

ARTÍCULOS ORIGINALES



***Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario**

***Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* as betalactamasas producers in patients with urinary tract infection**

Anya Ruth Argüez de Paz ¹, Anelys Rodríguez Chávez ², Nidia Rojas Hernández ³

Resumen:

Introducción: El incremento de la resistencia antimicrobiana en cepas de enterobacterias es un problema mundial, particularmente *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, debido al abuso de la antibioterapia, constituyendo un gran reto para la medicina y los avances tecnológicos.

Objetivo: Determinar la frecuencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en pacientes con infección del tracto urinario (ITU).

Método: Estudio descriptivo, observacional que abarcó el período de febrero 2011 hasta julio 2013. La muestra analizada la constituyeron 150 urocultivos positivos de pacientes atendidos en el servicio de Urología del hospital, a 73 de los cuales se les confirmó la presencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE.

Resultados: Se demostró que las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron los aislamientos encontrados en mayor porcentaje en pacientes con ITU remitidos de la consulta de Urología. Las enzimas BLEE y Acetiltransferasa AAC (6') resultaron las mayores responsables de la resistencia antimicrobiana en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* de los pacientes estudiados. El uso previo de antibióticos y la litiasis renal resultaron los factores de riesgo más comunes presentes en los aislamientos de las bacterias productoras de BLEE.

Conclusiones: La resistencia antimicrobiana es un fenómeno actual que requiere especial atención por los clínicos, infectólogos y microbiólogos para diagnosticar y tratar las infecciones por eso es necesario conocer que *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son las cepas con mayor frecuencia de BLEE en los pacientes con ITU remitidos de la consulta de Urología.

Palabras clave: Betalactamasas de espectro extendido; infección del tracto urinario; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*.

Abstract

Introduction: The increment of antimicrobial resistance in enterobacterium stumps is a worldwide problem, particularly *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, due to the antibiotic therapies abuse; becoming a great challenge for medicine and technological improvements.

Objective: To determine the extended spectrum betalactamasas (ESBL) frequency in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolations in patient with urinary tract infection (UTI).

Method: Descriptive and observational study that it included from February 2011 through July 2013 period. The sample was 150 positive urocultivos about patients assisted in the Hospital's Urology service; 73 of them were confirmed the presence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* BLEE producers.

Results: The studied showed that *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* stumps constituted the higher isolation percentage found in patients with UTI translated to the Urology service. ESBL and acetiltransferas (6') AAC' enzymes, were the bigger responsible for the *Escherichia coli* and the *Klebsiella pneumoniae* stumps antimicrobial resistance in the patients studied. The previous use of antibiotics and the renal lithiasis were the most common risk factors present in the ESBL producer's bacterium isolations.

Conclusions: Antimicrobial resistance is a nowadays problem that requires special attention by clinical physicians, microbiologists and other professionals in order to diagnose and treat the infections; that is why it is necessary to know that *Escherichia coli* and the *Klebsiella pneumoniae* are the most frequent ESBL producer's stumps in the patients remitted from the Urology service.

Key words: extended spectrum betalactamasas; urinary tract infection; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*.

¹ Licenciada Especialista A en Tecnología de la salud perfil Microbiología, Profesora Asistente.

² Médico Especialista de 1er Grado MGI. Médico Especialista de 1er Grado en Microbiología, Máster en Bacteriología - Micología, Profesora Asistente.

³ Licenciada en Microbiología, Máster en Ciencias, Dra. Ciencias Biológicas. Investigadora Titular, Profesora auxiliar y consultante de la Universidad de la Habana.

Correspondencia: anyarguez@infomed.sld.cu

Introducción

La infección del tracto urinario (ITU), es un problema común en la práctica médica diaria; se considera que los patógenos más importantes como agente etiológico de estas infecciones son causadas por bacilos aerobios gramnegativos que constituyen parte de la microbiota normal del intestino.¹ La especie bacteriana más frecuente es *Escherichia coli* la cual representa 80% o más de estas infecciones, seguido de *Klebsiella pneumoniae* con 9%.²

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), son enzimas producidas por los bacilos gramnegativos, fundamentalmente enterobacterias como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Esta resistencia a los antibióticos representa hoy día un

problema: los antibióticos son cada vez menos eficaces debido a la extensión de la resistencia en los hospitales dificultando el tratamiento de las infecciones bacterianas.³ La aparición de enterobacterias productoras de BLEE es un problema creciente que dificulta el tratamiento de las infecciones bacterianas.⁴

La realización de estudios de sensibilidad por parte de los laboratorios de microbiología clínica es una de sus tareas más importantes, puesto que los resultados y la interpretación obtenidos del antibiograma determinarán el tratamiento antimicrobiano más adecuado. No todos los laboratorios de microbiología cuentan con sistemas automatizados capaces de detectar e informar los fenotipos de resistencia antimicrobiana más frecuentes en las BLEE.

