

Trabajo completo

Prevalencia y factores epidemiológicos de infecciones del tracto urinario causadas por *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de espectro extendido en el Sanatorio Adventista del Plata

RECIBIDO: 01/06/2017

REVISION: 28/07/2017

ACEPTADO: 25/08/2017

Martinez, M.V. • Canteros, M. • Posse, G.R.

Laboratorio de microbiología Sanatorio Adventista del Plata - 25 de mayo 255 - Libertador General San Martín - Entre Ríos – Argentina – CP: 3103 – Tel.: (0343) 4200265
laboratoriomartinez@yahoo.com.ar

RESUMEN: La hidrólisis de antibióticos β -lactámicos por β -lactamasas es uno de los mecanismos de resistencia mas frecuentemente encontrados en enterobacterias. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de aislamientos de cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) aisladas de muestras de urocultivos. Se estudiaron 1.167 urocultivos que ingresaron en el laboratorio durante cuatro meses, de los cuales 280 fueron positivos. Se aislaron 192 cepas de *Escherichia coli* y 17 cepas fueron productoras de BLEE, obteniendo una prevalencia del 8,9%. Se analizaron por biología molecular y todas fueron tipo CTX-M grupos 1,2 y 9. El 75,7% de los urocultivos positivos correspondieron a mujeres ($X^2=32,633$; $p=0,000$) y el 84,3% correspondieron a infecciones de la comunidad ($X^2=5,674$; $p=0,225$). La mayoría de los aislamientos fueron

resistentes a ciprofloxacina (94%) y trimetoprima/sulfametoxazol (82%). Aunque están muy discutidas las medidas de control de diseminación de *E.coli* productora de BLEE, no se puede negar la necesidad de implementar un uso correcto y responsable de los antibióticos para evitar la expansión de cepas resistentes.

PALABRAS CLAVES: *Escherichia coli*, urocultivos, β -lactamasa de espectro extendido

SUMMARY: *Prevalence and epidemiologic factors of urinary tract infections caused by Escherichia coli producer of extended spectrum β -lactamase at Sanatorio Adventista del Plata.*

The hydrolysis of β -lactam antibiotics by β -lactamase is one of the endurance mechanisms most frequently found in *Enterobacteriaceae*. The purpose of this

research was to determine the prevalence of the isolation of *Escherichia coli* which produced extended spectrum β -lactamase (ESBL), isolated from urine samples. A total of 1167 urine cultures that entered the laboratory in a period of four months were studied and 280 were positive. 192 strains of *Escherichia coli* were isolated and 17 strains were producers of ESBL, getting a prevalence of 8,9%. They were analysed by molecular biology and all of them were type CTX-M groups 1, 2 and 9. 75,7% of the positive urine cultures concerned

women ($X^2=32,633$; $p=0,000$) and 84,3% corresponded to non-hospitalized infections ($X^2=5,674$; $p=0,225$). Most of the isolations were resistant to ciprofloxacin (86,7%) and trimethoprim/sulphamethoxazole (80%). Although the measures of control for the dissemination of *E. coli* with ESBL are highly discussed, the necessity of implementing the correct and responsible use of antibiotics in order to avoid the expansion of the bacteria cannot be denied.

KEYWORDS: *Escherichia coli*, urine culture, extended spectrum β -lactamase.

Introducción

Los antibióticos están presentes en la naturaleza como productos metabólicos de algunos microorganismos, de manera que la resistencia a los mismos puede surgir como un fenómeno natural. La resistencia bacteriana puede definirse como la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de un antimicrobiano a dosis terapéuticas (1).

En los últimos años se observó la aparición, cada vez más frecuente, de bacterias y singularmente de *E. coli* productoras de BLEE (2).

Las BLEE son una familia de enzimas producidas por bacilos gramnegativos, que en su mayoría derivan de las β -lactamasas clásicas TEM y SHV a partir de una serie de mutaciones puntuales que afectan a su centro activo. En los últimos años se ha producido gran incremento en la aparición de familias de BLEE de un linaje que no es TEM, no SHV, no OXA; por ejemplo, las familias CTX-M, muy importantes en Sudamérica (3).

Se han descrito fundamentalmente en cepas de *E. coli*, *Klebsiella* spp y *Enterobac-*

ter spp, aunque también en microorganismos no fermentadores (4).

Son capaces de inactivar, además de a las penicilinas y a las cefalosporinas de primera y segunda generación, a las oximino-cefalosporinas y al aztreonam. Y en un gran porcentaje de casos también se han observado resistencias tanto a los β -lactámicos asociados a inhibidores de β -lactamasas, como también a antibióticos no β -lactámicos como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol (5).

