

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURI
DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA



**Susceptibilidad antimicrobiana y detección de
betalactamasas en *Escherichia coli* extraintestinal causantes
de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2018**

**Trabajo para optar por el título de
Médico Especialista de Primer Grado en Microbiología**

Autora: Dra. Yulaisky Betancourt González.

La Habana, 2018



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURI
DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA



**Susceptibilidad antimicrobiana y detección de
betalactamasas en *Escherichia coli* extraintestinal causantes
de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2018**

**Trabajo para optar por el título de
Médico Especialista de Primer Grado en Microbiología**

Autora: Dra. Yulaisky Betancourt González.

Tutores: Dra. Dianelys Quiñones Pérez, DrC.

Dra. Yenisel Carmona Cartaya, MSc

La Habana, 2018



“A DIOS

***Por ser la luz que me guía e ilumina para salir adelante, por estar siempre
conmigo en todo momento y no abandonarme, por ayudarme a ser cada día
una mejor persona,***

A mis padres por traerme a este mundo,

A mi hermana por ser lo más maravilloso que tengo en la vida,

A mis otros hermanos Pedri y Evelyn,

***A mis abuelos y familia que son el motor impulsor, por lograr el resultado de
quien soy y por estar siempre a mi lado.***

AGRADECIMIENTOS

Puede parecer extensa esta lista de agradecimientos, pero pienso que existen muchas personas que han contribuido de una forma u otra en la realización de esta tesis. Gracias a mis padres por darme la oportunidad de existir y de crecer en esa familia hermosa y numerosa porque somos tantos, llena de felicidad, amor, unión y dedicación. A mi dios por guiarme por el camino correcto. A mi hermana por ser lo único que tengo en la vida por soportarme en mis momentos de estrés, a mis otros hermanos Pedri y Evelyn que aunque no estén a mi lado me apoyan a cumplir mi meta. A mis abuelos maternos, los que amo tanto, que me han apoyado cada día para que yo logre mi sueño a los que ya no están y me vieron nacer. A mi familia que tan numerosa mis tías, tíos y primos. A la persona que en mis momentos más difíciles esta junto a mí con su amor incondicional.

Gracias a mis compañeros de carrera en especial a mi mejor amigo Aramis, a mis compañeros de especialidad por compartir tantos momentos de estudio juntos en especial Yeny, por ser mi coterránea de momentos tan difíciles y seguir adelante cada día, a Mercy por estar en momentos de tanta tensión a mi lado, a Nancy, Ernesto, etc.

A mi tutora por abrirme las puertas de su corazón y dejarme confiar en ella que con tanta dedicación me ha guiado en el camino de la investigación. A la profe Yeny con su amor y paciencia me ha enseñado su conocimiento infinito. A la profe Niurka por brindarme su confianza y enseñanza con tanta inspiración.

Gracias, por las personas que me brindaron su ayuda y apoyo de manera incondicional cuando lo necesite profe Marybel, Gilda, Anabel, Yanaika, Tony, Ana María y las personas que lograron que yo realizaré mi trabajo de tesis que me apoyaron en los hospitales de la Habana. En fin a las personas que de una forma u otra lograron que mi sueño se hiciera realidad. Gracias a todos.

IAAS: Infecciones asociadas a la atención sanitaria.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

BLEEs: Betalactamasas de espectro extendido.

CIM: Concentración inhibitoria mínima.

CLSI, siglas en inglés: Comité Internacional de Estandarización de Laboratorio Clínico.

LNRM/IPK: Laboratorio Nacional de Referencia de Microbiología/ Instituto “Pedro Kourí”.

UCI: Unidades de Cuidados Intensivos.

MINSAP: Ministerio de Salud Pública.

CPHEM: Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología.

ÍNDICE

Introducción.....	1
II. Objetivos	4
Objetivo general.....	¡Error! Marcador no definido.
Objetivos específicos	¡Error! Marcador no definido.
III. MARCO TEÓRICO.....	5
III.2 Taxonomía y clasificación:	5
III.3 <i>E. coli</i> :	5
III.4 Estructura antigénica y factores de virulencia:.....	6
III.5 Epidemiología:	7
III.6 Impacto clínico:	8
III.7 Resistencia a los antimicrobianos:	9
III.7.1.1 Resistencia a Betalactámicos:	9
III.7.1.2 Betalactamasas:	10
III.7.1.2a Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE):	11
BLEE de mayor importancia clínica:	12
III.7.1.2b Carbapenemasas:.....	13
Clasificación de las carbapenemasas:.....	13
III.7.2: Resistencia a otras familias de antimicrobianos:	14
III.7.2a Resistencia a quinolonas:	14
Principales mecanismos descritos de resistencia a quinolonas ⁴⁸ :.....	15
III.7.2b Resistencia a los aminoglucósidos:	15
Mecanismos de resistencia a los aminoglucósidos:.....	16
III.7.2 c Resistencia a Colistina	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
IV.1 Universo y muestra.....	19
IV. 2 Operacionalización de las variables	19
IV.3 Recolección de la información:.....	21
IV.4 Procedimiento de laboratorio:.....	21
Determinación de la actividad de las betalactamasas:	23
IV.5. Análisis estadístico.	25
IV. 6. Aspectos éticos	25
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26

VI. CONCLUSIONES	38
VII. RECOMENDACIONES.....	39
VIII. BIBLIOGRAFÍA	40
IX. ANEXOS.....	51
Anexo I. Modelo de Recolección de datos. Vigilancia Nacional de bacterias nosocomiales, IPK.....	51

Escherichia coli es un patógeno oportunista reconocido para la cual las opciones de tratamiento son limitadas. Nuestro propósito fue aportar evidencias del comportamiento microbiológico de *E. coli* extraintestinal en hospitales cubanos, en el período de mayo 2017 a junio 2018, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el Laboratorio Nacional de Referencia de Microbiología del Instituto "Pedro Kourí" que incluyó 119 aislados de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales procedentes de 30 hospitales de 11 provincias del país. Para ello se empleó el sistema API 20 E para la confirmación de especie y se determinó la susceptibilidad para 16 antimicrobianos por el sistema automatizado VITEK-2 (tarjeta AST-272) el método de difusión por disco y tiras de gradientes de concentración. Además se realizó la confirmación fenotípica de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), de tipo AmpC y metalobetalactamasa. Las muestras más frecuentes fueron herida quirúrgica (23,5%), hemocultivo (20,7%) y secreción respiratoria (17,6%). Predominó la resistencia a betalactámicos con porcentajes que oscilaron entre 61,3% y 89,1%. Mientras que, 79,8% y 80,5% de los aislados fueron resistentes a trimetoprim/sulfametoxazol y tetraciclina, respectivamente. Del total de aislados 43,7% resultaron positivos para la detección de BLEE, 7,6% productores de AmpC plasmídica y metalobetalactamasa 0,8%. La escasa sensibilidad en los aislados de *E. coli* extraintestinal a los antimicrobianos de primera línea así como la detección de un aislado productor de metalobetalactamasa evidencia la necesidad de mantener un monitoreo continuo de este patógeno para el cual las alternativas de tratamiento son cada vez más restringidas.