La realización de este trabajo, se debe principalmente a la necesidad de detectar el fenotipo de las bacterias productoras de BLEE, lo que resulta importante para dar información al médico de asistencia y lograr un tratamiento correcto, seguro y rápido.

Objetivos

Determinar la frecuencia de BLEE en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en pacientes con infección del tracto urinario, determinando la susceptibilidad y fenotipos de resistencia en cepas de *E.coli* y *K. pneumoniae* aisladas por el sistema automatizado VITEK 2 Compact, identificando la presencia de algunos factores de riesgo en los pacientes con infecciones del tracto urinario.

Métodos

Se realizó un estudio descriptivo observacional en el Hospital General Docente "Iván Portuondo" de San Antonio de los Baños con pacientes remitidos de la consulta de Urología, en el período comprendido desde febrero del 2011 hasta julio del 2013.

El universo de estudio estuvo constituido por 2930 muestras de orina para urocultivos de pacientes atendidos en el servicio de Urología del hospital, y la muestra quedó conformada por 150 de estos urocultivos que fueron positivos, a 73 de los cuales se les confirmó la presencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE.

La metodología empleada para la toma de muestra es la orientación previa a los pacientes y tanto esta, como el procedimiento microscópico, fueron los descritos en la Norma de Microbiología Nacional.⁵

Urocultivos: Se recogió la primera orina de la mañana de modo aséptico (previo lavado detallado y exhaustivo de los genitales) con la orientación adecuada del paciente, la segunda porción de la orina se trasladó en frasco estéril al laboratorio de microbiología del hospital.

Procedimiento: Después de homogeneizar la orina, se transfirió 0,01 mL (10µL) a una superficie de 1 cm² marcada en la lámina porta-objeto. Después que el frotis se seca, se fija con calor y se colorea por Gram para llevar a cabo el examen bacterioscópico.

La lectura de los frotis se llevó a cabo con la observación de 10 campos microscópicos (objetivo de 100x y ocular de 10x) imprimiendo movimientos en zigzag, iniciando por el lado superior izquierdo o el inferior derecho de la superficie de 1 cm². El cálculo del número de bacterias por mL se realiza por medio de la fórmula matemática según la técnica de Prescott y Breed.

No. de bacterias contadas

No. de bacterias x mL = FM X ----- X 100

No. de campos examinados

Donde: FM (Factor microscópico) = 400 (número de campos microscópicos en 1 cm² utilizando el objetivo de 100x y el ocular 10x.⁶

Urocultivo cuantitativo.⁶⁻⁷

Procedimiento: con pipeta Eppendorf con puntas estériles, inocularon 5 µL (0,005 mL) de orina sobre la superficie de una placa con medio CLED, y de otra con Agar Mac Conkey, extendiéndose con una espátula de Drigalsky previamente embebida en alcohol y flameada.

Las placas se incubaron a 37°C durante 18-24 horas. Posteriormente se realizó una lectura. Al crecimiento obtenido se le realiza la coloración de Gram para corroborar la presencia de bacterias gramnegativas.

A todas las colonias aisladas se les realizó la coloración de Gram y se llevaron al sistema automatizado VITEK 2 COMPACT, para su correcta identificación en tarjetas específicas de microorganismos Gram negativos.

Todas aquellas cepas *E. coli* y *K. pneumoniae* identificadas se les realizó la prueba de susceptibilidad por el método automatizado VITEK 2 COMPACT (BioMeriux, Francia). Este método permitió corroborar los resultados de las pruebas bioquímicas convencionales y determinar la susceptibilidad por el método de Bauer-Kirby, así como determinar los fenotipos enzimáticos de resistencia antimicrobiana. Paralelamente se usaron como cepas controles *E. coli* ATCC 25922 (control negativo) y *K. pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo).⁸

La tarjeta utilizada fue la AST-N058 (BioMeriux)⁸ que contenía los siguientes antimicrobianos: Betalactámicos: ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico (AUG), ampicilina-sulbactam (AMS), cefalotina (CEF), cefuroxima (CFX), cefoxitina (FOX), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepime (FEP). Aminoglucósidos: amikacina, gentamicina y tobramicina. Quinolonas: ciprofloxacina, norfloxacina. Sulfas: trimetropin-sulfametoxazol. Furanos: nitrofurantoína.

Solo se interpretaron los resultados de los antibióticos betalactámicos.

Para garantizar la obtención de buenos resultados se ejecutaron una serie de pasos previos:

1. Se verificaron las baterías del densitómetro Desicheck y se descontaminó la superficie del mismo.
2. Se calibró el dispositivo con el estándar de calibración.
3. Se comprobó para el dispensador un volumen de 3 ml.
4. Se seleccionaron las tarjetas de identificación para Gram negativos y las de susceptibilidad AST-N058 las cuales se atemperaron antes de su uso.
5. Se seleccionan los cultivos de 18 a 24 horas de incubación con colonias bien separadas y formadas.