Estas β -lactamasas de espectro extendido que corresponden a la clasificación Grupo 2e de Karen Bush y Jacob 2009 o Clase A plasmídicas de Ambler son inhibibles por ácido clavulánico; esto y su perfil hidrolítico permiten su detección y confirmación fenotípica (6).

Este patrón de multiresistencia genera una dificultad terapéutica que se asocia en numerosos estudios con mayor mortalidad, duración de la estadía hospitalaria y costo económico. El problema epidemiológico de las BLEE es de gran magnitud. A diferencia de las β -lactamasas cromosómicas, la

resistencia de las β -lactamasas plasmídicas es transferible. El que se encuentren codificadas en plásmidos conjugativos, posibilita la diseminación de este mecanismo de resistencia no sólo entre distintas cepas de la misma especie sino también entre diferentes especies bacterianas. Además, las BLEE frecuentemente se incluyen en transposones o integrones, lo cual determina su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles, como los que conllevan resistencia a los aminoglucósidos o al cotrimoxazol (7).

Inicialmente la presencia de *E. coli* BLEE se asoció a brotes nosocomiales en grandes hospitales, principalmente en áreas de cuidados intensivos y quirúrgicas. Sin embargo, los últimos trabajos publicados centran su atención en los aislamientos en infecciones adquiridas en la comunidad, brotes en unidades de cuidados crónicos y asilos, así como en muestras de orina y heces de portadores sanos (5, 8-10).

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *E.coli* productoras de BLEE aisladas de muestras de urocultivos de pacientes ambulatorios e internados en el Sanatorio Adventista de Plata entre los meses de diciembre de 2016 y marzo de 2017, identificando el perfil de susceptibilidad y factores epidemiológicos asociados a los pacientes, además de realizar la tipificación molecular de las cepas aisladas.

Materiales y métodos

De todas las muestras de urocultivos procesadas en el laboratorio durante 4 meses se aislaron las cepas de *E.coli* productoras de BLEE. Se identificaron fenotípicamente según el protocolo de trabajo del laboratorio y se determinó la sensibilidad antibiótica por método de difusión con discos y la con-

firmación de BLEE mediante la observación de sinergia (técnica de aproximación de doble disco "efecto huevo") entre los halos de inhibición de los discos de cefotaxima y/o ceftazidima con amoxicilina/clavulánico en medio Müller-Hinton según procedimientos del *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)* (11,12).

La caracterización genotípica de las BLEE se llevó a cabo mediante ensayos de PCR empleando cebadores específicos. Se evaluó la presencia de genes codificantes de las cefotaximasas (CTX-M) de diferentes grupos y ceftazidimasa PER-2. Como molde se empleó el ADN total obtenido por la lisis del microorganismo por calentamiento (13,14).

Se analizaron los datos epidemiológicos de edad, sexo y procedencia con el software estadístico: *Statiscal Package for the Social Sciences 22.0 (SPSS)*.

Resultados

De un total de 1.167 urocultivos, 280 fueron positivos (24,0%); de estas muestras positivas, 192 aislamientos correspondieron a *E.coli* (68,6%) y de estos aislamientos, 17 cepas fueron productoras de BLEE (8,9%). Figura 1.

Se analizó la susceptibilidad antibiótica estudiada y los porcentajes de resistencia encontrados para los antibióticos más relevantes fueron: ciprofloxacina 94% (16 cepas), trimetoprima/sulfametoxazol 82% (14 cepas), gentamicina 57% (6 cepas) y nitrofurantoína 6% (1 cepa).

Analizando la edad de los pacientes, no fue estadísticamente significativa entre el grupo de personas con presencia de *E.coli* BLEE en la muestra de urocultivo y sin *E.coli* BLEE.

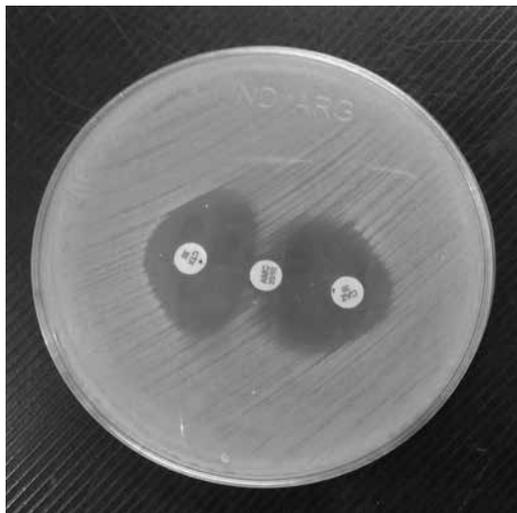


Figura 1. Ensayo de sinergia por aproximación de discos.

La edad media de los pacientes con urocultivos positivos fue de 61 años, oscilando entre 1 y 94 años de edad.