I. INTRODUCCIÓN

Las IAAS (Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud) constituyen uno de los principales problemas de la salud a nivel mundial. El aumento de las mismas va en progresión con la resistencia bacteriana a los antimicrobianos. Se considera como un problema de interés en salud pública dado al alto impacto en la morbilidad, con un incremento de la estancia hospitalaria y de los costos derivados de la prestación de los servicios de salud ¹.

A nivel mundial se estima que los gérmenes gram negativos van en aumento causando infecciones severas. Aproximadamente 1.7 millones de personas presentan complicaciones por infecciones contraídas en el hospital. Las IAAS afectan tanto a países desarrollados como a subdesarrollados, aunque las tasas de prevalencia entre ellos son completamente diferentes ^{2,3}.

Los gérmenes gram negativos pueden colonizar varios sitios tanto en el ambiente hospitalario como en el huésped susceptible. Por tanto, se encuentran entre los principales patógenos relacionados con las IAAS, sobre todo cuando las defensas de este último están comprometidas (inserción de un catéter o de una cánula, sonda vesical, del sitio de una intervención quirúrgica). Por lo general, provocan bacteriemias (23%), neumonía (20%), infección de vías urinarias 15.9% e infección de herida quirúrgica (15.4%) ^{4,5}.

E. coli, es el microorganismo causante de IAAS más frecuente y habitualmente se acompaña de multirresistencia elevada, lo cual dificulta la elección del tratamiento antibiótico empírico ⁶. Se estima que la mortalidad por cepas de *E. coli* farmacorresistente puede alcanzar hasta 70% a nivel global ¹⁰. Por tanto, las infecciones por este patógeno afectan de modo significativo a la humanidad y representa una de las amenazas más grave a enfrentar en las próximas décadas ⁷.

En Cuba, de acuerdo a las estadísticas de 2015 del Ministerio de Salud Pública, *E. coli* extraintestinal, también es uno de los principales patógenos relacionados con IAAS. En la actualidad, esta bacteria es causa de neumonía, bacteriemias asociadas a catéteres, infecciones urinarias, infecciones de heridas quirúrgicas, infecciones de piel y partes blandas, meningitis, entre otras, con fallos terapéuticos frecuentes por la extrema resistencia que presentan a casi todos los antimicrobianos disponibles ⁸.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ubica a estas bacterias entre las primeras en su lista publicada de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos como los carbapenémicos y las cefalosporinas de tercera generación, sobre la cual hay que incentivar la investigación científica por las escasas o nulas opciones terapéuticas⁹.

E. coli tiene la capacidad de desarrollar nuevos mecanismos de resistencia a los tratamientos y pueden transmitir material genético que permite a otras bacterias hacerse farmacorresistente, la acumulación de varios mecanismos de resistencia puede llevar a que ciertas cepas se vuelvan intratables¹⁰.

Una de las familias de antibióticos más afectados son los betalactámicos debido a la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), de tipo AmpC y posteriormente carbapenémicos que han ido emergiendo desde la década del 80 y del 90 respectivamente¹¹. El incremento de la resistencia mediante la producción de betalactamasas restringe el empleo de los antibióticos betalactámicos como tratamiento empírico en las infecciones por estos microorganismos¹².

Las BLEEs, se definen como enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas, las cefalosporinas (excepto las cefamicinas) y los monobactámicos, pero son sensibles a los carbapenémicos y a los inhibidores de betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam). Estas enzimas son el principal mecanismo de resistencia en enterobacterias¹³. Otra familia importante de betalactamasas son las de tipo AmpC que se caracterizan por ser activas frente a penicilinas y cefalosporinas, con capacidad hidrolítica sobre cefamicinas (cefoxitin y cefotetán), oximinocefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona) y monobactámicos (aztreonam) con la excepción de cefalosporinas de cuarta generación (cefepime, ceftiprol) y carbapenémicos¹⁴.

Actualmente, la prevalencia de *E. coli* productor de BLEE presenta importantes variaciones geográficas. Según datos estadísticos la región de Latinoamérica es una de las más afectadas con una prevalencia de 50% principalmente en *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, de igual forma en el sudeste Asiático prevalencia también es elevada con porcentajes que superan 30%; mientras que en Europa es de 11%^{15,16}.

La aparición de resistencia a los carbapenémicos entre las enterobacterias es un problema clínico a nivel mundial, teniendo en cuenta que estos fármacos

representan el tratamiento de elección para infecciones severas ocasionadas por cepas productoras de BLEE y betalactamasa de tipo AmpC^{17,18}. Para la región de Latinoamérica la OMS y OPS lanzaron una alerta epidemiológica en 2010 y 2011 por la emergencia de los primeros aislados portadores de carbapenemasas KPC y la NDM respectivamente. Cuba no se escapa de esta problemática ya que desde 2011 el LNR-IAAS notifica la producción de KPC en aislados de *K.pneumoniae*^{19,20}.

Según los datos de la vigilancia nacional de la resistencia en patógenos gram negativos que lleva a cabo el LNR-IAAS/IPK en Cuba, entre 2014-2016 *E. coli* extraintestinal presentó resistencia elevada a diversos antimicrobianos con marcada producción de BLEE. Por tanto se hace imprescindible continuar el monitoreo de la susceptibilidad de este patógeno aislado de diferentes muestras clínicas de pacientes ingresados en diferentes hospitales del país para el cual el manejo terapéutico es cada vez más difícil²¹.

Ante esta problemática, la autora se planteó las siguientes preguntas científicas. ¿Cuáles son las infecciones más frecuentes que *E. coli* extraintestinal, causa en pacientes ingresados en hospitales cubanos? ¿Qué antibióticos podrían ser los más efectivos dado los estudios de susceptibilidad *in vitro*? ¿Cuál es la prevalencia de cepas productoras de BLEE, carbapenemasas y AmpC plasmídica en estos aislados?

El presente estudio permitirá aportar datos sobre el comportamiento de *E. coli* extraintestinal procedentes de pacientes hospitalizados en diferentes provincias del país, brindará información acerca de la susceptibilidad de este patógeno a diferentes antibióticos de uso en la práctica médica, así como los mecanismos enzimáticos involucrados en la resistencia a los betalactámicos.

II. OBJETIVOS

1. Describir las infecciones causadas por *E. coli* extraintestinal en pacientes ingresados en hospitales cubanos.
2. Describir la resistencia antimicrobiana en los aislados objetos de estudio.
3. Determinar de forma fenotípica la producción de betalactamasas de espectro extendido, carbapenemasas y AmpC plasmídica en los aislados objetos de estudio.

III. MARCO TEÓRICO

III.1 Historia del género *Escherichia*:

El 14 de Julio de 1885 Theodor Escherich, presentó ante la Sociedad de Morfología y Fisiología de Múnich sus hallazgos en una conferencia en la cual describió la morfología y las propiedades de una población bacteriana a la que denominó *Bacterium coli commune*. En 1919 tras una reforma taxonómica se estableció oficialmente la denominación binominal de *E. coli* ²².

