

**PROGRAMA DE SUBVENCIONES PARA LA INVESTIGACION**

**INFORME FINAL DE PROYECTO**

**CARACTERIZACION FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE LAS BACTERIAS  
ENTEROPATOGENAS AISLADAS EN CUBA.**

REFERENCIA : HDP/ HDR/ (81/.1) CUB 3052

**AUTOR: DRA. MARÍA MARGARITA RAMÍREZ ALVAREZ**

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"**

## NFORME FINAL

### RESUMEN.

El objetivo principal de este estudio fue la caracterización fenotípica y genotípica de las bacterias enteropatógenas causantes de enfermedad diarreica aguda aisladas en período de 18 meses en Cuba. Par realizar nuestros propósitos se siguió la siguiente metodología: se seleccionaron las cepas de bacterias enteropatógenas remitidas al Laboratorio de Referencia Nacional de Enfermedades Diarreicas Agudas del Instituto "Pedro Kouri" por los laboratorios de Microbiología provinciales. La muestra estuvo representada por 494 cepas de *Shigella*, 473 cepas de *Salmonella* y 65 cepas de *Vibrio cholerae* NO-O1. A estas cepas se realizó las comprobaciones bioquímicas y serológicas; una vez identificadas, se les realizaron las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a diferentes drogas. Posteriormente se realizó el análisis de plásmidos a las cepas multirresistentes; a continuación a una muestra seleccionada de estas bacterias se les realizó la electroforesis en campo pulsado, los patrones de ADN se comprobaron mediante el programa informático MVSP, que realiza el análisis estadístico de multivariantes; el ADN cromosomal se analizó utilizando la técnica de AFLP y finalmente según el patrón de resistencia obtenido en las cepas de *Shigella* se realizó mediante la técnica de PCR la identificación de genes de resistencia. Los principales resultados obtenidos fueron: de las 494 cepas de *Shigella* analizadas se encontraron: 291 cepas de *Shigella flexneri* 59%, 158 de *Shigella sonnei* 32%, un 5% y 4% de *Shigella boydii* y *Shigella dysenteriae* respectivamente. Los principales fenotipos de resistencia de estas cepas fueron: resistencia a tetraciclina 84.2%, a trimetoprim-sulfametoxazol 79.6%, a estreptomocina 73.7%, a ampicilina 37.8%, a cloranfenicol 21.2% y ácido nalidíxico 5.8%. Los perfiles plasmídicos fueron detectados en el 100% de estas cepas, estos fueron excluyentes y se asociaron a 17 fenotipos de resistencia, cada cepa albergó entre 2 y 8 plásmidos con tallas entre 2 y 45 kpb. Como resultado de la caracterización mediante AFLP en esta especie fueron obtenidos 19 perfiles diferentes mostrando alta heterogeneidad entre las bandas. El dendograma elaborado con los perfiles obtenidos ubicó las cepas de *Shigella sonnei* en 9 grupos y las de *Shigella flexneri* en 4 grupos. La caracterización genotípica de *Shigella* mediante la electroforesis en campo pulsado mostró los agrupamientos de las cepas de *Shigella sonnei* en tres grupos y los de *Shigella flexneri* en cuatro, mostrando la alta heterogeneidad en estas dos especies. Los resultados del serotipaje de las cepas de *Salmonella* mostró la circulación de 25 serotipos diferentes de cepas en todo el país, entre los principales se encuentran: *Salmonella Typhimurium* 54.% y *Salmonella Enteritidis* 11.4%, se analizaron también dos brotes de *Salmonella Enteritidis* que mostraron el mismo perfil fenotípico y genotípico. Los perfiles de resistencia en las cepas de *Salmonella* fueron: 11.8% cepas resistentes a tetraciclina, 6.3% a

ampicilina, 5.9 % a ampicilina/ sulbactam y 3.3 % a estreptomicina .La caracterización genotípica de los diferentes serotipos de *Salmonella* fue: al analizar el perfil plasmídico de *Salmonella Typhimurium* se encontraron siete perfiles diferentes que correspondían a cuatro patrones de resistencia, con talla entre 1.3 y 1,6 kb. Se obtuvieron en estas mismas cepas doce perfiles diferentes de restricción mediante la técnica de AFLP. Las cepas de *Salmonella Typhimurium* se analizaron mediante electroforesis en campo pulsado y se obtuvieron tres agrupamientos diferentes. Las 65 cepas de *Vibrio cholerae* estudiadas correspondieron al serotipo NO-O1: La susceptibilidad a las drogas antimicrobianas en estas cepas se comportó 32% de resistencia a ampicilina, 4.6 % resistentes a tetraciclina, 12.3 % a trimetoprim-sulfametoxazol y 32.3% resistentes a sulfonamida. De estas cepas 19 resultaron multirresistentes y 9 de ellas contenían uno o más plásmidos que permitieron diferenciar las cepas de las diferentes regiones del país. . Mediante la electroforesis en campo pulsado se encontraron tres perfiles diferentes que circulan en las tres regiones del país. Se encontraron en las cepas de *Shigella* diferentes genes de resistencia como son el *dhfr*, el gen de la enzima *Gyr A*, los genes *bla* y los genes del Integron de clase 1.

Como conclusiones principales de esta investigación podemos destacar:

1. Se determinaron los principales fenotipos de resistencia a drogas antimicrobianas en las cepas de *Shigella*, *Salmonella* y *Vibrio cholerae* NO-O1 estudiadas.
2. Se determinó los diferentes clusters o agrupamientos de las cepas de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio* multirresistentes según los perfiles plasmídicos, los perfiles de restricción de AFLP y los perfiles de electroforesis en campo pulsado. Comprobándose la heterogeneidad genética de las cepas que circulaban en las diferentes regiones del país.
3. Se determinó la clonalidad de las cepas aisladas de brotes de *Salmonella Enteritidis*.
4. Se comprobó la presencia de Integrones de clase 1 y diferentes genes de resistencia a drogas en las cepas de *Shigella* multirresistentes.