEcp1 and a truncated copy of Tn2 transposase. Downstream of the Tn2 transposase was observed a multiresistant region flanked by two copies of IS26 comprising the blaOXA-1, aac(6')-Ib-cr5 and catB4 resistance genes. Plasmids belonging to the N, FIB and FII incompatibility groups were also observed. Genes responsible for virulence, efflux pumps, resistance to metals, heavy metals and resistance to quaternary ammonium were also detected. Stability of the plasmid carrying blaKPC-2 was observed for approximately 100 generations. We can infer that the same type of strain present in clinical isolates from hospitals is also present in the environment. This fact can be related to the lack of legislation and infrastructure for the treatment of the effluent before discarding them leading to the contamination of the rivers, being able to reach animals and humans. Therefore, the concept of One Health, which unites the environment, animal health and human health in the fight against the spread of antimicrobial resistance mechanisms, is important.

**KEYWORDS:** Environment. *K. pneumoniae*. Beta-lactamases. WGS.