

# Molekularna epidemiologija infekcija izazvanih *Acinetobacter baumannii* sojevima rezistentnim na kolistin

MSc Jovana Kabić, Doc.dr Ina Gajić

Nacionalni seminar „Primena molekularno-bioinformatičkog pristupa u predviđanju, detekciji i prevenciji epidemija izazvanih pretećim patogenima“

# Materijal i metode - kolekcija izolata

**Bakterijski sojevi:** kolekcija kliničkih izolata *A. baumannii* oformljena u periodu od 2019. do 2021. god. na Institutu za mikrobiologiju i imunologiju u Beogradu

16 laboratorija sa teritorije Republike Srbije

**Ispitivanje osetljivosti *A. baumannii* na antimikrobne**

**agense:** disk difuzioni metod, gradijent test, bujon

mikrodilucioni metod; interpretacija rezultata: EUCAST

2021, CLSI 2020

Ispitivanje osetljivosti na kolistin - bujon mikrodilucioni test

ComASP™ Colistin (Liofilchem, Italija)

**Ispitivanje ekspresije gena** *lpxA*, *lpxC*, *lpxD*, *pmrA*, *pmrB*,

*pmrC* povezanih sa rezistencijom *A. baumannii* na kolistin:

RT-qPCR metoda



**Slika 1.** ComASP™ Colistin bujon mikrodilucioni test

# Materijal i metode – sekvenciranje celog genoma

**Sojevi *A. baumannii* rezistentni na kolistin → sekvenciranje celog genoma** (eng. Whole-genome sequencing, WGS)

**Kontrola kvaliteta:** FastQC i Trimmomatic

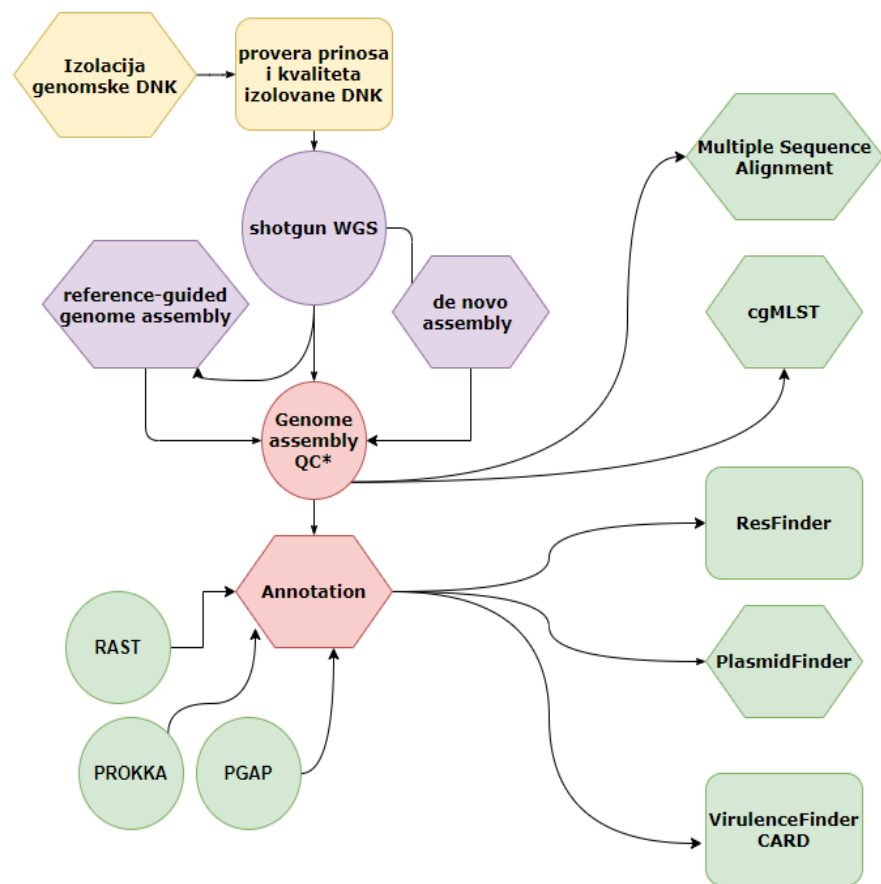
**De novo assembly genoma:** SPAdes Assembler algoritam

**Reference guided genome assembly:** Geneious program

**Provera kvaliteta sklopljenih genoma:** QUAST

**Anotacija genoma:** PROKKA, RAST, NCBI Prokaryotic Annotation Pipeline, PATRIC baze podataka, ResFinder/CARD baze podataka,

