

L. Barreiro (1), F. Pasterán (1), P. Lorenzano (2), M. Galas (1), D. Faccone (1) *

(1)Servicio Antimicrobianos, Dpto. Bacteriología, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires;

(2) Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

dfaccone@anlis.gov.ar

RESUMEN

Recientemente hemos reportado, por primera vez, el hallazgo de la beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) GES-1, en un aislamiento clínico de *Pseudomonas aeruginosa* (PAE), detectado en el año 2002 por un hospital miembro de la Red WHONET-Argentina. A partir de esta emergencia, se optimizó la detección fenotípica de BLEEs en *Pseudomonas* spp., esto trajo aparejado un incremento en la detección de GES. *bla*_{GES} se encuentra asiduamente como casetes en integrones de clase 1 (Inc1). A la fecha, se desconoce la estructura de estos elementos genéticos en aislamientos clínicos de Argentina.

OBJETIVO

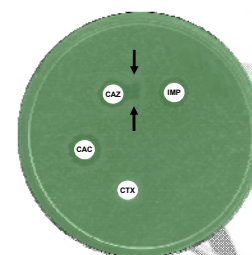
El objetivo del presente trabajo fue caracterizar a nivel molecular los Inc1 portadores del gen *bla*_{GES} en aislamientos clínicos de *Pseudomonas* spp., aislados en 11 hospitales de Argentina.

M & M

Se analizaron 22 aislamientos (21 *P. aeruginosa* y 1 *P. putida*) sospechosos de producir GES por presentar sinergia entre los discos de ceftacidima (CAZ) e imipenem (IMP) en el antibiograma por difusión (CLSI).

Mediante isoelectroenfoco (PI) se analizó la producción de beta-lactamasas, y se realizó confirmación por PCR.

Para la caracterización de los Inc1s se utilizaron iniciadores diseñados sobre las regiones conservadas 5'CS y 3'CS, las combinaciones usadas fueron: 5'CS/GES-R; GES-F/3'CS; 5'CS/3'CS.

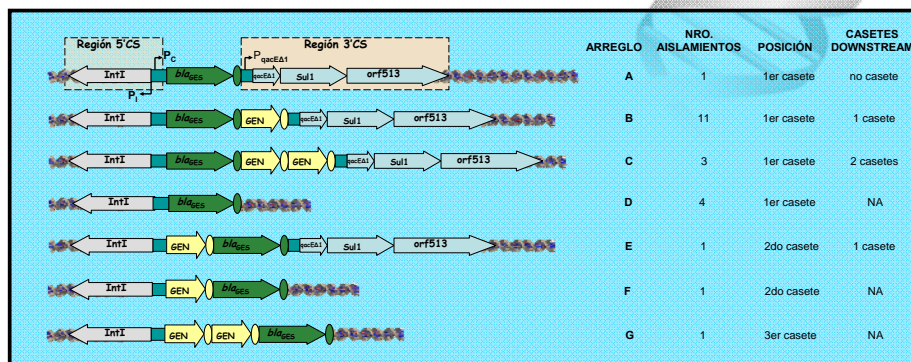


RESULTADOS

Mediante punto isoelectrico se determino que los 22 aislamientos presentaban una banda en común de 5,8 con actividad sobre cefalosporinas.

En todas las cepas, la presencia del gen *bla*_{GES} fue confirmada por PCR, como así también la detección del gen *IntI1* de la integrasa de clase 1 (Inc1).

En 19 casos, el gen *bla*_{GES} se encontró como primer casete, banda de aprox. 800 pb combinando los iniciadores 5'CS/GES-R (arreglos A-D). En los 3 restantes se obtuvo banda de 1600 pb (n=2), o 2000 pb (n=1), por lo que se estimó que *bla*_{GES} se aloja como segundo y tercer casete, respectivamente (arreglos E-G).



NA: No Amplifica

Combinando los iniciadores GES-F/3'CS se obtuvieron los siguientes tamaños aprox. (nro. aislamientos; arreglo): 900 pb (1; E), 950 pb (1; A), 1800 pb (10; B), 1950 pb (1; B), 2600 pb (1; C), 3200 pb (2; C); en 6 casos no se observó amplificación (arreglos D, F y G).

Con la combinación de 5'CS/3'CS se observó gran variabilidad: se detectaron aislamientos con 3, 2 y 1 Inc1 (desde 1200 a 3500 pb) como también 3 casos sin amplificación.

CONCLUSIONES

- 1 En la mayoría de los casos se observó que *bla*_{GES} se aloja como primer casete de los Inc1.
- 2 Las regiones 3'CS de los Inc1 estudiados presentan una amplia variabilidad.
- 3 En un número significativo de cepas (n=6) no se obtuvo amplificación de la región 3'CS por lo que se sospecha de deleciones en esta región.
- 4 Estos hallazgos moleculares confirman la localización de *bla*_{GES} como casetes de Inc1, contribuyendo al conocimiento de esta resistencia emergente en Argentina.