

BM-7

TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Enterobacter cloacae* PRODUCTORES DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Alonso-Morales Alberto,¹ Muñoz-Castillo Mario Salvador,¹ Carreon-Valle Etzel Damariz,¹ Silva-Sánchez Jesús,² Castro-Alarcón Natividad.^{1*} ¹Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero. ²Centro de investigación sobre enfermedades infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública.

Palabras clave: *E. cloacae*, PFGE, BLEE.

Introducción: *Enterobacter cloacae* forma parte de la biota normal del tracto gastrointestinal; no obstante en los últimos años ha surgido como un patógeno nosocomial importante, este microorganismo exhibe una alta frecuencia de mutaciones que le confiere resistencia a cefalosporinas de amplio espectro y de espectro extendido.¹ Se ha reportado que la resistencia a cefalosporinas de espectro extendido es mediada por la sobre-expresión de la β -lactamasa AmpC cromosómica.² Las herramientas moleculares para la tipificación de aislamientos han demostrado ser muy importantes en el estudio de la epidemiología de las enfermedades infecciosas y una de las mejores técnicas para la tipificación es la electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE), considerada el estándar de oro para la tipificación de la mayoría de las bacterias.³

Objetivo: Caracterizar Microbiológica y molecularmente aislamientos clínicos de *E. cloacae* productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) obtenidos de pacientes del Hospital General de Acapulco, Guerrero.

Metodología: Se analizaron 26 aislamiento clínicos de *E. cloacae*, colectados durante el periodo comprendido de Enero de 2004 a Agosto de 2006. La susceptibilidad antimicrobiana y la producción de BLEE se determinaron de acuerdo a las normas del CLSI. Las β -lactamasas se caracterizaron por isoelectroenfoque (IFE) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La tipificación de los aislamientos fue realizada por PFGE utilizando la enzima de restricción *XbaI*, los fragmentos obtenidos se separaron en un sistema de electroforesis CHEF Mapper II.

Resultados: Todos los aislamientos analizados fueron productores de BLEEs, los pIs encontrados con mayor frecuencia fueron de 5.4 en el 88.4%, de 8.2 en el 76.9% y de 9 en el 57.6% de los aislamientos. Con respecto a la amplificación de genes de resistencia, encontramos que el 88.4% de los aislamientos tienen el gen *bla*_{TEM}, el 50% el gen *bla*_{SHV} y el 46.1% el gen *bla*_{CTX-M}. Después realizar la macro-restricción y esta separarla electroforéticamente, el promedio de bandas obtenidas fue de 22, observando fragmentos con tamaños de entre 48 y 583 kb.

El dendrograma obtenido discriminó a los 26 aislamientos clínicos en 20 diferentes grupos clonales (P1-P20), cada uno de los patrones P2, P3, P4 y P5 agrupó dos aislamientos, el patrón P1 agrupó tres aislamientos, el resto de los patrones agrupó cada uno, un aislamiento.

Discusión: La multi-resistencia a antibióticos β -lactámicos de espectro extendido en *E. cloacae* fue relacionada con la producción de β -lactamasas tipo TEM-1, SHV-5 y CTX-M, con base a los pIs obtenidos y la PCR, las cuales fueron confirmadas por la secuencia de los genes correspondientes. El estudio de la tipificación molecular permitió identificarse una gran variabilidad genética de las cepas, ya que la mayoría de estas fueron discriminadas como sin relación, esta variabilidad genética esta relacionada con infecciones nosocomiales de origen endógeno mas que por infección cruzada.

Conclusión: La caracterización de los mecanismos de resistencia y la tipificación molecular son herramientas útiles para estudios epidemiológicos, que permiten al comité de infecciones de las instituciones hospitalarias aplicar medidas preventivas y de control de infecciones.

REFERENCIAS

1. Sanders WE, Sanders CH. *Enterobacter spp*: pathogens poised to flourish at the turn of the century. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10: 220-241.
2. Manzur A, Tubau F, Pujol M, Calatayud L, Domínguez MA, Peña C, et al. Nosocomial outbreak due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a cardiothoracic intensive care unit. *J Clin Microbiol*. 2007; 45: 2365-2369.
3. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbiol organisms. *J Clin Microbiol*. 1999; 37: 1661-1669.