PlasmidFinder, VirulenceFinder



**Slika 2.** Šematski prikaz analize WGS podataka kliničkih izolata *A. baumannii* rezistentnih na kolistin

# Materijal i metode – analiza dobijenih rezultata WGS

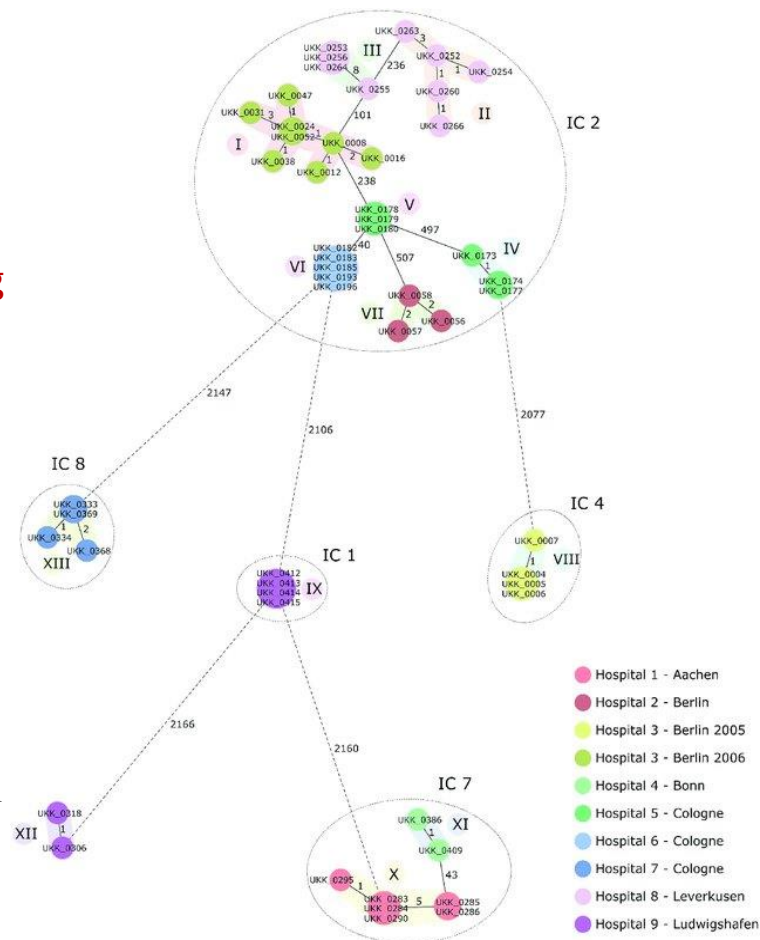
**Prisustvo mutacija** u nukleotidnim/aminokiselinskim sekvencama gena: *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *eptA* i *lpxA*, *lpxC*, *lpxD*, *pheS*, *pldA*, *vacJ*, *lpsB*, i *miaA*

Karakterizacija izolata putem **MultiLocus Sequence Typing (MLST) metode**

Evolutivni odnosi izolata *A. baumannii* rezistentnih na kolistin određeni su korišćenjem **core genome MLST (cgMLST) metode i analize pangenoma**

## CILJEVI:

- Odrediti mehanizme rezistencije *A. baumannii* na kolistin
- Proceniti genetički diverzitet populacije sojeva *A. baumannii* rezistentnih na kolistin
- Identifikovati cirkulišuće klonove na teritoriji Republike Srbije



**Slika 3.** Minimum spanning filogenetsko stablo bazirano na analizi cgMLST profila kliničkih izolata *A. baumannii* iz Nemačke\*; Izvor: Higgins PG et al. PLoS One 2 (2017)