Se realizó un análisis de las microhistorias de los pacientes con ITU con la finalidad de obtener información sobre un grupo de factores de riesgo, tales como:

Uso previo de antibióticos: Se definió para aquellos pacientes con ITU que habían recibido tratamiento en el área de salud ante su valoración en la consulta de Urología.

Pacientes con recidivas de ITU: Cuando se le aisló la misma cepa en más de una ocasión a un paciente con ITU en el período de un año.

Antecedentes de cirugía del sistema genitourinario: Pacientes operados de litiasis

renal por mínimo acceso, paciente con sonda vesical y anomalías congénitas del sistema genitourinario.

Litiasis renal: Se consideraron a aquellos pacientes con un mecanismo obstructivo en las infecciones del sistema renal relacionado con la presencia de litiasis por ultrasonografía u otro estudio imagenológico.⁹

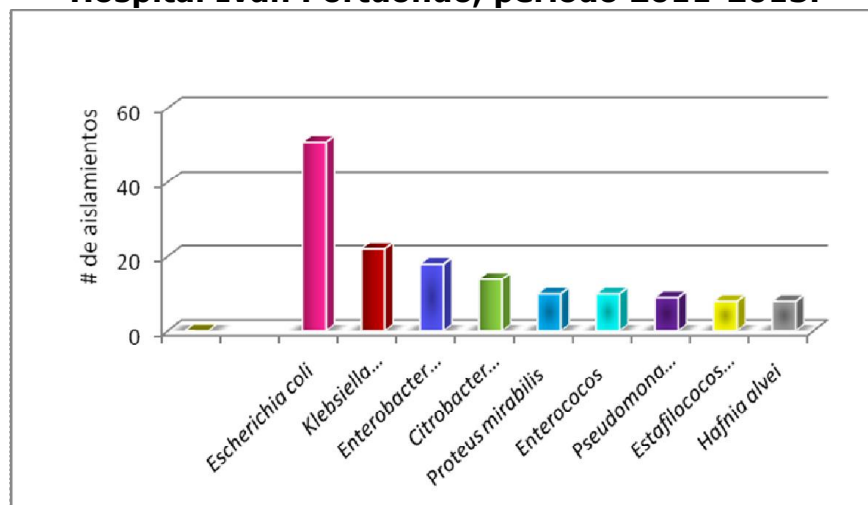
Resultados y discusión

La detección de bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido es de especial importancia en los pacientes hospitalizados, sobre todo para gérmenes Gram negativos, por las altas tasas de resistencia bacteriana encontradas en este grupo de bacteria.¹⁰

La utilización de cefalosporinas de tercera generación ejerce una presión importante en las bacterias Gram negativas, lo que ha generado un problema en Latinoamérica, ya que 50 % de las infecciones hospitalarias son tratadas con antibióticos betalactámicos y cerca del 70% de las infecciones extra hospitalarios de los pacientes son tratadas con cefalosporinas, lo cual sugiere la existencia de una fuerte presión selectiva en esta zona de América.

Durante el período de estudio se realizaron 2930 muestras de orina para urocultivos, 2780 de estos cultivos resultaron negativos, contaminados y constituyeron la muestra del estudio un total de 150 urocultivos positivos de pacientes remitidos del servicio de Urología a nuestro laboratorio. Se aisló (8/150; 5,3 %) bacterias Gram positivas y (142/150; 94,6 %) bacterias Gram negativas. Dentro de las bacterias Gram negativas aisladas, *E. coli* (51/150; 34%) y *K. pneumoniae* (22/150; 14,6%) fueron los patógenos portadores de betalactamasas más comunes en las muestras de urocultivos recibidos en nuestro laboratorio.

Gráfico 1. Aislamientos de microorganismos en muestras de urocultivo. Hospital Iván Portuondo, período 2011-2013.



Fuente: Libro estadístico, laboratorio de microbiología.

En el gráfico 1 se muestran los aislamientos de gérmenes más frecuentes en las muestras de urocultivos recibidas en el Hospital "Iván Portuondo" en el período de estudio (2011-2013). La especie *E. coli* se presenta con un total de 51 aislamientos,

seguida de *K. pneumoniae* con 22 aislamientos, *Enterobacter cloacae* 18, *Citrobacter freundii* 14, *Proteus mirabilis* 10, *Enterococos spp* 10, *Pseudomonas spp* 9, *Estafilococos coagulasa negativa* 8, y *Hafnia alvei* 8 aislamientos.

