

Divergencia en las adaptaciones evolutivas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen clínico y ambiental

Gabriela Vasco, Carrera de Medicina, Universidad Central del Ecuador, e Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito
 Karla Vasco, Department of Microbiology & Molecular Genetics, Michigan State University
 Gabriel Trueba, Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria de origen ambiental que presenta una alta virulencia en pacientes humanos inmunocomprometidos, y está asociada tanto a infecciones comunitarias como nosocomiales. El origen de las cepas clínicas de esta bacteria ha sido objeto de un extenso debate, dado que no se ha identificado una relación filogenética clara entre ellas y, en la mayoría de los casos, no existe una vinculación epidemiológica evidente, aunque se ha demostrado que podría tener un origen endógeno.

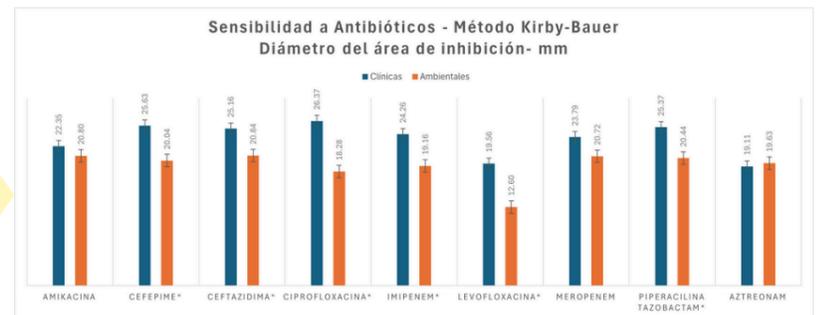
80% De las muestras ambientales fueron positivas para la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

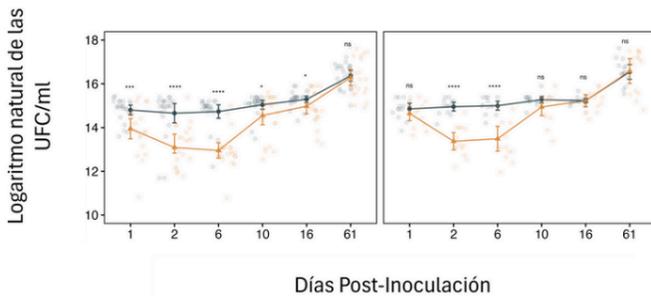
En este estudio, se recolectaron aislados bacterianos de la especie *P. aeruginosa* de muestras clínicas y ambientales (como lavabos o duchas) en una casa de salud de la ciudad de Quito durante el período de un año. Se investigó si las bacterias presentaban diferencias al someterlas a diversas pruebas fisiológicas tales como sobrevivencia en condiciones mínimas, sobrevivencia a la depredación del hospedador *Tetrahymena pyriformis*, resistencia a antibióticos, capacidad de motilidad “swarming”, “swimming” y “twitching”, y competición con otras cepas de *P. aeruginosa*. Durante el periodo de un año, aislamos 373 cepas ambientales del hospital y recolectamos 27 cepas clínicas provenientes de 19 pacientes. Las bacterias de este estudio no mostraron similitudes genéticas entre cepas aisladas en el mismo tiempo, cuando se comparó la secuencia del gen *aroE* (498 pb).

01

Resistencia a antibióticos: Las cepas clínicas fueron más susceptibles a los antibióticos cefepime ($t = -2.858, p = 0.002$), ceftazidima ($t = -1.868, p = 0.022$), ciprofloxacina ($t = -1.94, p = 0.021$), imipenem ($t = -1.857, p = 0.036$), levofloxacina ($t = -1.907, p = 0.02$) y piperacilina-tazobactam ($t = -2.136, p = 0.013$), que las cepas ambientales.



Sobrevivencia a la depredación por *Tetrahymena pyriformis*. Los conteos de UFC/ml están expresados en logaritmo natural del número, y se muestra la variación de acuerdo con los días después de la inoculación.