III.2 Taxonomía y clasificación:

Clasificación taxonómica:

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gamaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: *Enterobacteriaceae*

Género: *Escherichia*

Especie: *Escherichia coli*

III.3 *E. coli*:

Los microorganismos del género *Escherichia*, son bacilos gram negativos aproximadamente de 1-3 µm de longitud y 0.5 µm de diámetro, que se presentan aislados o en pares. Además son anaerobios facultativos y metabólicamente activos, crecen en medios simples y no forman esporas, una gran mayoría son móviles y son de vida libre. Todas las especies de *E. coli* son catalasa positiva, oxidasa negativos, reducen nitratos a nitritos y fermentan glucosa. Algunas cepas de esta especie pueden fabricar exopolisacárido por lo que son capsuladas, lo cual en algunas ocasiones da aspecto mucoso a la colonia, la mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano ^{23, 24}.

Se les puede encontrar normalmente en el intestino del ser humano y de otros animales, en aguas contaminadas, el suelo, el medio ambiente, plantas e insectos,

habitualmente colonizan diversas mucosas, especialmente las del tracto urinario y gastrointestinal, ya que las distintas infecciones suceden a partir de estas localizaciones^{25, 26}.

III.4 Estructura antigénica y factores de virulencia:

Las enterobacterias poseen cuatro antígenos importantes en su estructura: Antígeno H: es el antígeno flagelar, es termosensible; Antígeno K: es el antígeno capsular, formado por oligosacáridos o proteínas, puede interferir en la aglutinación del antígeno O: es un antígeno somático, y constituye la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular, que se forma por oligosacáridos, es termoestable^{25, 26} (fig. 1).

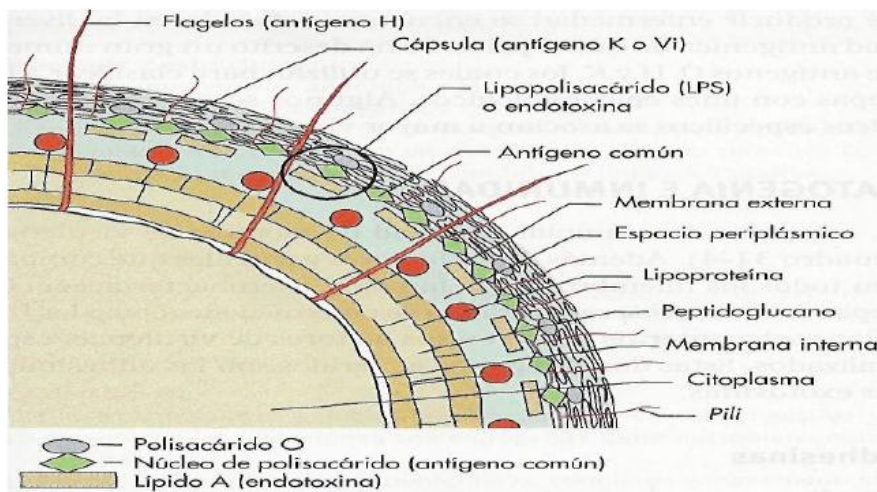


Figura 1. Estructura antigénica de *E. coli*²⁵.

Factores de Patogenicidad²⁵⁻²⁷.

Las bacterias pueden tener o producir los siguientes elementos como factores de virulencia:

- **Endotoxinas:** Uno de ellos es el lípido A, que son macromoléculas complejas que contiene en su interior fosfolípidos y lipopolisacáridos (LPS). Son constituyentes de la pared bacteriana y solo se liberan cuando la célula muere y se lisa. Su toxicidad reside en la fracción del lípido A, el LPS, se localiza en la fracción polisacárido. En las enterobacterias el lípido A siempre es el mismo, el polisacárido es variable y da lugar al antígeno O que aparecen en las distintas cepas.

- **Cápsula:** Es especialmente útil para la bacteria como una fase protectora que hace más difícil la fagocitosis y con ello le da una mayor sobrevivencia a la bacteria.
- **Variación antigénica:** Como su nombre lo indica, consiste en variar sus antígenos y con ello presentar una diferente presencia inmune para la identificación y respuesta del huésped.
- **Factores de adherencia:** Las fimbrias colaboran de manera importantes para la adherencia de la bacteria a la superficie mucosa del huésped.
- **Plásmido:** Permite la transferencia de factores de patogenicidad y genes que otorgan resistencia antibiótica a otras bacterias.

III.5 Epidemiología:

E. coli es el germen que más frecuentemente se aísla a nivel mundial en pacientes con infección. Es un microorganismo muy adaptado al ambiente hospitalario y puede permanecer por mucho tiempo en las manos del personal de salud debido a su capacidad para resistir a la desecación lo que favorece la sobrevivencia del microorganismo en piel. Por tanto, la principal fuente de infección del microorganismo la constituyen los enfermos y portadores, así como las manos del personal de la salud ²⁸.

Cada año en Estados Unidos, al menos 2 millones de personas, adquieren infecciones graves por *E. coli* multirresistente y se registran 23.000 muertes por esta causa como consecuencia directa. En Europa, la mortalidad es superior, donde se estima que mueren anualmente 25.000 personas. Por esta razón, tanto el Centro Europeo como el Americano para el Control y la Prevención de Enfermedades, publican regularmente informes centrados en la resistencia a los antimicrobianos, su impacto en la salud y en la economía ²⁹.

Las infecciones por enterobacterias, es un problema reconocido. A nivel mundial, aumentan las tasas de infección debido a los diferentes patrones de susceptibilidad que les confieren resistencia a los antimicrobianos. *E. coli*, se reconoce como una de las principales enterobacterias no sólo por su alta prevalencia, sino por la capacidad de generar resistencia a los diferentes antibióticos ³⁰. Existe una alta incidencia de IAAS producidas por *E. coli* multirresistente que alcanza 39.7% en países de Latinoamérica ³¹. En España la prevalencia de este microorganismo se

sitúa alrededor del 20%, sin embargo países como EE.UU o Canadá reportan porcentajes superiores (50%) ^{32,33}.

El principal mecanismo de resistencia a betalactámicos en enterobacterias es la producción de BLEE y las infecciones por microorganismos que la producen se reconocen como una de las principales causas de prolongación de la estancia hospitalaria (entre 6,4-12,7 días), de mayor número de complicaciones y disminución de la eficacia de los tratamientos ³⁵. Sin embargo, la emergencia de carbapenemasas en las últimas décadas constituye una alarma global por el gran impacto clínico que tiene el tratamiento de las infecciones por patógenos que produzcan estas enzimas ya que se reducen sustancialmente las opciones terapéuticas, mucho más cuando el desarrollo e investigación de nuevas moléculas ha declinado en todo mundo ³⁴.

