

Soraya Herrera Espejo^{1,2}, Alejandro Rubio Valle³, Gema Labrador Herrera^{1,2}, Jerónimo Pachón^{2,5}, Elisa Cordero Matía^{1,2,4,5}, Antonio J. Pérez Pulido³, María Eugenia Pachón Ibáñez^{1,2,4}

¹ Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ² Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. ³ Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD, UPO-CSIC-JA). Facultad de Ciencias Experimentales (Área de Genética), Universidad Pablo de Olavide (UPO), Sevilla. ⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Madrid. ⁵ Departamento de Medicina, Universidad de Sevilla, Sevilla.

Introducción/Objetivo

Las mutaciones con bajo nivel de resistencia a quinolonas (LLQR) y/o fosfomicina (LLFR), pueden ser el primer paso para el desarrollo de resistencias de alto nivel. El objetivo de este estudio es identificar la presencia de mutaciones en genes implicados en la resistencia en aislados clínicos de una cohorte de pacientes trasplantados renales con bacteriurias asintomáticas y/o cistitis, por cepas de *E. coli* con LLQR y LLFR.

Resultados

El análisis de genes implicados en resistencia a antimicrobianos identificó que el 92% de los aislados con LLQR presentan mutaciones en genes que confieren resistencia a ciprofloxacino. En los aislados con LLFR se encontró un 38% de mutaciones en genes descritas que confieren resistencia a fosfomicina (Tablas 1-2).

Tabla 2. Genes con mutaciones puntuales de las 8 cepas LLFR.

Gen	145	139	44	149	112	8	156	160	90	142	Abundancia
<i>blaEC</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	88%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF321551)	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	50%
<i>aph(6)-Ib</i> (aph(6)-Ib_M28829)	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	50%
<i>blaTEM-1B</i> (blaTEM-1B_AY458016)	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	50%
<i>gyrA</i> (p.S83L)	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	50%
<i>gyrA</i> (p.D87N)	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	38%
<i>sitABCD</i> (sitABCD_AY598030)	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	38%
<i>tet(A)</i> (tet(A)_AJ517790)	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	38%
<i>parC</i> (S801)*	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	38%
<i>aadA1</i> (aadA1_JX185132)	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	25%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF313472)	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	25%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF024602)	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	25%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF321550)	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	25%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_X00926)	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	25%
<i>qacE</i> (qacE_X68232)	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	25%
<i>sul1</i> (sul1_U12338)	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	25%
<i>sul2</i> (sul2_HQ840942)	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	25%
<i>tet(B)</i> (tet(B)_AF326777)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	25%
<i>uphT</i> (E350Q)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	25%
<i>aadA1</i> (aadA1_JQ414041)	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	13%
<i>aadA1</i> (aadA1_JQ480156)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	13%
<i>blaMIR-6</i> (blaMIR-6_JQ664733)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	13%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_AF203818)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	13%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_AJ238350)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	13%
<i>dfrA5</i> (dfrA5_X12868)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	13%
<i>fosA</i> (fosA_AEXB01000013)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	13%
<i>sul2</i> (sul2_AY034138)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	13%
<i>cvaA</i> (S352T)	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	13%
<i>parE</i> (S458A)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	13%
<i>marR</i> (S3N)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	13%
<i>catA1</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	13%
<i>oqxB</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	13%
<i>aadA2</i> (aadA2_JQ364967)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>cmlA1</i> (cmlA1_M64556)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>dfrA7</i> (dfrA7_AB161450)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>dfrA12</i> (dfrA12_AM040708)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>qacL</i> (qacL_NG_048048)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>sul1</i> (sul1_DQ914960)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>sul1</i> (sul1_AY115475)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>sul1</i> (sul1_AY522923)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
<i>sul3</i> (sul3_AJ459418)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%

+ : presencia de mutación puntual; - : ausencia de mutación puntual; sombreado: cepas control.

Material y métodos

Se seleccionaron 20 aislados de *E. coli* de una cohorte de pacientes trasplantados renales recogidas entre 2017-2020. Se seleccionaron por presentar LLQR (CMI=0.06-0.5 mg/L) o LLFR (CMI=2-8 mg/L). Se extrajo el ADN bacteriano (QIAamp® Mini Kit) y se secuenció el genoma completo utilizando la plataforma HiSeq (250 *paired-end*) de Illumina.