Las infecciones del tracto urinario, se encuentran entre los motivos de consulta externa de Urología más frecuentes en nuestro medio hospitalario. Se considera que *E. coli* y *K. pneumoniae* son las especies patógenas más importantes como agentes etiológicos de estas afecciones. La mayor parte de las infecciones urinarias no complicadas se deben a *Escherichia coli*, (alrededor del 80 %) y *Klebsiella pneumoniae*.¹¹

Estas especies son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia a determinados grupos de antimicrobianos, lo cual hace compleja la aplicación de una terapéutica adecuada frente a las ITU, debido a la facilidad para captar, transmitir y expresar diferentes genes. Las cepas de estas especies son importantes reservorios de resistencia a antimicrobianos, tanto en el hospital como en la comunidad.¹²

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente con implicaciones sociales y económicas enormes, dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas.¹³

La incidencia de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* en las muestras de urocultivo de pacientes con ITU es mayor con respecto a los demás aislamientos, esto sugiere restringir el uso de betalactámicos de amplio espectro e implementar medidas rigurosas de higiene para el control de las infecciones y la prevención y diseminación de microorganismos productores de betalactamasas.

Es frecuente enfrentarse a un patrón de multirresistencia asociado a la producción de BLEE en enterobacterias, lo cual facilita la detección de estos microorganismos, pero limita enormemente las opciones terapéuticas, porque ellas son capaces de inactivar, además de las penicilinas, a las cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación.

No obstante, para el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas producidas por *E. coli* productoras de BLEE, es posible recurrir al uso de antibióticos, casi ya olvidados, pero que presentan todavía una buena actividad y para los cuales no se encuentran habitualmente resistencias cruzadas en cepas con BLEE como son la fosfomicina y la nitrofurantoína.⁴

En Cuba, existen estudios de resistencia antimicrobiana, principalmente a betalactámicos, demostrándose cifras elevadas de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, realizados en el Hospital "Hermanos Ameijeiras", Hospital General Dr. Antonio Luaces Iraola de Ciego de Ávila, y en el Instituto "Pedro Kourí".^{14,15}

En la tabla 1 se muestran 73 aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae*, 51 muestras corresponden a *E. coli* con un 69,8% de aislamientos de los cuales se obtuvo un 78,4% de estas cepas productoras de BLEE y 21,5% de cepas no productoras de BLEE.

Se obtuvieron 22 aislamientos de *K. pneumoniae* que representa el 30,1 % del total de los aislamientos, 77,2 % de cepas productoras de BLEE y 22,7% no productoras de BLEE.

Tabla 1. Distribución de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE aisladas de urocultivo. Hospital Iván Portuondo, período 2011-2013.

Muestras de urocultivos	<i>E.coli</i>	%	<i>K.pneumoniae</i>	%
Aislamiento de BLEE	40	78.4	17	77.2
No aislamiento de BLEE	11	21.5	5	22.7
TOTAL	51	69.8	22	30.1

Fuente: Libro estadístico, laboratorio de microbiología.

Las cepas productoras de BLEE constituyen un problema de salud pública, con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica, que alcanzan tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil. La producción de BLEE en estos países mostró importantes variaciones de un país a otro, con rangos entre 5% y 73%. En Colombia, la prevalencia de cepas productoras de BLEE, según algunas investigaciones o reportes,¹⁶ se encuentra por encima del 40%. En el estudio realizado por Méndez se informó un 27% de productoras de BLEE para *E. coli* y 44% para *K. pneumoniae*.

Nuestro hospital cuenta con métodos automatizados como el Vitek 2 Compact, equipo utilizado para la identificación y determinación de la susceptibilidad microbiana con un sistema de expertos que permite identificar algunos de los mecanismos de resistencia según la interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las bacterias frente a los diferentes antibióticos. Esta metodología le facilita al médico de asistencia la aplicación de un tratamiento antimicrobiano racional con criterios óptimos de selección, dosis y duración que garanticen una mejor evolución clínica con el mínimo de toxicidad para el paciente y por consiguiente un menor impacto para la resistencia a los antimicrobianos.¹⁷

Las cepas que producen BLEE son en su mayoría enterobacterias y en particular las especies *K. pneumoniae* y *E. coli*, son resistentes a todos los antibióticos betalactámicos, con la excepción de los carbapenémicos, las cefamicinas y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasa.¹⁸

La tabla 2 muestra los aislamientos realizados mediante este sistema automatizado, lo que permitió conocer la identificación y susceptibilidad antimicrobiana, donde se obtuvo un 100% de correspondencia y un 99% de coincidencia con la excelente identificación. Estos resultados fueron similares a estudios realizados por Suárez y col.,¹⁷ en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" de la Habana y con otro estudio realizado por Pfaller y Segret en 2006 y por Treviño y col. en 2009¹⁹⁻²⁰ donde la sensibilidad obtenida fue de un 93,4% y un 99,5 % respectivamente demostrándose la alta confiabilidad del método.

En las ITU, los antibióticos betalactámicos son los más utilizados, seguidos por los aminoglucósidos y las quinolonas.