Agrupando la variable edad de 1-47 años y de 48-94 años, no se obtienen diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=0,745$; $p=0,388$).

Se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y la presencia de *E. coli* ($\chi^2=32,633$; $p=0,000$). Predomina el sexo femenino en las muestras de urocultivos con aislamientos de *E. coli* (75,7%), aunque no se observaron estas diferencias comparando los 17 aislamientos de *E. coli* BLEE (9 muestras de pacientes masculinos y 8 muestras de pacientes femeninos).

Analizando la procedencia de las muestras de urocultivos se observó un 76,5% de muestras provenientes de pacientes ambulatorios (13 muestras) y un 23,5% de muestras provenientes de pacientes internados (4 muestras), las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($\chi^2=5,674$; $p=0,225$).

La caracterización molecular de las cepas de *E. coli* BLEE dio un 47,1% de CTX-M de grupo 1, 5,9% de CTX-M de grupo 2 y 17,6% de CTX-M de grupo 9.

Discusión

Las infecciones urinarias causadas por *E. coli* productora de BLEE han sido muy descritas a nivel mundial, con estudios que demuestran una alta prevalencia en infecciones de origen hospitalario (15).

Últimamente se ha visto un gran número de reportes que demuestran la presencia de estos microorganismos en aislamientos provenientes de la comunidad (16,17).

Según datos del Whonet 2007 la frecuencia de *E. coli* BLEE en Argentina fue del 16%. En estudios en España del 2011 fue el 8,7%, en el CDC 2013 el 14%, en Francia en un estudio de *E. coli* aisladas de infecciones del tracto urinario que abarca del 2012 al 2015 fue el 8,2%. Nuestra prevalencia fue de 8,9% siendo algo inferior a lo publicado en otros estudios (18-21).

En el presente estudio, el 75,7% de las muestras de urocultivos positivos donde se aisló *E.coli* provenían del sexo femenino, con una edad media de 58 años, datos que son comparables con estudios realizados en Dublín, Irlanda, en el año 2016 que presenta un 69% de mujeres con una edad media de 66 años (22).

Si bien el resultado de comparación entre pacientes ambulatorios e internados no fue estadísticamente significativo, se observa una marcada tendencia en la aparición de BLEE en la comunidad que coincide con otros trabajos presentados (23).

Varios estudios han descrito que CTX-M-15 es la enzima predominante (66–100%) en *E. coli* BLEE. Comparando con otro estudio de laboratorio en el que se encontró una prevalencia del 6,8% para los aislamientos correspondientes al grupo CTX-M-1, en este estudio tuvimos un 47,1% de CTX-M de grupo 1, 5,9% de CTX-M de grupo 2 y 17,6% de CTX-M de grupo 9 (24,25).

Debido a que en este estudio no se detectó específicamente el gen *bla*_{CTM-15} y éste pertenece a CTX-M de grupo 1, se podría estar determinando su presencia indirectamente, lo que concuerda con el alto porcentaje encontrado en este grupo y lo descrito por otros estudios.

Conclusión

Si bien no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los aislamientos de *E.coli* BLEE entre pacientes internados y ambulatorios, es evidente que hay una marcada tendencia a la aparición de estas cepas adquiridas en la comunidad que coincide con el alto porcentaje de resistencia posiblemente asociada al uso empírico de antibióticos como quinolonas fluoradas y trimetoprima/sulfametoxazol.

Aunque están muy discutidas las medidas de control de diseminación de *E.coli* productora de BLEE, no se puede negar la necesidad de implementar un uso correcto y responsable de los antibióticos para evitar la expansión de cepas resistentes.

Agradecimientos

Dr. José Di Conza, Cátedra de Microbiología General, FBCB-UNL, Ciudad Universitaria. Paraje "El Pozo". CP: 3000. TE: +54 (342) 4575209/15/16 int: 154.

E-mail: jdiconza@fbc.unl.edu.ar

Lic. Martín Marchisio, Cátedra de Microbiología General, FBCB-UNL, Ciudad Universitaria. Paraje "El Pozo". CP: 3000. TE: +54 (342) 4575209/15/16 int: 154.

E-mail: mlmarchisio@fbc.unl.edu.ar

Referencias bibliográficas.

- 1- Gómez, J.; García Vázquez, E.; Ruiz Gómez, J. (2008). Significación clínica de las resistencias bacterianas: una perspectiva histórica (1982-2007). *Rev. Esp. Quimiot.* **21**(2), 115-122.
- 2- García-Hernández, A. M.; García-Vázquez, E.; Hernández-Torres, A.; Ruiz, J.; Yagüe, G.; Herrero, J. A.; Gómez, J. (2011). Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev. Esp. Quimiot.* **24**(2), 57-66.
- 3- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microb. Rev.* **14**(4), 933-951.
- 4- Jacoby, G. A.; Medeiros, A. A.; O'Brien, T. F.; Pinto, M. E.; Jiang, H. (1988). Broad-spectrum, transmissible β -lactamases. *The New England journal of medicine* **319**(11), 723-724.
- 5- Paterson, D. L.; Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin. Microb. Rev.* **18**(4), 657-686.

