

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



TÍTULO:

**Mutaciones en los genes codificantes de topoisomerasa IV y su rol en la resistencia a fluoroquinolonas en cepas clínicas de bacilos Gram negativos**



**Mery Jessi De La Fuente Contreras**

Tesis de Magíster presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de Concepción para optar al grado de Magíster en Ciencias, mención Microbiología

Concepción, Chile

2007

## RESUMEN

Las quinolonas son un grupo de antibióticos sintéticos que han sido usados por más de 40 años en el tratamiento de infecciones hospitalarias y de la comunidad. El masivo uso de estos compuestos ha seleccionado bacterias resistentes a ellos y el principal mecanismo de resistencia corresponde a mutaciones en los genes que codifican para las subunidades de las enzimas blanco ADN girasa y topoisomerasa IV. El objetivo de esta tesis fue detectar mutaciones en los genes codificantes de topoisomerasa IV en cepas hospitalarias resistentes y susceptibles a fluoroquinolonas. Se incluyeron 89 cepas de las especies *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a ácido nalidíxico, aisladas entre los años 1990 y 2003, en diferentes hospitales chilenos. Además, se disponía de información acerca de la concentración de mínima inhibitoria (CMI) de fluoroquinolonas. Se realizó la amplificación de la región determinante de resistencia a las quinolonas, ubicada en los genes codificantes de topoisomerasa IV, mediante PCR. Posteriormente, se realizó la digestión de los productos de PCR con enzimas de restricción que poseían un sitio de corte cercano a los codones en los que se ha descrito mutaciones con mayor frecuencia. Además, se realizó la secuenciación de los productos de PCR de algunas cepas, seleccionadas por sus distintos patrones de restricción.

En *E. coli*, se detectó la mutación en el codón 80 de *parC* en 20 de 24 cepas, las cuales se encontraron en un rango de CMI de 8 a 512  $\mu\text{g/ml}$  de ciprofloxacina (CIP). Además, en una de las cepas con  $\text{CMI}_{\text{CIP}}$  de 32  $\mu\text{g/ml}$  se detectó un cambio aminoacídico de Ser a Ile en el codón 80. En *K. pneumoniae* no se detectó la mutación para cepas que presentaban una  $\text{CMI}_{\text{CIP}}$  en un rango de 0,125 a 512  $\mu\text{g/ml}$ . En *A. baumannii* se detectó la mutación en 16 de



23 cepas, con un rango de  $\text{CMI}_{\text{CIP}}$  de 64 a 1024  $\mu\text{g/ml}$ . En *P. aeruginosa* se detectó la mutación en 11 de las 25 cepas, en un rango de  $\text{CMI}_{\text{CIP}}$  de 16 a 128  $\mu\text{g/ml}$  y, mediante secuenciación, en una de las cepas con una  $\text{CMI}_{\text{CIP}}$  de 128  $\mu\text{g/ml}$  se encontró un cambio aminoacídico de Glu a Lys en el codón 84.

No se encontraron mutaciones en los codones 445 y 420 del gen *parE*, en *E. coli* y *P. aeruginosa*, respectivamente.

Los resultados indicaron que la mutación en el codón 80 de *parC* se encuentra participando en la resistencia a fluoroquinolonas en las especies de *E. coli* y *A. baumannii*, y que las mutaciones en gen *parE* no serían relevantes en las cepas estudiadas.