En la presente investigación se obtuvo una elevada resistencia a diferentes grupos de antibióticos, tanto en los aislamientos de *E. coli*, como en las cepas de *K. pneumoniae*.

Tabla 2. Resistencia antimicrobiana encontrada en las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas (n = 73). Hospital Iván Portuondo, período 2011-2013.

Resistencia antimicrobiana	E. coli		K. pneumoniae	
	n=(51)		n=(22)	
Grupos de antibióticos	No	%	No	%
Ampicilina	41	80,3	21	94,5
Ampicilina/Sulbactam	26	50,9	13	25,4
Cefazolina	15	29,4	12	54,5
Cefoxitina	3	11,7	7	31,8
Cefotaxima	15	29,4	9	40,9
Ceftazidima	21	41,1	13	13,6
Ceftriaxona	7	13,7	12	54,5
Cefepime	22	43,1	14	63,6
Imipenem	0	0	1	4,5
Meropenem	0	0	1	4,5
Amikacina	3	5,8	5	22,7
Gentamicina	28	55	13	25,4
Tobramicina	20	39,2	11	50
Ácido Nalidíxico	24	47	11	50
Nitrofurantoína	3	5,8	6	27,2
Colistina	0	0	0	0
Trimetoprima/Sulfametoxazol	20	39,2	10	45,4
Ciprofloxacina	31	60,7	6	27,2
Aztreonam	5	9,8	4	18,1

Fuente: Libro estadístico, laboratorio de microbiología.

El conjunto de datos de sensibilidad (fenotipo), permite poner en evidencia la presencia de un mecanismo genético y bioquímico de resistencia,²¹ estos resultados indican la presencia de enzima BLEE.

La resistencia a antibióticos betalactámicos, se puede producir por varios mecanismos, pero el más importante por su frecuencia y eficacia es la producción de enzimas betalactamasas.²²

En la tabla 3 se reflejan los fenotipos enzimáticos implicados en los mecanismos de resistencia a betalactámicos de las cepas aisladas en *E. Coli* y *K.Pneumoniae* donde se observa que las BLEE aparecieron en el 40,3% de todos los aislamientos siendo mayor en *E. coli* con 19 cepas; 8,7% de las cepas presentaron mecanismos de penicilinasas adquirida más producción de cefalosporinasa, con un 12,5 %, en los aislamientos de *E. coli* no encontrando este mecanismo en *K. pneumoniae*. El mecanismo de resistencia Amp C estuvo presente en un 10,5 % de los aislamientos; 1,7 % de cepas con carbapenemasas más impermeabilidad; 8,7 % de IRT u OXA más Amp C más CTX-M, solo para cepas de *E. coli*. El mecanismo de resistencia con mayor porcentaje es el AAC (6') con un total de 57,8 %. En una cepa aislada de *K. pneumoniae* se encontró un mecanismo de carbapenemasa más metalo (KpC), lo

que representa el 1,7% del total de cepas analizadas. En Cuba se han realizado varios informes sobre aislamientos de cepas productoras de carbapenemasas, lo que significa una llamada de alerta para su vigilancia.^{23,24}

Tabla 3. Fenotipos enzimáticos de resistencia a betalactámicos en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae*. Hospital Iván Portuondo, período 2011-2013.

Mecanismos de resistencia enzimáticos	<i>E. coli</i> (n=40)		<i>K. pneumoniae</i> (n=17)		Total (n=57)	
	No	%	No	%	No	%
BLEE	19	47,5	4	23,5	23	40,3
Penicilinasa adquirida+Cefalosporinasa	5	12,5	–	–	5	8,7
Amp C	5	12,5	1	5,8	6	10,5
Carbapenemasa + Impermeabilidad	1	2,5	–	–	1	1,7
IRT u OXA + Amp C + CTX -M	5	12,5	–	–	5	8,7
AAC (6')	24	60	9	52,9	33	57,8
BLEE + Impermeabilidad a las cefamicinas	–	–	2	11,7	2	3,5
Carbapenemasa + Metalo–KPC	–	–	1	5,8	1	1,7

Fuente: Vitek 2 Compact, Libro estadístico, laboratorio de microbiología.

Leyenda: AAC (6') = Aminoglicósido acetiltransferasa

AmpC= Betalactamasa cromosómica del grupo C.

OXA= Oxacilinasas.