Esta situación condujo al uso de las polimixinas, específicamente la polimixina E o colistina, como tratamiento de elección para tratar las infecciones por estos microorganismos multirresistentes. El uso de la colistina se ha generalizado en algunos países con endemia de carbapenemasa para el tratamiento de enterobacterias resistentes a carbapenémicos. A la par del incremento en el uso de este fármaco se emergió los aislados resistentes a los mismos y ya son varios los países que presentan esta problemática fundamentalmente en enterobacterias como Italia, España, Francia, Argelia, Reino Unido y Suiza ³⁵⁻³⁷.

III.6 Impacto clínico:

E. coli es un importante patógeno oportunista que tiene la capacidad de cambiar su sensibilidad natural a los antimicrobianos a través de la selección y transmisión de diversos mecanismos de resistencia. Este fenómeno puede involucrar simultáneamente varias familias de antibióticos, lo cual dificulta el tratamiento de las infecciones por este microorganismo y le confiere mayor relevancia clínica ³⁸.

En la clínica, las causas que inducen la resistencia bacteriana e indican un mal pronóstico de pacientes infectados son el uso generalizado de antimicrobianos en pacientes inmunodeprimidos y en la unidad de cuidados intensivos (UCI), inapropiada profilaxis antibiótica, uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana, tratamiento con antibióticos de enfermedades no bacterianas o de enfermedades bacterianas autolimitadas y desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes gérmenes teniendo en cuenta la flora local de cada

institución o comunidad ³⁹. Las infecciones por *E. coli* representan 80 % de las infecciones graves y las más frecuentes son meningitis, peritonitis y septicemia, mientras que la segunda causa es en las infecciones de piel y partes blandas ⁴⁰.

III.7 Resistencia a los antimicrobianos:

La resistencia microbiana se considera como la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo, resultan también resistentes al antimicrobiano en cuestión ⁴¹.

El incremento en la prevalencia de la resistencia a antibióticos en bacterias patógenas es el resultado de la evolución y la presión selectiva por el uso amplio de antibióticos en humanos, en medicina veterinaria, en la agricultura y en la nutrición de animales. En la clínica, las causas que inducen la resistencia bacteriana e indican un mal pronóstico de pacientes infectados son el uso generalizado de antimicrobianos en pacientes inmunodeprimidos y hospitalizados en UCI, inapropiada profilaxis antibiótica, uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana y tratamiento con antibióticos de amplio espectro de infecciones no bacterianas o bacterianas pero autolimitadas y por desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes gérmenes teniendo en cuenta la microbiota local de cada institución o comunidad ⁴².

III.7.1.1 Resistencia a Betalactámicos:

Los betalactámicos incluyen varios grupos de antibióticos entre los que se encuentran las penicilinas, las cefalosporinas, los carbapenémicos y los monobactámicos, los que inhiben la síntesis de la pared celular de la bacteria ⁴³.

Aunque la resistencia a los betalactámicos obedece a distintos mecanismos (producción de enzimas, alteraciones de la permeabilidad, alteración de la diana y presumiblemente, expresión de bombas de expulsión activa), el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos en enterobacterias es el enzimático, por producción de betalactamasas, que pueden ser naturales de ciertas especies o adquiridas ^{43,44}.

III.7.1.2 Betalactamasas:

Concepto:

Las betalactamasas son un grupo muy heterogéneo de enzimas de resistencia. En la actualidad hay descritas más de 700. Estructuralmente, son proteínas compuestas de hojas β plegadas y α hélices; que se encuentran en el espacio periplásmico de las bacterias gram negativas e hidrolizan el anillo betalactámico de los antibióticos, dejando inactivo al antibiótico ⁴⁵.

Clasificación:

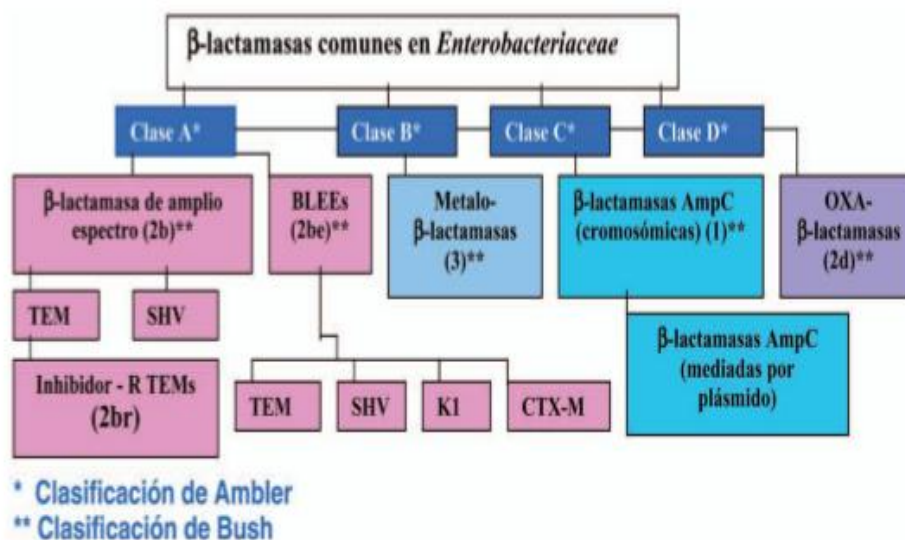
Debido al elevado número de betalactamasas existentes estas se clasifican según su estructura, su función, el sustrato al que se unen, las sustancias que las inhiben, los parámetros cinéticos y según su expresión, es decir, si están codificadas en plásmidos o en el cromosoma ⁴⁶.

En el momento actual las clasificaciones vigentes son la formulada por Ambler en 1980, que se basa en la estructura molecular y la secuencia de los aminoácidos de las enzimas y la clasificación funcional propuesta por Bush-Jacoby-Medeiros en 1995 y actualizada en el 2010 ⁴⁷.

- Clasificación molecular de Ambler: Agrupa las betalactamasas en cuatro clases o grupos (A, B, C y D)
 1. Serin- β -lactamasas: Las enzimas de los grupos A, C y D, que contienen una serina en su centro activo e hidrolizan penicilinas, oxacilina y cefalosporinas.
 2. Metallo- β -lactamasas: Enzimas del grupo B que tienen como cofactor un ión de Zinc, indispensable para actuar; estas tienen actividad sobre las penicilinas, las cefalosporinas, los carbapenémicos, pero no actúan sobre los monobactámicos ^{43,48}.
- Clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros: Esta clasificación las agrupa según las similitudes de las funciones de las enzimas en cuatro grupos diferentes (del 1-4) y el grupo 2 queda dividido en 12 subgrupos ⁴³.
 1. Grupo 1: Incluye enzimas de la clase C de Ambler que hidrolizan cefalosporinas y no son inhibidas por el ácido clavulánico o tazobactam.
 2. Grupo 2: Incluye enzimas de las clases A y D de Ambler que se inhiben por el ácido clavulánico.

3. Grupo 3: Incluye enzimas de la clase B de Ambler. Son metalobetalactamasas que requieren para actuar de la unión de Zn^{+2} a su centro activo y que se inhiben por agentes quelantes como el EDTA, pero que no se inhiben por el ácido clavulánico o por tazobactam.
4. Grupo 4: Incluido en la clasificación inicial, no aparece en la actualización del año 2009. La mayoría de las enzimas incluidas inicialmente en este grupo no están completamente caracterizadas y pueden ser clasificadas en los grupos anteriores.

