

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



**Determinantes plasmídicos de resistencia a quinolonas en cepas de enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido aisladas de Hospitales Chilenos**

**Por**

**Eliú David Elgorriaga Islas**

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

2011

## Resumen

Las quinolonas constituyen un grupo de antibióticos de gran importancia clínica, que han evolucionado desde su restringido uso en infecciones del tracto urinario a ser moléculas con potente actividad antibacteriana contra un amplio espectro de patógenos. No obstante, las bacterias han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia que involucran mutaciones en los genes de las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV, impermeabilidad celular, expulsión del antibacteriano y, más recientemente, diversos determinantes de resistencia plasmídicos. Estos últimos producen un bajo nivel de resistencia, pero su presencia facilita la selección de mutantes de alto nivel de resistencia, contribuyendo al alarmante incremento en la resistencia a quinolonas. A esta preocupante situación se suma la frecuente relación que existe entre la presencia de estos determinantes de resistencia a quinolonas asociados a plásmidos (DRQAP) y las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), cuyos genes han sido frecuentemente descritos en el mismo plásmido, favoreciendo así al fenómeno de co-resistencia y dejando sin utilidad terapéutica a este importante grupo de antimicrobianos. Debido a lo expresado anteriormente, esta investigación tuvo como objetivo investigar la presencia de DRQAP en cepas clínicas de enterobacterias productoras de BLEE, aisladas en hospitales chilenos durante el periodo 2008-2009. En este estudio se incluyó 100 cepas de *Klebsiella pneumoniae* y 100 cepas de *Escherichia coli* a las cuales se les determinó su perfil y nivel de resistencia a diferentes antibacterianos. Se detectó la presencia de genes *qnr* (A, B, C, D, S), *qepA* y *aac(6')-Ib-cr* mediante PCR y posterior secuenciación.

Además en cepas portadoras de DRQAP se investigó la presencia de mutaciones en *gyrA* y en cepas seleccionadas se estudió la participación de bombas de expulsión inespecíficas.

Como era de esperar, por ser cepas productoras de BLEE, se encontró elevados porcentajes de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxima, ceftriaxona y cefpodoxima (>95%), frente a ceftazidima se presentó un porcentaje de resistencia más bajo, 83% de resistencia en cepas de *K.pneumoniae* y 73% en las

cepas de *E.coli*. Con respecto a los carbapenémicos meropenem e imipenem, tanto las cepas de *E.coli* como de *K.pneumoniae* fueron susceptibles.

Sin embargo, para ertapenem 12% y 5% de las cepas de *K.pneumoniae* y *E.coli* fueron resistentes, respectivamente.

Al comparar la actividad de las quinolonas se encontró un mayor porcentaje de resistencia a estos antibióticos en cepas de *E.coli* (>80%) que en las cepas de *K.pneumoniae* (< 70%).

En relación a los DRQAP se encontró que 7% de las cepas de *K.pneumoniae* y 1% de las cepas de *E.coli* portaban genes *qnr*. Los genes *qnr* detectados correspondieron a los alelos *qnrB1* y *qnrB19* en las cepas de *K.pneumoniae* y *qnrS* en las cepas de *E.coli*. No se detectó los alelos *qnrA*, *qnrC* ni *qnrD*. La variante de la enzima aac(6')-Ib-cr fue detectada en 74% de las cepas de *E.coli* y en 54% de las cepas de *K.pneumoniae*. Con respecto al determinante *qepA* no se detectó en ninguna de las cepas incluidas en este estudio.

En aquellas cepas en que se identificaron algunos de los DRQAP, se evaluó la presencia de mutaciones en el codón 83 de la región QRDR del gen *gyrA*, mediante RFLP de los productos de amplificación obtenidos por PCR de la región QRDR. Se encontró asociación entre aquellas cepas resistentes a quinolonas y la presencia de mutaciones en estos genes y la ausencia de ellas en cepas susceptibles. En estas mismas cepas, se evaluó el efecto del inhibidor de bombas de eflujo PA $\beta$ N sobre la CMI de moxifloxacina identificándose la participación de este mecanismo en la resistencia a esta quinolona.

Por lo tanto, se concluye que el DRQAP *aac(6')Ib-cr* es prevalente en cepas de *E. coli* y de *K. pneumoniae* productoras de BLEE, aisladas en hospitales chilenos y que el gen *qnr* está escasamente distribuido en estas cepas. Las mutaciones en el codón 83 del gen *gyrA*, están presentes tanto en cepas de *E.coli* como de *K.pneumoniae* resistentes a quinolonas y ausentes en cepas susceptibles. A pesar de no ser detectado el mecanismo de expulsión, codificado por el DRQAP *qepA*, en las cepas de *E. coli* y de *K.pneumoniae*, si están presentes otros sistemas de expulsión que contribuyen en la resistencia a quinolonas en estas cepas.