KpC= *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas

IRT= Resistente a inhibidores

CTX-M= Cefotaximasas

Los antibióticos carbapenémicos han sido la principal terapéutica frente a las infecciones graves por microorganismos gramnegativos multirresistentes, la aparición e incremento de las carbapenemasas pone en peligro la efectividad de esta familia de antibióticos. Según el informe global y el reporte de SENTRY, las tasas de Latinoamérica son más elevadas que las de Estados Unidos y Europa.²⁵

Una alarma epidemiológica provocó, en 2008, el aislamiento de una nueva metalo-betalactamasa que le nombraron Nueva Delhi metalo-betalactamasa (NDM-1), debido a que se aisló en Suecia e Inglaterra en pacientes provenientes de la India y Pakistán. En un estudio buscando la presencia de dicha enzima realizado en 29 países europeos entre los años 2008 y 2010 se hallaron 77 casos en 13 de los países estudiados, con predominio de los aislamientos de *K. pneumoniae*. Posteriormente se informaron aislamientos de NDM-1 en Japón, Australia, Canadá y los Estados Unidos de América. El 22 de noviembre de 2011 se aisló por primera vez en Latinoamérica, en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* la NDM-1. El reporte ocurrió en Guatemala; por tal motivo la Organización Panamericana de la Salud (OPS) emitió una alerta en las Américas incluyendo a Cuba, para la vigilancia y detección de estas cepas que aumentan la morbilidad y la mortalidad por infecciones asociadas a los cuidados sanitarios.

En Cuba existen pocos trabajos realizados con la finalidad de determinar los mecanismos de resistencia enzimáticos utilizando el sistema automatizado Vitek 2 Compact. En 2010 Suárez y col.,¹⁴ en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" realizaron

una investigación de cepas MDR (multi-drogorresistentes) aisladas de pacientes ingresados de cuidados intensivos, donde describen mecanismos de resistencia antimicrobiana similares a los encontrados en el presente trabajo, lo cual indica que este tipo de cepas posee importancia clínica en nuestro medio.

La detección de BLEE se emplea como marcadores clínicos importantes que deben conducir a la toma de decisiones para prevenir y disminuir los elevados índices de morbi-mortalidad que las bacterias productoras de estas enzimas pueden ocasionar en pacientes con ITU.^{26,27}

En el presente trabajo se encontró un elevado porcentaje de mecanismos de resistencia enzimáticos por AAC (6') con 57,8%, en 24 cepas aisladas de *E. coli* y 9 aislamientos de *K. pneumoniae*. Cifras similares se publicaron en un estudio realizado en Calgary (Canadá) con una alta incidencia de cepas de *E. coli* portadoras de AAC (6').^{28,29}

El mecanismo de resistencia enzimático Amp C estuvo presente en un 12,5% en los aislamientos de *E. coli* y 5,8% en *K. pneumoniae*. Las enzimas Amp C hidrolizan las cefalosporinas de primera (cefalotina) y segunda generación (cefuroxima), incluidas las cefamicinas (cefotitina y cefotetán) y en menor medida, las de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), mientras que generalmente son muy poco eficaces para hidrolizar las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima y cefpiroma) y los carbapenémicos (imipenem y meropenem).²⁹

A pesar de que existen diferentes mecanismos de resistencia, los aminoglucósidos continúan siendo antimicrobianos de uso habitual y eficaz en la práctica clínica por su actividad frente a gran parte de los bacilos gramnegativos aerobios.

Este espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (Amp C de espectro extendido), pero se desconoce cuál es la prevalencia y la relevancia clínica y epidemiológica de estas variantes de Amp C. La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenilborónico), inhiben a las betalactamasas de tipo Amp C, mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores.³⁰ No es sorprendente que las cepas bacterianas presenten resistencia a antibióticos betalactámicos de amplio espectro debido a la presencia de enzimas betalactamasas que emergen a gran velocidad. En los últimos 20 años, se han desarrollado nuevos antibióticos betalactámicos, diseñados específicamente para ser resistentes a la acción hidrolítica de las betalactamasas. Sin embargo, con cada nueva clase de antibiótico que se usa para tratar a los pacientes, emergen nuevas betalactamasas que causan cepas resistentes.³¹

Las ITU constituyen un problema común en la práctica médica diaria en nuestro país, pues estas infecciones producen diferentes síndromes con un comportamiento clínico, terapéutico y pronóstico que tiene variadas características, en dependencia de los diferentes factores de riesgo relacionados con la misma.³²

Como se observa en la tabla 4, este trabajo determinó que en los pacientes que presentaron ITU por *E. coli* productoras de BLEE el 40% tenían antecedentes de uso previo de antibiótico, lo cual es un factor de riesgo mayoritario. También se evidenció que el 22,5% de los pacientes con estas cepas tuvieron recidivas, 12,5% tenían antecedentes de cirugía relacionadas a las ITU y antecedentes de litiasis renal el 25%. En *K. pneumoniae* productoras de BLEE el 35,2% de los pacientes habían tenido uso previo de antibióticos, el 17,6% eran casos con recidivas de ITU y 23,5% presentaron antecedentes de cirugía y litiasis renal relacionada con las ITU.

Tabla 4. Factores de riesgo presentes en pacientes con ITU por aislamiento de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE. Hospital Iván Portuondo, 2011-2013.