El siguiente esquema muestra la clasificación de las Betalactamasas en enterobacterias.



Fuente: Bush, K., G. Jacoby, and A. Medeiros. Agents Chemother, 1995 ⁴⁹.

Figura 2. Clasificación de betalactamasas de Bush, Jacoby y Medeiros

III.7.1.2a Betalactamasas de Espectro Extendido(BLEE):

Entre todos los problemas actuales de multirresistencia en enterobacterias, probablemente el de mayor interés es la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) ⁵⁰. Estas enzimas, pertenecen a la clase molecular A de Ambler y entre ellas se encuentran las de tipo TEM y SHV (derivadas de enzimas con menor espectro de hidrólisis), la familia CTX-M (procedente de betalactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*) y otras menos prevalentes como PER, VEB, BES, GES, TLA y SFO, incluidas todas ellas en el grupo funcional 2be de Bush y Jacoby. Algunas enzimas de la familia OXA (clase D de Ambler y grupo funcional

2de), se consideran también BLEE pero se describen con mayor frecuencia en *P. aeruginosa*⁵¹.

BLEE de mayor importancia clínica:

1. Enzimas tipo TEM: Las BLEE tipo TEM derivaron de las betalactamasas TEM-1 y TEM-2. La primera BLEE de esta familia es la tipo TEM-3 y los primeros reportes se remontan a 1984, en cepas de *K. pneumoniae*, en Francia. La tipo TEM-1 se describe, por primera vez, en 1965 y es la betalactamasa plasmídica más importante especialmente en *E. coli* y *K. pneumoniae* que hidroliza a la ampicilina, la oxacilina y la cefazolina pero no se inhibe con el ácido clavulánico. En 1972, derivada de la TEM-1, se describe la TEM-2 a partir de una mutación puntual en posición 39 (Lys-Gly) que cambia su punto isoeléctrico pero no su actividad hidrolítica. La BLEE tipo TEM-3 se diferencia de la TEM-2 por cambios en los aminoácidos Lys→Glu en la posición 102 y Ser→Gly en la posición 236. Hasta el momento se describen 182 variantes, en la que quedan incluidas las enzimas TEM resistentes a los inhibidores (IRT, por sus sigla en inglés) y las TEM del Complejo Mutante (CMT, por su sigla en inglés), que son enzimas que combinan los perfiles de BLEE e IRT^{43,52}.
2. Enzimas tipo SHV: La primera con fenotipo de BLEE fue la SHV-2, descrita en 1983 en cepas de *K. ozaenae* en Alemania; derivada de la betalactamasa cromosomal SHV-1 y se diferencia de esta por una mutación del aminoácido Gly → Ser en la posición 238. Hasta el momento se describen 134 variantes de SHV y la mayoría de ellas son BLEE, aunque también existen variantes (SHV-10, 26, 49, 56 y 72) que muestran resistencia variable a inhibidores de betalactamasas de clase A. Este tipo de BLEE también se pueden encontrar en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.^{45,46}.
3. CTX-M: En 1989, casi de forma simultánea, en Alemania, Argentina y Francia aparecen, por primera vez, cepas de enterobacterias con resistencia elevada a cefotaxima y menor afectación de la ceftazidima, estas betalactamasas de manera genérica se denominaron CTX-M y no guardan relación alguna con las betalactamasas descritas hasta ese momento. En un inicio, estas enzimas, según la secuencia de aminoácidos se clasificaron en cinco grupos

pero recientemente se adicionaron dos grupos más. El análisis filogenético sugiere que estas enzimas no tienen su origen en una mutación plasmídica sino que fueron incorporadas a plásmidos por movilización del gen cromosomal *bla* del género *Kluyvera*. Las enzimas CTX-M-14 y CTX-M-15 son las más importantes, pues se aíslan en cualquier tipo de muestra humana y ambiental alrededor del mundo entero ^{43, 47, 48}.

El panorama actual de las BLEE ha cambiado, pues inicialmente SHV y TEM eran las familias aisladas con mayor frecuencia y las cepas que las producían, se encontraban originando brotes hospitalarios epidémicos, pero a partir de la década del 2000 se ha visto una evolución y dispersión extraordinariamente acelerada de las enzimas CTX-M, las que no se confinan únicamente a el ambiente hospitalario sino que también se aíslan de infecciones adquiridas en la comunidad, esencialmente con infecciones urinarias ^{43,45,47}.

III.7.1.2b Carbapenemasas:

Desde el surgimiento de las BLEE y por su pronta diseminación, aumentó considerablemente el uso de los carbapenémicos en el tratamiento de las infecciones por microorganismos productores de este grupo de enzimas. En el intento de sobrevivir ante la nueva opción terapéutica, los mismos, crean nuevas betalactamasas capaces de hidrolizar a la mayor parte de los betalactámicos, incluidos los carbapenémicos, estas son las carbapenemasas ^{44,53}.

La resistencia a las moléculas de carbapenémicos en enterobacterias está mediada por dos mecanismos principalmente: uno es la hiperproducción de BLEE y/o AmpC con bajo nivel de actividad hidrolítica sobre los carbapenémicos, asociado con alteraciones o pérdidas de las porinas y el otro es la producción de carbapenemasas el cual constituye el mecanismo fundamental ⁵⁴.

El origen y la secuenciación nucleotídica de las carbapenemasas es muy versátil y actualmente se conocen más de 30 familias de carbapenemasas, agrupadas en las clases A, B y D de Ambler, pero nuevas familias se describen continuamente ⁵⁵.

Clasificación de las carbapenemasas:

1. Serín-carbapenemasas: betalactamasas plasmídicas del grupo A de Ambler, son prácticamente inhibidas por la acción del ácido clavulánico e hidrolizan

de forma efectiva a los carbapenémicos aunque su actividad frente a meropenem es menor que frente al imipenem. Estas pueden ser cromosómicas (NmcA, Sme, IMI-1, SFC-1) descritas en *E. cloacae* y *S. marcescens* o plasmídicas (KPC, IMI-2, GES). KPC es clínicamente la enzima más importante del grupo^{43,56,48,54}.

