

Los complejos clonales de alto riesgo CC2 y CC9 están ampliamente representados en cepas hospitalarias de *Enterococcus faecalis* aisladas en España

Patricia Ruiz-Garbajosa^a, Teresa M. Coque^a, Rafael Cantón^a, Rob J.L. Willems^b, Fernando Baquero^a y Rosa del Campo^a

^aServicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España. ^bEijkman-Winkler Institute for Microbiology, Infectious Diseases and Inflammation. University Medical Center. Utrecht. Países Bajos.

INTRODUCCIÓN. El desarrollo de un esquema de *Multilocus sequence typing* (MLST) para *Enterococcus faecalis* ha permitido conocer los primeros datos de su estructura poblacional y epidemiología global. Se ha detectado la dispersión en Europa y América de dos complejos clonales (CC) de alto riesgo denominados CC2 y CC9 que están especialmente adaptados al medio hospitalario. El objetivo de este trabajo ha sido definir la presencia de ambos CC en cepas de *E. faecalis* aisladas en España.

MÉTODOS. Se han caracterizado por MLST 81 cepas de *E. faecalis* aisladas de diversos orígenes y correspondientes a diferentes años y regiones españolas. Debido a su importancia clínica y epidemiológica se han incluido cepas representativas de cada uno de los brotes hospitalarios por *E. faecalis* resistente a vancomicina descritos en España.

RESULTADOS. En el medio hospitalario se detectó la dispersión de CC2 y CC9. En estos CC se han agrupado las cepas de *E. faecalis* resistentes a vancomicina causantes de los brotes hospitalarios en La Coruña, Palma de Mallorca y Valencia, así como cepas de origen hospitalario sensibles a la vancomicina. La utilización del índice de asociación (I_a), que estima el equilibrio de ligamiento en la población estudiada, reveló una estructura poblacional epidémica cuya variabilidad genética es debida a procesos de recombinación.

CONCLUSIÓN. En España se han detectado los CC de alto riesgo CC2 y CC9, que han evolucionado localmente de forma diferente en función de la carga genética del entorno. Las medidas de control de la infección deberían ir encaminadas a la detección de estos CC de alto riesgo, ya que su presencia en los hospitales podrían predecir tendencias futuras en cuanto a la adquisición de determinadas resistencias como es el caso de la vancomicina.

Palabras clave: MLST. *Enterococcus faecalis*. Complejo clonal. Clones hospitalarios.

High-risk clonal complexes CC2 and CC9 are widely distributed among *Enterococcus faecalis* hospital isolates recovered in Spain

INTRODUCTION. Our previously described multilocus sequence typing (MLST) scheme for *Enterococcus faecalis* has provided insight into the population structure and global epidemiology of this organism. Two high-risk complexes, CC2 and CC9, especially adapted to the hospital environment and widely distributed in Europe and America, were identified. The purpose of this study was to define the presence of CC2 and CC9 among *E. faecalis* strains isolated in Spain.

METHODS. A total of 81 *E. faecalis* isolates recovered from several sources and geographic areas of Spain were characterized using MLST. Because of their clinical and epidemiological interest, strains were included from each of the vancomycin-resistant *E. faecalis* hospital outbreaks described in Spain.

RESULTS. Among the isolates, CC2 and CC9 were detected in the hospital setting. Included in these CC were the vancomycin-resistant *E. faecalis* isolates causing hospital outbreaks in La Coruña, Palma de Mallorca and Valencia, as well as vancomycin-susceptible hospital isolates. The Index of Association (I_a), which measures linkage disequilibrium between alleles, revealed an epidemic population structure on a background of high recombination rates.

CONCLUSIONS. High-risk complexes (CC2 and CC9) particularly adapted to the hospital environment were detected in Spain. Evolution of these CC in different areas depended on the local gene pool. Future infection control policies should be orientated to detect high-risk CC with the aim of predicting potential trends toward acquisition of specific resistance, such as to vancomycin.

Key words: MLST. *Enterococcus faecalis*. Clonal complexes. Hospital-adapted clones.

Introducción

Enterococcus faecalis es un habitante comensal del tracto gastrointestinal humano y de animales, pero desde hace años se conoce también su papel como agente causante de

Correspondencia: Dra. P. Ruiz-Garbajosa. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Ctra. de Colmenar Viejo, km 9,100. 28034 Madrid. España. Correo electrónico: pruizg.hrc@salud.madrid.org

Manuscrito recibido el 20-11-2006; aceptado el 7-3-2007.

endocarditis infecciosa¹ y en la actualidad es un reconocido patógeno nosocomial². La importancia de *E. faecalis* desde un punto de vista clínico y epidemiológico se debe principalmente a su capacidad para adquirir elementos genéticos que codifican determinantes de virulencia y resistencia antibiótica que pueden mejorar su adaptación a ecosistemas complejos como es el hospitalario³. El paradigma de esta evolución y adaptación ha sido la aparición y diseminación de cepas de enterococos resistentes a vancomicina⁴.