Se utilizaron las herramientas: Trimmomatic (v0.35) para filtrar las lecturas por calidad y Unicycler (v0.4.9) para ensamblar las lecturas en *contigs* debido a su alta precisión con lecturas cortas.

Se realizó una búsqueda dirigida de mutaciones en todos los genes implicados en la resistencia a antimicrobianos usando ResFinder (v4.1), PlasmidFinder (v2.1) y AMRFinderPlus (v3.10).

Tabla 1. Genes con mutaciones puntuales de las 12 cepas LLQR.

Gen	5	44	57	149	14	64	17	126	18	164	140	167	26	168	Abundance (%)
<i>blaEC</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
<i>blaTEM-1B</i> (blaTEM-1B_AY458016)	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	83%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF321551)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	75%
<i>gyrA</i> (p.S83L)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	75%
<i>blaTEM-1A</i> (blaTEM-1A_HM749966)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	75%
<i>aph(6)-Ib</i> (aph(6)-Ib_M28829)	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	67%
<i>qacE</i> (qacE_X68232)	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	58%
<i>sitABCD</i> (sitABCD_AY598030)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	58%
<i>sul1</i> (sul1_U12338)	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	58%
<i>tet(A)</i> (tet(A)_AJ517790)	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	58%
<i>aadA1</i> (aadA1_JX185132)	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	42%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_AF203818)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	42%
<i>mph(A)</i> (mph(A)_D16251)	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	42%
<i>uphT</i> (E350Q)	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	42%
<i>catA1</i> (catA1_V00622)	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	42%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_AJ238350)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	33%
<i>dfrA1</i> (dfrA1_X00926)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	33%
<i>floR</i> (floR_AF118107)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	33%
<i>sul2</i> (sul2_AY034138)	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	33%
<i>sul2</i> (sul2_HQ840942)	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	33%
<i>aadA5</i> (aadA5_AF137361)	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	25%
<i>aac(3)-Ile</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	25%
<i>dfrA17</i> (dfrA17_FJ460238)	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	25%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF024602)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	17%
<i>qnrS1</i> (qnrS1_AB187515)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17%
<i>tet(B)</i> (tet(B)_AF326777)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	17%
<i>16S_rrsC</i> (g.926_926del)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aac(3)-IIa</i> (aac(3)-IIa_CP023555)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aac(3)-IIa</i> (aac(3)-IIa_X51534)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>ampC</i> -promoter (g.-32T>A)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8%
<i>aph(3'')-Ia</i> (aph(3'')-Ia_EF015636)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF313472)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aph(3'')-Ib</i> (aph(3'')-Ib_AF321550)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aph(6)-Ib</i> (aph(6)-Ib_18676889)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	8%
<i>aph(6)-Ib</i> (aph(6)-Ib_CP000971)	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>ARR-2</i> (ARR-2_HQ141279)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8%
<i>blaCARB-2</i> (blaCARB-2_M69058)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	8%
<i>blaOXA-1</i> (blaOXA-1_HQ170510)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	8%
<i>blaOXA-10</i> (blaOXA-10_J03427)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	8%
<i>cmlA1</i> (cmlA1_M64556)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	8%
<i>dfrA14</i> (dfrA14_KF921535)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>dfrA36</i> (dfrA36_CP038791)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	8%
<i>dfrA8</i> (dfrA8_U10186)	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8%
<i>erm(B)</i> (erm(B)_JN899585)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	8%
<i>gyrA</i> (p.D87N)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8%
<i>qacL</i> (qacL_NG_048048)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	8%
<i>sul3</i> (sul3_AJ459418)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	8%
<i>tet(A)</i> (tet(A)_AF534183)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8%
<i>cyaA</i> (S352T)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	8%
<i>parE</i> (D476N)	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aadA1</i> (aadA1_JQ414041)	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8%
<i>aph(6)-Ib</i> (aph(6)-Ib_AF024602)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%

+ : presencia de mutación puntual; - : ausencia de mutación puntual; sombreado: cepas control.

Conclusiones

- Las mutaciones en el gen *GyrA*, implicado en la resistencia a ciprofloxacino, es la más prevalente (75%) en los aislados LLQR y ausente en las cepas sensibles usadas como control.
- Los aislados con LLFR presentan mutaciones en genes implicados en la resistencia a fosfomicina (*FosA*, *CyaA* y *UphT*), siendo la más predominante (25%) la mutación en el gen *UphT*.