2. Metalobetalactamasas (MBL): Pertenecen al grupo B de la clasificación de Ambler, son un importante desafío tanto para el tratamiento individual de los pacientes como para la aplicación de las políticas de control de la infección, porque presentan actividad frente a todos los betalactámicos excepto al aztreonam y no se inhiben con los inhibidores de betalactamasas. Sin embargo, son sensibles a la acción de agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico. Hasta la fecha se describen nueve MBL, pero probablemente, IMP y VIM sean las más diversificadas y prevalentes. Sin embargo, la New Delhi Metalobetalactamasa (NDM) genera una importante alarma mediática por el perfil multirresistente o panresistente de los aislados que la producen^{43,56,51,55}.
3. Oxacilinasas (OXA): Se encuentra en el grupo D de la clasificación de Ambler. Entre ellas se destacan las variantes de los subgrupos OXA-23, OXA24, OXA-58, OXA-143 y sobre todo la OXA-48 descrita en enterobacterias en países del entorno mediterráneo. Fenotípicamente son difíciles de identificar ya que su perfil de actividad frente a los carbapenémicos es pobre y casi nulo frente a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Mantienen el perfil de sensibilidad de las OXA al ser poco inhibidas por el clavulánico, tazobactam o sulbactam; es decir son resistentes a las penicilinas y a sus asociaciones con inhibidores, mantienen la sensibilidad a las cefalosporinas y tienen pérdida de la sensibilidad a los carbapenémicos⁵¹.

III.7.2: Resistencia a otras familias de antimicrobianos:

III.7.2a Resistencia a quinolonas:

Las quinolonas son un grupo de antimicrobianos sintéticos, de las cuales cabe destacar el ácido nalidíxico y las quinolonasfluoradas, como norfloxacinó,

ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino, cuyo espectro de actividad se centra en las bacterias gram negativas^{51,57}.

La actividad antimicrobiana de las fluoroquinolonas se basa en la inhibición de las topoisomerasas, la topoisomerasa II o ADN girasa y la Topoisomerasa IV. Ambas son enzimas heterotetraméricas formadas por 2 subunidades: A y B, que se codifican por los genes *gyrA* y *gyrB* respectivamente, en la ADN girasa y *par C* y *par E* en la Topoisomerasa IV⁴⁸.

La resistencia a las quinolonas en *Enterobacteriaceae* surge a la par de la introducción de este grupo de antibióticos, con una amplia diseminación. En las bacterias gram negativas, las quinolonas inhiben a las enzimas Topoisomerasa II (ADN girasa) y Topoisomerasa IV ambas responsables de la replicación del ADN bacteriano^{55,58}.

Principales mecanismos descritos de resistencia a quinolonas⁴⁸:

1. Mutaciones en los genes de la ADN girasa y la Topoisomerasa IV
2. Mutaciones que afectan las porinas o los lipopolisacáridos e impiden la penetración del antimicrobiano al interior de la bacteria.
3. La presencia de bombas de expulsión que bombean al antimicrobiano al exterior de la célula.

Existen otros determinantes plasmídicos de resistencia a quinolonas como los genes que median las bombas de expulsión activa QepA y OqxAB y la variante de la aminoglucósido-acetiltransferasa AAC(6')-Ib-cr, capaz de acetilar a ciprofloxacino y norfloxacino, además de amikacina, kanamicina y tobramicina. Aunque la resistencia a quinolonas mediada por genes plasmídicos es de bajo nivel, tanto *in vitro* como *in vivo* se observa que facilitan la selección de mecanismos adicionales de resistencia, que contribuirán a un mayor nivel de resistencia^{51,58}.

III.7.2b Resistencia a los aminoglucósidos:

Los antibióticos aminoglucósidos-aminociclitolos constituyen un grupo de agentes antibacterianos con interesantes propiedades para el tratamiento de infecciones bacterianas, particularmente aquellas producidas por bacilos gram negativos aeróbicos⁵⁹.

Mecanismos de resistencia a los aminoglucósidos:

1. Alteración del sitio diana: Por mutación de los genes ribosomales o de ARN 16S (importante para la estreptomicina).
2. Reducida acumulación intracelular de aminoglucósidos: Fundamentalmente por impermeabilidad de la membrana externa, lo que determina un nivel de susceptibilidad intermedia a los antimicrobianos. Recientemente, también se describe la resistencia mediada por eflujo; sin embargo, la importancia clínica de este tipo de mecanismo de resistencia, parece poco trascendente. Esta acumulación reducida afecta principalmente a *Pseudomonas* y a otros bacilos gram negativos no fermentadores.
3. Inactivación de los compuestos por enzimas modificantes de aminoglucósidos (EMA): Es el mecanismo más frecuente y más estudiado. Las EMA se dividen en tres grupos: Aminoglucósido-acetiltransferasas (AAC), Aminoglucósido-adeniltransferasas (AAD, actualmente designadas como ANT), enzimas, conocidas también como nucleotidiltransferasas y Aminoglucósido-fosfotransferasas (APH) ⁵⁹.

La comparación de las secuencias de aminoácidos de las EMA, muestra muy poca homología entre sí; a diferencia de lo que ocurre con la betalactamasas, una mutación en los genes de estas enzimas, permite a la bacteria adaptar su enzima inactivante a la introducción de un nuevo aminoglucósido. Los genes que codifican para estas enzimas se encuentran en plásmidos, lo que favorece la transmisión de una bacteria a otra ⁶⁰.

Del grupo de EMA, vale la pena resaltar a las AAC (6')-Ib y a las 16S *r* ARN metilasas, las cuales confieren resistencia a varios aminoglucósidos que incluyen a kanamicina, amikacina y tobramicina. Recientemente, estas enzimas se reportan como mecanismos de resistencia asociados a las proteínas Qnr y la bomba de salida QepA. Los genes responsables de la producción de estas metilasas por las bacterias se encuentran en plásmidos que portan otros genes de resistencia, lo cual lleva a patrones de multirresistencia en bacterias gram negativas⁴⁸.

En diversos estudios se describe altas tasas de resistencia a los aminoglucósidos en enterobacterias productoras de BLEE. Muchos de estos trabajos determinan la

presencia de integrones que contienen estos genes y describen la asociación entre metilasas y BLEE ⁴³.

III.7.2 c Resistencia a Colistina

El mecanismo de acción se explica por su naturaleza policatiónica con fracciones hidrófilas y lipófilas, las cuales actúan a través de interacciones electrostáticas con la membrana externa de las bacterias gram negativas, desplazando competitivamente cationes divalentes de los lípidos de la membrana, que genera cambios en la permeabilidad y favorece la liberación del contenido intracelular ⁶¹.

Teniendo en cuenta lo anterior, el uso de colistina se ha generalizado en algunos países para el tratamiento de bacterias con resistencia a carbapenémicos y el advenimiento del uso de la misma ocasionó la aparición de aislados resistentes en diferentes países del mundo, como Italia, España, Francia, Argelia, Reino Unido, Suiza, Colombia, Argentina, Brasil, Canadá, Estados Unidos ⁶².

Hasta hace unos años, la resistencia a colistina era rara y principalmente debido a mutaciones en los genes cromosómicos que conducen a modificaciones en el lipopolisacárido, el sitio de acción de colistina, y no se había informado de la transferencia horizontal de genes que confirieran resistencia a las mismas.

Recientemente, se detectó el gen *mcr-1* ("Mobile Colistin Resistance") que confiere resistencia a colistina/polimixina y que se localiza en elementos genéticos móviles (plásmidos), por lo que por primera vez, las bacterias tienen la capacidad de compartir la resistencia a las polimixinas. La emergencia de resistencia a la colistina/polimixina es preocupante, ya que en la práctica clínica se considera uno de los últimos (y a veces únicos) agentes efectivos para el tratamiento de bacterias con resistencia a múltiples antibióticos, como los productores de carbapenemasas (KPC, NDM, OXA-48) ⁶².