Recientemente se ha definido la estructura poblacional de *E. faecium*^{5,6} y *E. faecalis*⁷ empleando la técnica de *Multilocus sequence typing* (MLST). Como ha sido demostrado, MLST es la técnica más adecuada para el estudio de la estructura poblacional y los mecanismos implicados en la generación de diversidad genética en las poblaciones bacterianas^{8,9}. Además, el empleo de la técnica de MLST aporta la ventaja de la globalización, ya que los datos obtenidos se almacenan fácilmente en bases de datos accesibles vía Internet¹⁰. Este hecho permite crear una nomenclatura común de consenso sobre los diferentes genotipos y clones detectados en diferentes países.

En un trabajo previo realizado por nuestro grupo, el desarrollo de un nuevo esquema de MLST para *E. faecalis* ha permitido obtener los primeros datos acerca de la epidemiología global y estructura poblacional de esta bacteria⁷. En dicho estudio, se detectó la presencia de dos importantes complejos clonales (CC) denominados CC2 y CC9 que incluían cepas de origen hospitalario con resistencia a vancomicina y causantes de brotes hospitalarios. Posteriormente, CC2 y CC9 han sido definidos como complejos clonales de alto riesgo¹¹ por su especial adaptación al ambiente hospitalario y su dispersión en diferentes países y continentes.

El objetivo del presente trabajo ha sido aplicar la técnica de MLST en cepas de *E. faecalis* sensibles y resistentes a la vancomicina aisladas en España para conocer su estructura poblacional y definir la posible presencia de ambos CC de alto riesgo en nuestro país.

Material y métodos

Cepas estudiadas

Se han incluido 81 cepas de *E. faecalis* procedentes de siete regiones españolas con diferentes orígenes y recogidas en distintos años (tabla 1). En esta colección también se han incluido cepas de *E. faeca-*

lis resistentes a la vancomicina causantes de los brotes hospitalarios descritos hasta la fecha en España¹²⁻¹⁵ debido a su gran relevancia clínica y epidemiológica. Para la identificación de la especie se emplearon los cebadores específicos para el gen que codifica la D-alanina: *D-alanina ligasa* (*ddl*)¹⁶.

Multilocus sequence typing

Se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fragmentos internos de 7 genes metabólicos muy conservados (*gdh*, *gyd*, *pstS*, *gki*, *aroE*, *xpt* y *yiqL*), siguiendo el esquema previamente propuesto⁷ (<http://efaecalis.mlst.net>). Todos los productos de amplificación fueron finalmente secuenciados en ambas direcciones para su posterior análisis.

Análisis de los datos

A cada nueva secuencia o alelo identificado para cada uno de los 7 genes que componen el esquema se les asignó un número en función del orden de aparición y en concordancia con la base de datos de MLST para *E. faecalis* (<http://efaecalis.mlst.net>). Posteriormente, a las combinaciones de los siete alelos se les asignó un perfil alélico o tipo de secuencia (*sequence type* [ST]) utilizando los genes en el siguiente orden: *gdh*, *gyd*, *pstS*, *gki*, *aroE*, *xpt*, *yqiL* (<http://www.mlst.net>).

La relación entre las diferentes ST se muestra en un dendrograma construido con el método UPGMA empleando el programa informático START (<http://www.mlst.net>). Las ST se agruparon en CC mediante el programa informático eBRUST¹⁷ (<http://www.mlst.net>). Los CC se definen como grupos de ST relacionadas entre sí que comparten al menos 5 de los 7 alelos con otras ST del mismo grupo. Además, los CC llevan implícito un concepto evolucionista ya que estas ST se han diversificado recientemente a partir de un antecesor común. El programa informático eBRUST permite determinar la ST que con mayor probabilidad representa el genotipo fundador de un CC. Se considera como posible ST fundadora de un CC a aquella que presenta un mayor número de ST dentro del mismo grupo que se diferencian entre sí en un solo alelo (*single locus variants* [SLV]). Por último, las ST que no pueden asignarse a ningún CC se denominan *singletons*.

Evaluación de la recombinación

El índice de asociación (I_a)¹⁸ estima el equilibrio de ligamiento entre los diferentes alelos de los 7 loci. El I_a se define como: $I_a = V_o/V_E - 1$, en el que V_o es la varianza observada de K y V_E es la varianza esperada de K, y K es el número de locus en el que se diferencian dos individuos. Cuando los alelos están en equilibrio de ligamiento el I_a tiene un valor próximo a cero y, por tanto, es una población en la que la recombinación es frecuente. Por el contrario, una población clonal se caracteriza por presentar un I_a que se desvía significativamente de cero. Para calcular el I_a se utilizó el programa informático START (<http://www.mlst.net>).

TABLA 1. Cepas de *Enterococcus faecalis* incluidas en el estudio

Origen	Ciudad	Resistencia a vancomicina	Número de aislados	Año de aislamiento	Referencia
Brotes hospitalarios	Valencia	+	1	1999	15
	La Coruña	+	1	2001	14
	Barcelona	+	1	2001	12
	Zaragoza	+	1	2001	12
	Palma de Mallorca	+	1	2003	13
Muestras clínicas	Madrid	–	28	2001-2003	Este trabajo
Colonización intestinal en pacientes hospitalizados	Madrid	–	29	2001	Este trabajo
Voluntarios sanos de la comunidad	Madrid	–	11	2001	27
Animal	Logroño	+	1	1998	18
	Logroño	–	6	2001	Este trabajo
Cepa de laboratorio (PB1)	Madrid	–	1	1999	Este trabajo

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3402888>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3402888>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)