Factores de riesgo	<i>E. coli</i> (n=40)	<i>K. pneumoniae</i> (n=17)
Uso previo de antibiótico	40,0 %	35,2 %
ITU con recidivas	22,5 %	17,6 %
Antecedentes de cirugía*	12,5 %	23,5 %
Litiasis Renal	25,0 %	23,5 %

Fuente: Microhistorias clínicas. *Catéter, operados o cirugía.

En las consultas de Urología, son muy frecuentes los pacientes con ITU que presentan litiasis renal por ser este un mecanismo obstructivo en estos pacientes, lo cual pudiera estar relacionado con las aguas de consumo que contienen muchas sales o que habitualmente consumen una dieta con niveles elevados de sal, los cuales son factores que favorecen la aparición de estas enfermedades.⁹

El laboratorio de microbiología juega un papel fundamental a la hora de brindar un diagnóstico etiológico, además ayuda y orienta en la terapéutica con los estudios de los patrones de resistencia de las cepas aisladas. Los sistemas automatizados ofrecen múltiples ventajas para el diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas. VITEK 2 Compact ha provocado un impacto positivo, que se traduce en una disminución significativa del tiempo de emisión de los resultados para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La rapidez en el diagnóstico y tratamiento reduce no sólo la morbi-mortalidad, sino también la propagación de la infección, permite predecir los diversos fenotipos enzimáticos de resistencia en gran parte de las bacterias de interés clínico, en aproximadamente 12 horas, contiene además, un sistema avanzado de experto (AES, siglas en inglés), compuesto por una amplia base de datos, que contiene información acerca de unos 2000 fenotipos y unas 20000 distribuciones de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para diferentes combinaciones de antibióticos y microorganismos, que posibilita detectar, interpretar y corregir adecuadamente los mecanismos de resistencia. Esto provee beneficios para la elección de la terapéutica y el análisis epidemiológico.

La resistencia de las bacterias a los antibacterianos es un fenómeno mundial que ha progresado día a día. El mal uso o abuso de los antibióticos aumenta la aparición de cepas resistentes y obliga a realizar nuevos estudios. Esta investigación podría servir de referencia para ayudar a la toma de decisiones racionales sobre el uso de los antimicrobianos en la práctica diaria, basado en un mejor conocimiento de la realidad microbiológica local.

Conclusiones

Las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron los aislamientos encontrados en mayor porcentaje en pacientes con ITU remitidos de la consulta de Urología. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana y la presencia de fenotipos involucrados en el fenómeno de la resistencia por el método cuantitativo automatizado Vitek 2 Compact. Se analizaron los factores de riesgo presentes en las

ITU donde el uso previo de antibióticos y la existencia de litiasis renal resultaron los factores de riesgo más comunes presentes en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE. Estas fueron las enzimas más frecuentes frente a betalactámicos y acetiltransferasas AAC (6') frente a aminoglucósidos. Estos resultados reafirman que la resistencia antimicrobiana es un fenómeno actual que requiere especial atención por los clínicos, infectólogos y microbiólogos para diagnosticar y tratar las infecciones.

Referencias bibliográficas

1. Livermore D. M., It's the era of untreatable infections arrived? J. Antimicrob. Chemotherapy. 64, i29-i36 (2009).
2. Roca GR. y col., Temas de Medicina Interna La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 4 ed.121-125(2007).
3. Wright G. D., The antibiotic resists me: the nexus of chemical and genetic diversity. Nature Rev. Microbiol. 5,175-186 (2007) y Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. J Hosp Infect. 2009;73: 345-54.
4. Kaier K, Frank U, Conrad A, Meyer E. Seasonal and ascending trends in the incidence of carriage of extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in 2 German hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010;31: 1154-9.
5. Procedimientos Técnicos de Microbiología Clínica. 2004.
6. Vandepitte J., 1993: Métodos Básicos de Laboratorio en Bacteriología Clínica. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. Suiza.
7. Famiglietti A, Quinteros M, Vauze M. Consenso sobre las pruebas de Microbiol.2005; 37(1):57-66.
8. BioMérieux.com [página web en Internet]. Argentina; c 1996-2012 [actualizado 4 de abril del 2012; citado 5 de mayo del 2012]. Disponible en: <http://www.biomerieux.com.ar/>
9. Remedios H. M., Cheping S. N., Temas de Urología. Editorial Ciencias Médicas, 2008.
10. Silva J. Resistencia a antibióticos .Rev. Latinoamericana de Microb. 2006; 48:105-112.
11. Willems E, Verhaegen J, Magerman K, Nys S, Cartuyvels R. Towards a phenotypic screening strategy for emerging β -lactamases in Gram-negative bacilli. Int J Antimicrobial Agents. 2013; 41:99-109.
12. Li XM, Jang SJ, Bae IK, Park G, Kim YS, Shin JH, et-al. [Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC beta-lactamase genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over a three-year period in a University Hospital in Korea]. Korean J Lab Med. 2010;30: 616-23.
13. Schoevaerdt D, Bogaerts P, Grimmelprez A, Saint Hubert M, Delaere B, Jamart J. Clinical profiles of patients colonized or infected with extended spectrum betalactamase producing Enterobacteriaceae isolates: a 20 month retrospective study at a Belgian University Hospital. BMC Infect Dis. 2011;11: 12.
14. Suárez Trueba Betsy, Hart Casares Marcia, Ramírez Margarita, Salazar Rodríguez Daniel. Detección de fenotipos de resistencia en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* multidrogoresistentes. Hospital

