

banas y podrían permitir la detección de circulación del virus de FA y otros arbovirus en estas áreas de transición. Por otra parte, estos estudios permiten obtener resultados acerca de la diversidad de mosquitos en la zona, lo cual es un aspecto a considerar para las acciones de control. Proponemos continuar con los muestreos a manera de vigilancia.

Bibliografía

- Sabattini MS, Avilés G, Monath TP. Historical, epidemiological and ecological aspects of arboviruses in Argen-

tina: *Flaviviridae*, *Bunyaviridae* and *Rhabdoviridae*. In: An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighboring Countries. APA Travassos da Rosa, PFC Vasconcelos, JFS Travassos da Rosa, eds. Belem, Brazil: *Instituto Evandro Chagas*, 1998:113-4.

- Bryant JE, Holmes EC, Barrett ADT. Out of Africa: a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas. *PLoS Pathogens* 2007; 3:668-73.
- Goenaga S, Fabbri C, Rondan Dueñas J, Gardenal C, et al. Isolation of yellow fever virus from mosquitoes in Misiones Province, Argentina. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*; 2012,12(11):986-93.

Palabras claves: fiebre amarilla, Alfavirus, Flavivirus, Argentina.

1. Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui". Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
2. Fundación Mundo Sano. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Factores de virulencia y multirresistencia en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas

Virulence factors and multidrug resistance in *Enterococcus faecalis* strains isolated from human invasive infections

Celia Schell¹, Mónica Sparo^{1,2}, Judith Bernstein¹, Silvia Grenóvero¹, Gastón Delpech², Gisela Pourcel², María De Luca¹, Juan Basualdo¹

Enterococcus faecalis es integrante de la microbiota intestinal habitual del hombre y de animales y es indicador de contaminación de agua y del medio ambiente debido a su excreción fecal. Aislamientos de *Enterococcus* spp. a partir de alimentos de origen animal (AOA) se han comunicado recientemente en nuestro país.

E. faecalis es la especie aislada con mayor frecuencia de muestras biológicas humanas y es considerado agente etiológico emergente de infecciones invasivas, capaz de transmitir resistencia antimicrobiana (RA). La RA se disemina a través de un sistema muy eficiente de intercambio de genes, el cual se optimiza por la presencia de feromonas sexuales. La transferencia de genes que expresan alto nivel de resistencia a gentamicina (ANRG) desde cepas de *E. faecalis* aisladas de AOA hacia la microbiota humana ha sido demostrada *in-vivo*. Este último hecho conjuntamente con la expresión de factores de virulencia (FV) aumentan la importancia de los enterococos en la patogénesis de las infecciones invasivas humanas. Su resistencia a múltiples antimicrobianos (ATM) especialmente a aquellos que se utilizan para su tratamiento, genera dificultades para seleccionar su terapéutica, la cual debe ser rápida y acertada. Los estudios sobre la importancia de la expresión y función de sus FV son escasos, no se realizan de rutina y continúan siendo controversiales. Los genes que codifican para algunos FV y que se ubican en plásmidos conjugativos, poseen dos particularidades: se transfieren y diseminan rápidamente siendo éstas desde el punto de vista clínico-epidemiológico, muy relevantes.

Hemolisina-citolisina es una proteína con actividad lítica para eritrocitos humanos y de algunas especies animales. Participa en el ingreso de los enterococos a los tejidos, contribuye al daño e invasión tisular y es tóxica para las células epiteliales intestinales. Su expresión estaría asociada a un aumento de cinco veces en el riesgo de muerte en pacientes con bacteriemia. La sustancia de agregación (SA) es una proteína asociada a la pared celular, propia de ciertas cepas de enterococos, cuya expresión es inducida a través de feromonas sexuales. Permite un contacto eficiente entre células donantes y receptoras facilitando la transferencia de material genético. La expresión de SA en *E. faecalis* se ve favorecida por un plásmido conjugativo pAD1 (uno de los más estudiados) en cuyo material genético se encuentra también la información necesaria para la síntesis de hemolisina. Gelatinasa es una metalo-endopeptidasa extracelular de codifica-

ción cromosómica con acción hidrolítica sobre diversos sustratos (caseína, colágeno, hemoglobina y otros péptidos biológicamente activos) y su producción está controlada por un sistema de regulación de expresión génica denominado *quorum sensing* en el que están involucrados tres genes del locus *fsr* de *E. faecalis*.