# Rezultati

30 kliničkih izolata *A. baumannii* rezistentnih na kolistin

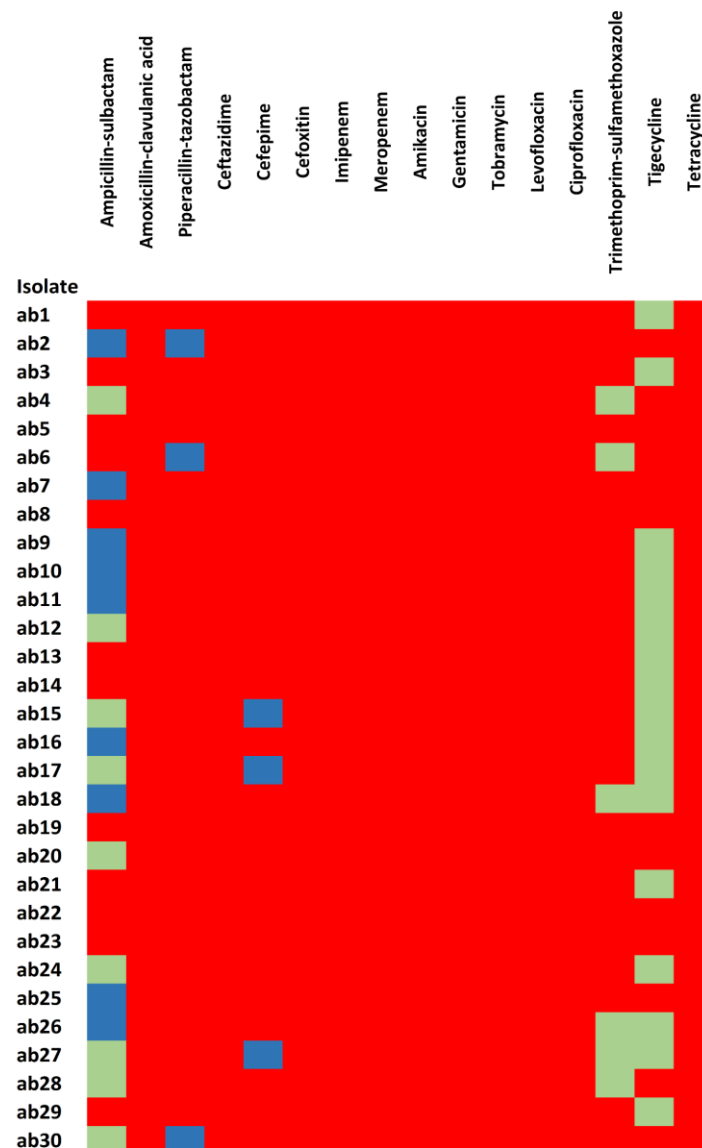
Ekstenzivno ili panrezistentni izolati

**Izmenjeni profili ekspresije** gena uključenih u razvoj rezistencije na kolistin:

- povećana ekspresija *pmrCAB* operona
- smanjena ekspresija *lpxACD* operona

Detektovano prisustvo tačkastih mutacija

- 19 različitih tačkastih mutacija u *pmrB* gena
- 6 različitih tačkastih mutacija u *pmrC* genu