- 6-** Bush, K.; & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **54**(3), 969-976.
- 7-** Sánchez Artola, B. (2004). β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). *Rev. Electr. Med. Intens.* **4**(8).
- 8-** Gobernado, M. (2005). β -lactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev. Esp. Quimiot.* **18**(2), 115-17.
- 9-** Angel, D. M.; Ramón, H. J.; Martínez-Martínez, L.; Rodríguez-Baño, J.; Pascual, Á. (2009). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2nd multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006). *Enf. Inf. y microb. clínica* **27**(9), 503-510.
- 10-** Valverde, A.; Coque, T. M.; Sánchez-Moreno, M. P.; Rollán, A.; Baquero, F.; Cantón, R. (2004). Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. *Journal of clinical microb.* **42**(10), 4769-4775.
- 11-** Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2017) Tests for Extended-Spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. Tabla 3A. 102-104.
- 12-** Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**(4), 933-951.
- 13-** Quinteros, M.; Radice, M.; Gardella, N.; Rodríguez, M. M.; Costa, N.; Korbenfeld, D.; Microbiology Study Group. (2003). Extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in Buenos Aires, Argentina, public hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **47**(9), 2864-2867.
- 14-** Yong, D.; Lim, Y. S.; Yum, J. H.; Lee, H.; Lee, K.; Kim, E. C.; Chong, Y. (2005). Nosocomial outbreak of pediatric gastroenteritis caused by CTX-M-14 type extended spectrum β -lactamase producing strains of *Salmonella enterica* serovar London. *Journal of clinical microbiology* **43**(7), 3519-3521.
- 15-** Pitout, J. D.; Laupland, K. B. (2008). Extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *The Lancet infectious diseases* **8**(3), 159-166.
- 16-** Oteo, J.; Pérez-Vázquez, M.; Campos, J. (2010). Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current opinion in infectious diseases* **23**(4), 320-326.
- 17-** Livermore, D. M.; Canton, R.; Gniadkowski, M.; Nordmann, P.; Rossolini, G. M.; Arlet, G.; Poirel, L. (2007). CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **59**(2), 165-174.
- 18-** Blanco, M.; Cremona, A. *Infectología Crítica A Distancia*. (2009). Módulo cuatro. Infecciones por BGN productores de BLEE. 1-21.
- 19-** Gravey, F.; Loggia, G.; de La Blanchardière, A.; Cattoir, V. (2017). Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance profiles of urinary specimens of the elderly. *Médecine et Maladies Infectieuses* **47**(4), 271-278.
- 20-** Paterson, D. L. (2006). Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *The American journal of medicine* **119**(6), 20-28.
- 21-** Blanco, V. M.; Maya, J. J.; Correa, A.; Perenguez, M.; Muñoz, J. S.; Motoa, G.; Garzon, M. (2016). Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por *Escherichia coli* productor de β -lactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enf. Infecciosas y Microb. Clínica* **34**(9), 559-565.
- 22 -** O'Kelly, F.; Kavanagh, S.; Manecksha, R.; Thornhill, J.; Fennell, J. P. (2016). Characteristics of gram-negative urinary tract infections caused by extended spectrum β -lactamases: pivmecillinam as a treatment option within South Dublin, Ireland. *BMC Infectious Diseases* **16**(1), 620.

- 23** – Cullen, I. M.; Manecksha, R. P.; McCullagh, E.; Ahmad, S.; O'Kelly, F.; Murphy, P.; Thornhill, J. (2011). The changing pattern of antimicrobial resistance with 42033 *Escherichia coli* isolates from nosocomial, community, and urology patient specific urinary tract infections, DUBLIN 1999-2009. *European Urology Supplements* **10**(2), 161.
- 24**- Smet, A.; Martel, A.; Persoons, D.; Dewulf, J.; Heyndrickx, M.; Claeys, G.; Butaye, P. (2010). Characterization of extended-spectrum β -lactamases produced by *Escherichia coli* isolated from hospitalized and non-hospitalized patients: emergence of CTX-M-15-producing strains causing urinary tract infections. *Microbial Drug Resistance* **16**(2), 129-134.
- 25**- Martinez, P.; Garzón, D.; & Mattar, S. (2012). CTX-M-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from community-acquired urinary tract infections in Valledupar, Colombia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* **16**(5), 420-425.