El objetivo del presente trabajo es determinar la expresión de FV y detectar resistencia antimicrobiana en cepas de *E. faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas.

Materiales y métodos

El diseño fue observacional, prospectivo y de corte transversal, con muestreo no probabilístico, intencional. El área bajo estudio se situó en el Hospital Municipal Ramón Santamarina (HMRS) de la ciudad de Tandil, Buenos Aires. La recolección de muestras se realizó entre los meses de febrero y agosto del año 2012. Se tomó una muestra por paciente, de rango etario comprendido entre 20 y 95 años y de ambos géneros. Los criterios de inclusión se definieron como: cepa identificada bioquímicamente como *E. faecalis*; aislada de muestras de líquidos de punción, obtenida de sitios normalmente estériles, de pacientes internados en el HMRS, con diagnóstico presuntivo de infección invasiva. La SA fue detectada según protocolo de Franz, et al.; hemolisina-citolisina se determinó utilizando agar cerebro-corazón (BHIA) suplementado con sangre humana al 5% (con serología negativa según Banco de Sangre) y gelatinasa en BHIA con 1,5% de leche descremada, posteriormente se colocó 5 µL de un cultivo de 18 h de cada cepa y se incubó durante 48 h a 35°C. La multirresistencia antimicrobiana se definió como "presencia de resistencia a dos o más familias de ATM" y se determinó según recomendaciones del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2013.

El programa SPSS-IBM v.19 se utilizó para el análisis estadístico. Se consideró estadísticamente significativo hallazgo de valores de $p < 0.05$ con la prueba Chi-cuadrado y test exacto de Fisher.

Resultados

Se recuperó un total de 36 cepas de *E. faecalis*. Se detectó la expresión de β-hemólisis (hemólisis total) en 7/36 (19.4%) cepas. SA fue detectada en 26/36 cepas (72.2%). La expresión de gelatinasa fue positiva en 17/36 (47.2%) aislamientos. Se observó un 27.8% de ANRG con CIM ≥ 1024 , un 44.4% de resistencia a eritromicina al igual que a tetraciclina. Frente a fluorquinolonas como levofloxacina y ciprofloxacina se detectó 19.4% y 25.0% de resistencia respectivamente. El análisis estadístico reveló

asociación significativa entre hemolisina-citolisina y ANRG ($p = 0.032$); hemolisina-citolisina y resistencia a eritromicina ($p = 0.049$); hemolisina-citolisina y resistencia a tetraciclina ($p = 0.029$) y entre gelatinasa y resistencia a tetraciclina ($p = 0.017$).

Discusión

E. faecalis posee un comportamiento controvertido, es flora normal del intestino humano y animal y es productor emergente de infecciones invasivas humanas, tal como se observa en el presente trabajo, hecho que lo define como un patógeno oportunista en constante evolución. Por este motivo, en este tipo de infecciones, es imprescindible caracterizar la especie para detectar RA e iniciar una terapéutica antimicrobiana rápida, eficaz y bactericida, debido a la múltiple resistencia cepa dependiente que presenta este género.

Esta investigación demuestra expresión de FV y multirresistencia en cepas de *E. faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas. Además comprueba la relación significativa entre hemolisina-citolisina y ANRG, hemolisina-citolisina y resistencia a eritromicina y tetraciclina y entre gelatinasa y resistencia a tetraciclina. Se destaca la importancia de realizar y continuar con estudios similares en Instituciones de Salud para conocer que especies de *Enterococcus* resistentes predominan, cual es su perfil de RA y que FV representa un mayor impacto clínico para los pacientes.

Bibliografía

- Clewell DB, Weaver KE, Dunny GM, Coque TM, Francia MV, Hayes F. Extrachromosomal and mobile elements in enterococci: transmission, maintenance, and epidemiology. In Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., eds. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary 2014.
- Sparo M, Urbizu L, Solana MV, Pourcel G, Delpech G, Confalonieri A, et al. High-level resistance to gentamicin: genetic transfer between *Enterococcus faecalis* isolated from food of animal origin and human microbiota. *Lett Appl Microbiol* 2012;54(2):119-25.

Palabras claves: *Enterococcus faecalis*, factores de virulencia, infecciones invasivas, multirresistencia.

1. Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos. Facultad de Ciencias Médicas-UNLP. La Plata, Buenos Aires.

2. Laboratorio de Microbiología. Escuela Superior de Ciencias de la Salud. Olavarría.

schellcelia@med.unlp.edu.ar