**Slika 4.** Profili rezistencije kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* rezistentnih na kolistin

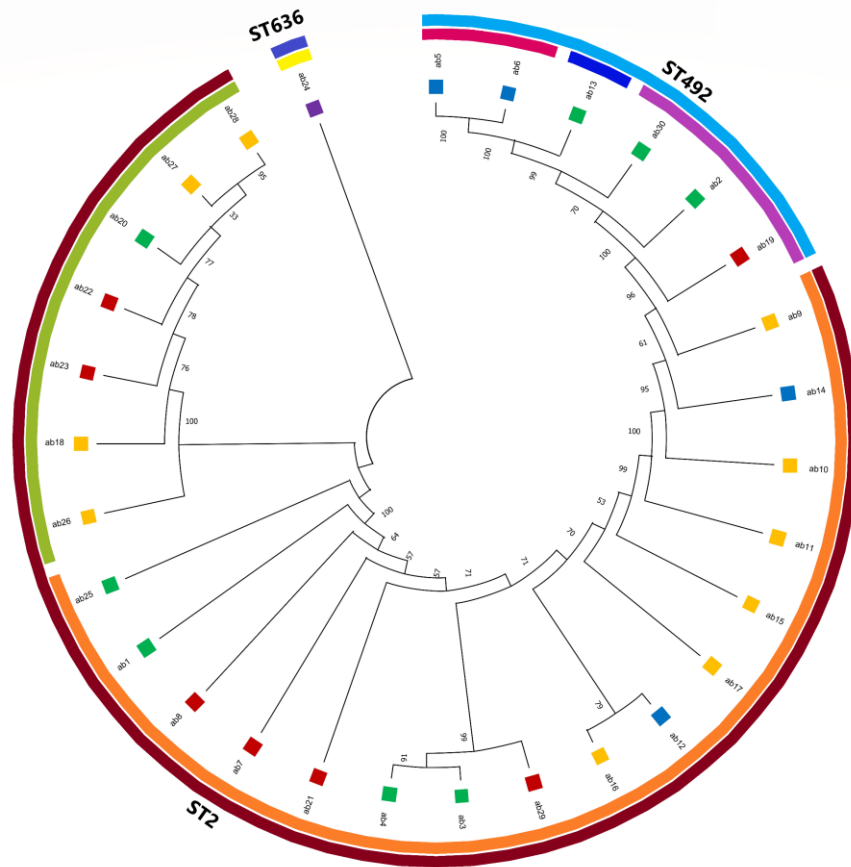
# Pangenomika

Tri Sequence Type-a: **ST2, ST492 i ST636**

**56.60%** gena detektovano kod svih izolata –  
“core genome”

**23.58%** gena je detektovano kod pojedinačnih  
izolata – “accessory genome”:

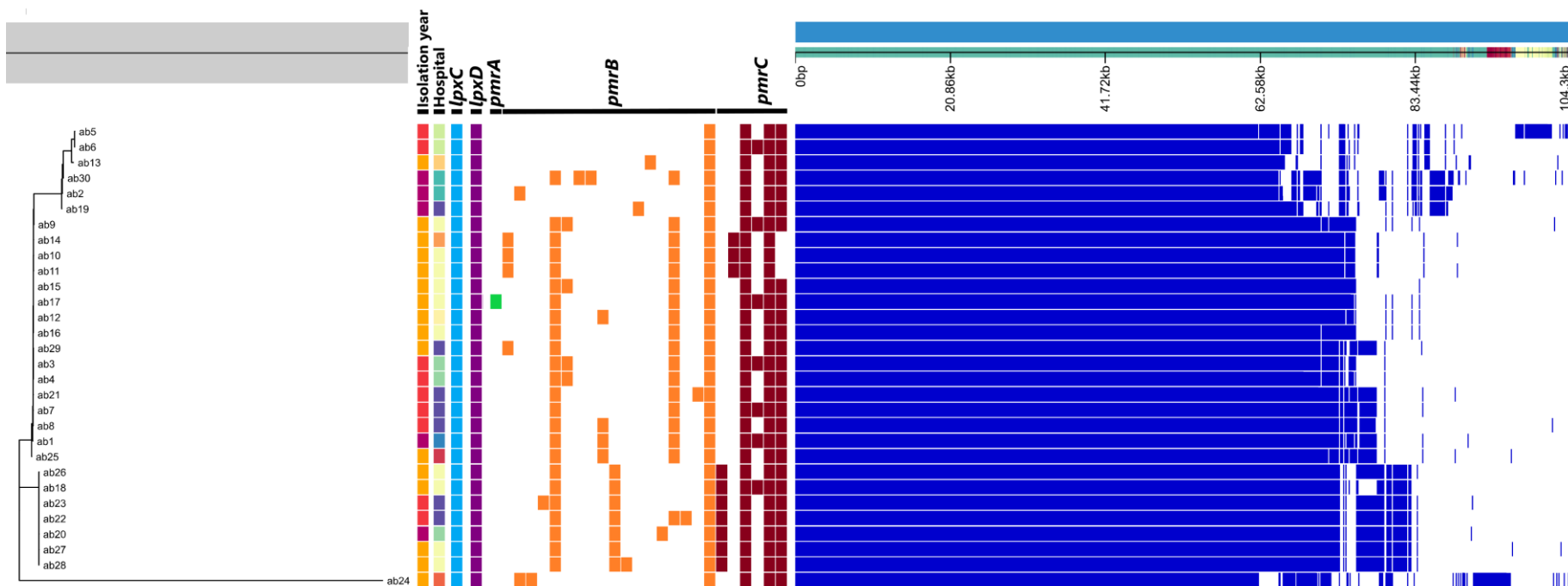
- ❑ Geni za rezistenciju (*bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>ADC</sub>, *sul1*, *sul2*...)
- ❑ Inercione sekvence u različitim brojevima kopija
- ❑ Transpozaze
- ❑ Plazmidi
- ❑ Hipotetički geni
- ❑ Bakteriofagni proteini



**Slika 5.** Filogenetsko stablo kliničkih izolata *A. baumannii* rezistentnih na kolistin zasnovano na polimorfizmima pojedinačnih nukleotida unutar “core” genoma.

# Zaključci

- ❑ Glavni mehanizam sticanja rezistencije preko modifikacije lipida A usled povećane ekspresije fosfoetanolamin transferaze
- ❑ Rezistencija se javila u nezavisnim klonskim linijama



**Slika 6.** Šematski prikaz matriksa prisustva i odustva pan-gena u genomima kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* rezistentnih na kolistin i prisustva tačkastih mutacija unutar gena povezanih sa razvojem rezistencije na kolistin

# Hvala na pažnji!



It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.