- Clínico quirúrgico "Hermanos Ameijeiras". 2010.
15. Espinosa F, Hart C M, Halley M, Martínez M, Pardo AV. Resistencia bacteriana de cepas aisladas en el Hospital "Hermanos Ameijeiras". Rev. Cubana med v.47n.4 Ciudad de la Habana oct-dic. 2010; 10: 597-602.
 16. Villegas M, Correa A, Pérez F, Miranda M, Zuloaga T, Quinn J. Colombiano Nosocomial Resistance Study Group. Prevalence and characterization of extended-spectrum betalactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 49:217-22.
 17. Vergidis PI, Falagas ME. Multidrug-resistant gramnegative bacterial infections: The emerging threat and potential novel treatment options. Curropin Invest Drugs. 2008; 9:176-83.
 18. Rodríguez Villalobos H, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, Deplano A, Montesinos I. Trends in production of extended spectrum beta lactamases among Enterobacteriaceae of clinical interest: results of a nationwide survey in Belgian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2011;66: 37-47.
 19. Pfaller Ma, Segret J Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended spectrum betalactamases. CID. 2006; 42:153-63.
 20. Treviño M, Martínez L, Romero -Jung P, Varón C, Molde L, García-Riestra C. Comparación entre las pruebas para la detección de betalactamasas de espectro extendido de los sistemas Vitek 2 y Phoenix. Enfer Infecc Microbiol Clin. 2009; 27:566-70.
 21. Taneja J, Mishra B, Thakur A, Dogra V, Loomba P. Nosocomial blood-stream infections from extended spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from GB Pant Hospital, New Delhi. J Infect Dev Ctries. 2010;4: 517-20.
 22. Coque TM., Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL producing Enterobacteriaceae in Europe. Euro Surveill. 2008.
 23. Hart Casares Marcia, Espinosa Rivera Fidel, Halley Posada María del Carmen, Martínez Batista María Luisa, Montes de Oca Méndez Zurelys. Resistencia a antibióticos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de enero a marzo del 2010 en el Hospital Clínico quirúrgico "Hermanos Ameijeiras". Rev. cubana med 2012; 49(3):218-227.
 24. Pedro W, Ramos A, Nodarse R, Padrón A, De armas E. Resistencia bacteriana en las bacterias productoras de betalactamasas extendidas (BLEE). Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias 2006; 5(1):294-301.
 25. Suárez CJ, Kattan JN, Guzmán AM, Villegas MV. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y Enterobacteriaceae y estrategias para su prevención y control. Infect. 2006; 10(2):85-93.
 26. Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. En: Cantón R, Cercenado E, editores. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2. a ed. (38) 2011. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiología/>
 27. Pitout JD. Infections with extended spectrum betalactamase producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. Drugs. 2010;70: 313-33.

28. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29:524-34.
29. Pitout JD, Gregson D, Campbell L, Laupland K. Molecular Characteristics of extended spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* isolates causing bacteremia in the Calgary health region from 2000 to 2007. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009; 53(7):2846-5.
30. Jacoby GA. Amp C betalactamasas. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22:161-82.
31. González Vélez, Abel Ernesto; Díaz Agero Pérez, Cristina; Robustillo-Rodela, Ana; Pita López, María José; Cornejo Gutiérrez, Ana María; Pedrero Pérez, Pelayo; Monge Jodra, Vicente; Publicado en *Med Clin (Barc)*. Tendencia de la prevalencia de bacilos gramnegativos productores de betalactamasas de espectro extendido en un hospital universitario de Madrid. 2013; 141:8-12.
32. Velasco AM, Barrena PR, Asenjo MA, Valverde Cánovas JF, Delgado-Iribarren A, Losa García JE. Risk factors for extended spectrum beta-lactamase producer *E.coli* bacteremia from urinary origin. *Med Clin (Barc)*. 2010;134: 392.

Recibido: 12 de marzo de 2015

Aprobado: 02 de septiembre de 2015

Anya Ruth Argüez de Paz. Hospital General Docente Iván Portuondo. San Antonio de los Baños. Artemisa. Cuba. Dirección electrónica: anyarguez@infomed.sld.cu

Los autores no declaran conflicto de interés. Todos participaron de manera equitativa en la confección del manuscrito y desarrollo de la investigación.
