

## CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA Y TIPIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Klebsiella pneumoniae* EN CIUDAD OBREGÓN, SONORA

Luis Andrés Frías Alcalá<sup>1</sup>, Luis Enrique Nevarez Rodríguez<sup>1</sup>, Jesús Silva Sánchez<sup>2</sup>, Ulises Garza Ramos<sup>2</sup>, Ruth Gabriela Ulloa Mercado<sup>1</sup>, Pablo Gortáres Moroyoqui<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Sonora, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, <sup>2</sup>Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública. Ciudad Obregón, Sonora. 85000. [Pablo.gortares@itson.edu.mx](mailto:Pablo.gortares@itson.edu.mx).

*Palabras clave:* Resistencia, antibióticos, epidemiología.

**Introducción.** *Klebsiella pneumoniae* es considerado uno de los principales patógenos intrahospitalarios en la actualidad, especialmente en Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud (IAAS), debido a su capacidad para generar resistencia a múltiples grupos de antibióticos, como es el caso de las cefalosporinas de tercera generación y quinolonas (1). La resistencia a antibióticos betalactámicos y quinolonas mediada por plásmidos permite la transferencia genética entre especies de diversos mecanismos de resistencia a antibióticos, donde destacan la producción de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEEs), la modificación del objetivo, porinas, modificación del antibiótico, entre otros (2). La tipificación de aislamientos clínicos permite mantener sistemas de vigilancia epidemiológica de especies de interés, así como sus características genéticas (3).

En el presente trabajo se realizó la caracterización genética e identificación de aislamientos clínicos de *K. pneumoniae*, así como la evaluación y caracterización de la transferencia de plásmidos por conjugación bacteriana y la tipificación de los aislamientos.

**Metodología.** Se realizó la prueba confirmatoria de producción de BLEES mediante el método del CLSI, 2018 (4). La identificación de especie se realizó mediante la amplificación de genes específicos para *K. pneumoniae*, *K. variicola* y *K. quasipneumoniae* (No publicado). La caracterización genética por PCR se realizó para los genes CTX-M 2, 9 y 15, SHV, qnrA, B y S, oqxA y B, *aac(6')-Ib-cr*, qepA y crpP (5). La conjugación bacteriana se realizó para la evaluación de transferencia de genes de resistencia (5), y la extracción y visualización de plásmidos mediante el método *Kieser* (6), la tipificación de los aislamientos mediante ERIC-PCR (7).

**Resultados.** Se recolectaron un total de 14 aislamientos clínicos identificados como *K. pneumoniae* otorgados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en el periodo enero-mayo de 2017, de los cuales 13 aislamientos fueron identificados como productoras de BLEEs y resistencia a quinolonas por VITEK®2. Mediante la prueba confirmatoria de producción de BLEES se obtuvo que el total de los aislamientos mostraron producción de BLEES, observado por la zona mínima inhibitoria. El total de los aislamientos fueron identificados como *Klebsiella pneumoniae* por PCR.

La caracterización genética por PCR mostró una alta prevalencia de producción de BLEES mediada por los genes CTX-M-15 (100%) y SHV (100%), mientras una menor prevalencia de CTX-M-2 (50%) y CTX-M-9 (0%). Los mecanismos de resistencia a quinolonas con mayor prevalencia fueron oqxA (100%), qnrB

(85%), *aac(6')-Ib-cr* (71%), mientras que oqxB, crpP, qnrS solo se mostraron en un aislamiento (7%), qepA y qnrA no se mostraron en ningún aislamiento (0%).

Se identificaron un total de 6 grupos clonales mediante la tipificación por ERIC-PCR, en los cuales los grupos A y B como los más prevalentes en urocultivos y hemocultivos con 5 aislamientos cada uno, mostrándose los meses de febrero y mayo con mayor recurrencia de clonas.

Se evaluó la transferencia de genes por conjugación bacteriana con dos aislamientos que poseían los diferentes genes del análisis respectivamente, donde se identificó la transferencia de los genes CTX-M-15 y 2, qnrB, *aac(6')-Ib-cr*, y oqxA. No fue posible la visualización de los plásmidos por el método *Kieser* debido a su degradación por la naturaleza del método.

**Conclusiones.** Se identificaron los principales mecanismos de resistencia a cefalosporinas y quinolonas mediados por plásmidos y codificados en genes de resistencia. La tipificación molecular de aislamientos clínicos permitió detectar especies clonales entre los aislamientos, lo cual permite mejorar el tratamiento y el control de los mismos.

**Agradecimientos.** Al Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas por el apoyo brindado y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento del proyecto.

### Bibliografía.

1. Raei F et al. (2014) Prevalence of Quinolone Resistance Among Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing Uropathogenic *Klebsiella pneumoniae*. *Jundishapur J Microbiol*, 7:(6).
2. Munita J et al. (2016) Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr*, 4:(2).
3. Lin et al. (2014) Review on molecular typing methods of pathogens. *Open J Med Microbiol*, 4:147-152.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI approved Standard M-100-S-28. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne*.
5. Silva J et al. (2011) Prevalence and Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolates in Mexico. *Microb Drug Resist*, 4:497-505.
6. Kieser T (1984) Factors Affecting the Isolation of CCC DNA from *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*. *Plasmid*, 12:19-36.
7. Castro N et al. (2009) Validación de dos variantes de la técnica rep-PCR para la tipificación molecular de aislados de *Enterobacter cloacae* productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. *Bioquímica*, 34:165-174.