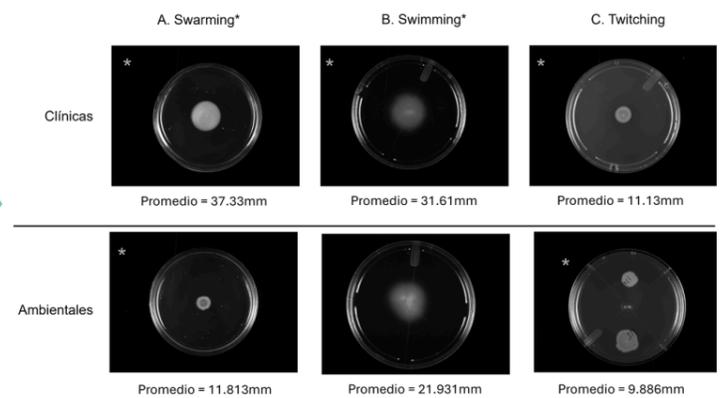


02

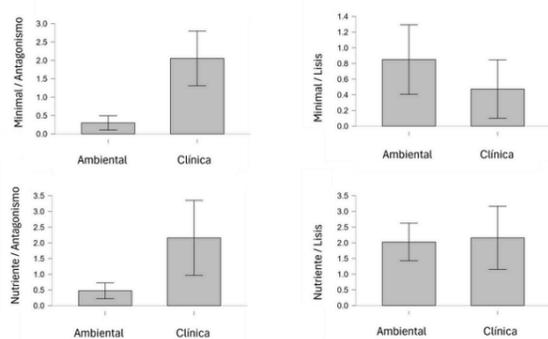
Resistencia a la depredación por *Tetrahymena pyriformis*: las bacterias clínicas mantuvieron una densidad mayor durante la interacción en comparación con las ambientales en los días 1 y 6 (día 1, $t = -2.253, p = 0.00698$, día 6: $t = -1.792, p = 0.041$). La densidad de los cilios no tuvo variaciones significativas.

03

Swarming, swimming y twitching: Las bacterias de origen clínico tuvieron zonas de motilidad tipo swarming ($t = -9.372, p < 0.001$) y swimming ($t = -3.052, p = 0.0013$) más amplias que las ambientales, sin embargo en la de tipo twitching no hubieron diferencias significativas.



Promedio del número de eventos de antagonismo o lisis por cepa frente un set de bacterias en condiciones de crecimiento minimal (agar M9) o nutritivo (Mueller Hinton)

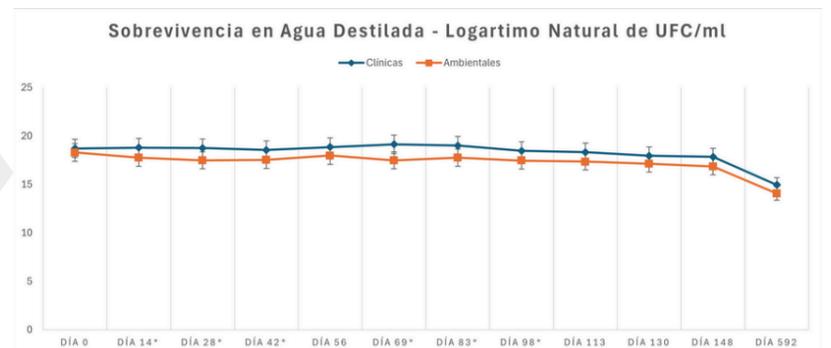


04

Competencia con otras bacterias: Las bacterias fueron inoculadas en un medio de cultivo agar Mueller Hinton para un crecimiento nutritivo o en agar M9 para el crecimiento minimal, y sobre ellas se inocularon un set de cepas de *P. aeruginosa*. Se contaron el número de veces que las bacterias fueron inhibidas (se formó un halo de inhibición alrededor de la cepa antagonista) y las veces que hubo lisis. Se observó que las de origen clínico presentaron más eventos de inhibición que las bacterias de origen ambiental en ambas condiciones nutritivas ($t = -3.932$ y $t = -6.271, p < 0.001$ respectivamente). No hubieron diferencias en el número de eventos de lisis.

05

Sobrevivencia en agua destilada: las cepas se inocularon en agua destilada estéril y se realizaron conteos del número de UFC/ml en diferentes puntos de tiempo entre el día 0 y el día 592. Las bacterias de origen clínico presentaron conteos mayores que los de las ambientales en el día 14 ($t = -2.588, p = 0.009$), que se mantuvo en los días 28, 42, 69, 83 y 98 (día 28: $t = -2.913, p = 0.0048$; día 42: $t = -2.548, p = 0.008$; día 69: $t = -2.673, p = 0.007$; día 83: $t = -2.081, p = 0.027$, día 98: $t = -1.789, p = 0.042$).



CONCLUSIONES

Este estudio demuestra la diversidad fisiológica que caracteriza a las bacterias de la especie *P. aeruginosa* que se pueden encontrar en un hospital, y se revela que existen diferencias fisiológicas entre cepas de origen clínico o ambiental. Dicha heterogeneidad sugiere que no todas las bacterias de esta especie son capaces de causar infecciones y de que durante la colonización del humano, las cepas con ciertas características fisiológicas que podrían incluir mayor sobrevivencia en condiciones mínimas, o la preservación de la motilidad tipo swarming o swimming, son seleccionadas en el hospedador.