El gen *mcr-1*, codifica para una enzima de la familia de la fosfoetanolaminatransferasa que modifica la estructura del Lípido A de la pared bacteriana y de esa forma impide la interacción de la bacteria con las polimixinas, lo que genera resistencia a las mismas ⁶³.

Este gen se informó por primera vez a fines de noviembre de 2014 en China. Según el reporte inicial, el gen *mcr-1* se halló en 260 muestras de *E. coli* recuperadas de

animales para consumo, alimentos y de muestras clínicas provenientes de pacientes hospitalizados, ha sido hallado fundamentalmente en *E. coli* pero también en especies de *Salmonella* y *K. pneumoniae*, lo que confirma que la diseminación de este gen se encuentra muy extendida ⁶³.

Se sugiere que la fuente probable de estas nuevas “superbacterias” sería el consumo intensivo de polimixinas en la crianza de animales para la producción de alimentos. La OMS llamó a limitar el uso de colistina en este ámbito, debido a que unas 12.000 toneladas de este antimicrobiano se utilizan en la crianza de ganado cada año. La mayor parte del uso de colistina en animales de consumo se registra en China ⁶³.

Posteriormente, otros países informaron sobre hallazgos similares realizados de manera retrospectiva. Hasta el momento, no se han informado brotes o muertes causadas por microorganismos portadores del gen *mcr-1*. Aunque es posible la portación asintomática de bacterias con este gen, por lo que existe el riesgo de que se disemine a otras cepas más virulentas o clones hiperepidémicos ⁶⁴.

Ante estos hallazgos, la OPS/OMS recomienda a los Estados Miembros que implementen y fortalezcan la vigilancia e investigación epidemiológica para detectar la presencia de microorganismos portadores de este tipo de resistencia a fin de efectuar medidas oportunas para la prevención y control. Dado el uso de la colistina en medicina veterinaria, se enfatiza la necesidad de la vigilancia integrada, tanto en humanos como en animales, así como la necesidad de acciones coordinadas entre ambos sectores de salud humana y animal, para la prevención y control de la diseminación de microorganismos con resistencia transferible a colistina ⁶⁵.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

En el período comprendido entre mayo 2017 y junio 2018, en el LNR-IAAS del IPK, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal que incluyó 119 aislamientos de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales, procedentes de hospitales cubanos que se remitieron a este laboratorio en igual período.

IV.1 Universo y muestra

Universo estuvo dado por 133 aislamientos, remitidos como *E. coli* extraintestinal de pacientes ingresados desde hospitales del país.

Muestra: Estuvo dada por 119 aislamientos viables y correspondientes con el género *Escherichia*, especie *E. coli* confirmados en el LNR-IAAS/IPK procedentes de 31 hospitales repartidos en: 16 hospitales generales, cuatro maternos, ocho pediátricos, un Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, y dos Institutos) de 11 provincias (Pinar del Río, Artemisa, La Habana, Mayabeque, Matanzas, Cienfuegos, Sancti Spiritus, Santiago de Cuba, Gramma, Guantánamo y el municipio especial Isla de la Juventud) del país, recibidos durante mayo 2017 y junio 2018.

- **Criterios de inclusión:** aislados correspondiente a *E. coli*, viable, no contaminado y que se acompañara del modelo de recolección de datos correspondiente.
- **Criterios de exclusión:** que no se correspondiera con *E. coli*, que no fuera viable o estuviera contaminado y que no se acompañara del modelo de recolección de datos correspondiente.

IV. 2 Operacionalización de las variables

1. **Especies de *E. Coli*:** cualitativa nominal.

Definición: microorganismo (bacteria) aislado con características culturales y bioquímicas correspondientes al género *E. coli* de la familia *Enterobacteriaceae*.

Medida de resumen: frecuencia relativa.

2. **Servicio médico:** cualitativa nominal

Definición: servicio que se ofrece para la prevención, el mantenimiento, o la recuperación de la salud.

Escala de clasificación: Unidad Cuidados Intensivos (UCI), Medicina, Cirugía, Neonatología, Ginecología, Nefrología, Hematología, Hemodiálisis, Neurocirugía, Oncología, Consulta externa (C/E).

Medida de resumen: frecuencia relativa

3. **Tipo de muestra:** cualitativa nominal.

Definición: porción o volumen de cualquier material (excreciones, secreciones, sangre y sus componentes, líquidos corporales, tejidos y fluidos tisulares) que se obtienen del paciente o portador.⁴⁹ El tipo de muestra está en dependencia del lugar anatómico donde se recolecta. Escala de clasificación: hemocultivo, catéter, líquido cefalorraquídeo (LCR), exudado ótico, secreciones de piel, urocultivo, secreción de herida, esputo y secreción bronquial.

Medida de resumen: frecuencia relativa.

4. **Categorías clínicas de pruebas de susceptibilidad:** cualitativa nominal

Definición: traducción de la respuesta *in vitro* de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, como factor predictivo de eficacia clínica⁴³.

Escala de clasificación:

- Sensible: Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración del antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- Intermedio: Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- Resistente: Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración del antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

5. **Mecanismos de resistencia a betalactámicos:**

• **Producción de BLEE:** cualitativa nominal.

Definición: Enzimas que hidrolizan penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime) y monobactámicos

(aztreonam), pero no las cefamicinas (cefoxitin) ni los carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem) y se inhiben por el ácido clavulánico ⁵¹.

- **Producción de AmpC:**

Definición: Activas frente a penicilinas y cefalosporinas, con capacidad hidrolítica sobre cefamicinas (cefoxitina y cefotetán), oximinocefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona) y monobactámicos (aztreonam) con la excepción de cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) y carbapenémicos ¹⁴.

- **Producción de Carbapenemasas:**

Definición: enzimas que hidrolizan a todos los antibióticos betalactámicos, como penicilinas, cefalosporinas y a los carbapenémicos.

Medida de resumen: frecuencia relativa.

IV.3 Recolección de la información:

A propósito de la investigación, se recogió la información a través del modelo de recolección de datos, clínicos-epidemiológicos de los aislamientos de *E. coli* (Anexo I).

IV.4 Procedimiento de laboratorio:

Conservación de los aislamientos

Todos los aislamientos presuntivos de *E. coli* se conservaron a -70°C (REVCO, EE.UU) en caldo Triptona Soya (CTS) (Biolife, Italia) con glicerol (DIFCO, Alemania) al 15% (V/V), hasta su posterior caracterización microbiológica.

Los aislados se sembraron por estrías a placas de Petri (100 x 15 mm) preparadas en agar Mac Conkey (Biolife). Posteriormente las placas se incubaron a 37°C (Incubadora Memmert, Alemania) durante 18-24 horas. Al crecimiento que se obtuvo en agar Mac Conkey se le realizó la tinción de gram para comprobar pureza del cultivo y prueba de la oxidasa (BDH, Inglaterra). Posteriormente los aislados se identificaron por el sistema API 20 E (BioMérieux, Francia) para enterobacterias, para lo que se siguieron las instrucciones del fabricante ⁶⁶.

Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*

Se llevó a cabo por el sistema automatizado Vitek 2 compact versión 6.019 (bioMérieux, Francia), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se utilizó la tarjeta AST-272 que contiene los siguientes antimicrobianos: ampicilina/sulbactam, piperazilina/tazobactam, cefoxitin, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime, imipenem, meropenem, amikacina, gentamicina, ciprofloxacino y colistina. Además se evaluó la sensibilidad por el método de difusión por disco para trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclina y fosfomicina porque no estaban incluidos en la tarjeta Vitek que anteriormente se mencionó y por tiras de gradiente (*E-test*) para ampicilina que tampoco estaba en la tarjeta que se empleó y para colistina ya que los este equipo no se encuentra entre los métodos recomendados para evaluar la susceptibilidad a la misma. Para la interpretación de los resultados se emplearon las normas del CLSI y EUCAST ambas de 2017.

Método de difusión en agar o Bauer-Kirby:

Preparación del inóculo

A partir de un cultivo puro de 18 a 24h de crecimiento en agar Mc Conkey, se preparó un inóculo de 3 mL en solución salina estéril (Quimefa, Cuba), ajustando la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica (Densimat, bioMérieux, Francia) correspondiente a la escala de 0,5 de la escala de Mac Farland (10^8 - 10^9 UFC). Antes de transcurrir quince minutos del ajuste del inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión bacteriana y se roto varias veces por las paredes del tubo por encima del nivel del líquido con el fin de eliminar el exceso de inóculo. Las placas preparadas previamente con agar Mueller- Hinton (Oxoid Ltd.) fueron sembradas con el hisopo sobre la superficie del medio en tres direcciones, rotando la placa en un ángulo de 60° cada vez sin dejar zona libre, con el propósito de obtener un cultivo homogéneo. Luego de cinco minutos se depositaron los discos con la ayuda de una pinza estéril, presionándolos ligeramente sobre la superficie del agar (máximo seis discos por placa). Las placas se incubaron a 37°C en aerobiosis durante 18-24 horas, colocando las placas en grupos de cuatro y de forma invertida. Al día siguiente se midieron los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco, obteniendo la categoría de sensible (S), resistente (R) e intermedio (I),

teniendo en cuenta los parámetros establecidos por el método de difusión por disco para *Enterobacterias* ^{67, 68}.

Método epsilométrico de tiras de gradiente de concentración (E-test):

Para la preparación del inóculo se procedió de la misma forma que para el método de difusión por disco. Las tiras de *E-test* se mantuvieron treinta minutos a temperatura ambiente antes de su uso y se colocaron sobre la superficie del medio previamente inoculados. La concentración mínima inhibitoria (CIM) del antibiótico se determinó por el punto de corte donde la elipse de inhibición del crecimiento interceptó la escala de la tira de *E-test* (De acuerdo a las instrucciones del fabricante). Debido a que esta prueba corresponde a un gradiente de antimicrobianos continuo, se puede obtener valores de CIM que se encuentran entre dos diluciones, se seleccionó como valor final el mayor. Las cepas se incluyeron en la categoría de sensible (S), resistente (R) e intermedio (I), se tuvo en cuenta los parámetros establecidos para el método de microdilución en caldo para *Enterobacterias* ⁶⁷.

Cepas controles: *E. coli* ATCC 35218 (para evaluar los discos de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas) y *E. coli* ATCC 25922 (para el resto de los discos).

Determinación de la actividad de las betalactamasas:

Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido

Se les realizó a todas las cepas que mostraron sensibilidad disminuida o resistencia a las cefalosporinas. La confirmación del fenotipo productor de BLEE se llevó a cabo mediante el método de disco combinado (CLSI, 2017) que consiste en un antibiograma en placas de agar Mueller-Hinton (Oxoid Ltd.) con discos convencionales de cefotaxima (30 µg) y cefotaxima/ácido clavulánico (30/10 µg) y ceftazidima (30 µg), ceftazidima- ácido clavulánico (30/10 µg) (Oxoid, Ltd.) ⁶⁷.

Interpretación:

- Cepa productora de BLEE: Cuando el halo de inhibición fue ≥ 5 mm en el diámetro para cefotaxima/ácido clavulánico o ceftazidima/ácido clavulánico contra su zona de inhibición cuando se examina la cefotaxima o la ceftazidima sola (sin el inhibidor).

- Cepas no productoras: donde la diferencia de los halos de inhibición no fue mayor ≥ 5 mm.

Cepa control: *K. pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo de BLEE).

Cepa control: *E. coli* ATCC 25922 (control negativo de BLEE).

Detección de betalactamasas de tipo AmpC

La confirmación del fenotipo productor de AmpC se llevó a cabo por el ESBL + AmpC Screen Kit de la casa comercial Rosco Diagnostica, para lo cual se siguieron las instrucciones del fabricante.

Interpretación:

- Cepa productora de betalactamasa de tipo AmpC: Cuando el halo de inhibición sea ≥ 5 mm en el diámetro para cefotaxima/cloxacilina contra su zona de inhibición para cefotaxima (sin el inhibidor).
- Cepa no productora de betalactamasa de tipo AmpC: donde la diferencia de los halos de inhibición no sea ≥ 5 mm.

Cepa control: *E. coli* ATCC 25 922 (Cepa control negativo)

Detección de la actividad cualitativa de carbapenemasas en los aislados de *E.coli*.

Se les realizó a todos los aislamientos que mostraron resistencia a imipenem y/o meropenem. La confirmación del fenotipo productor se llevó a cabo por el método de KPC y MTL Screen Kit de la casa comercial Rosco diagnóstico para lo cual se siguió las instrucciones del fabricante en placas de agar Mueller- Hinton (OxoidLtd).

Interpretación:

- Cepa productora de carbapenemasa de tipo MTL: cuando el halo de inhibición sea ≥ 5 mm en el diámetro para meropenem/dipicolínico contra su zona de inhibición para meropenem (sin el inhibidor).
- Cepa no productora de carbapenemasa de tipo MTL: donde la diferencia de los halos de inhibición no sea ≥ 5 mm.
- Cepa productora de serincarbapenemasa de tipo KPC: cuando el halo de inhibición sea ≥ 5 mm en el diámetro para meropenem/ácido borónico contra su zona de inhibición para meropenem (sin el inhibidor).

- Cepa no productora de carbapenemasa de tipo KPC: donde la diferencia de los halos de inhibición no sea ≥ 5 mm

Cepas control: *K. pneumoniae* ATCC BAA -1705 –MHT (cepa control positivo).

K. pneumoniae ATCC BAA -1706–MHT (cepa control negativo)).

IV.5. Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron almacenados y procesados con el programa Microsoft Excel 2016 y se expresaron en figuras. Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y el porcentaje para el análisis y la presentación de los resultados.

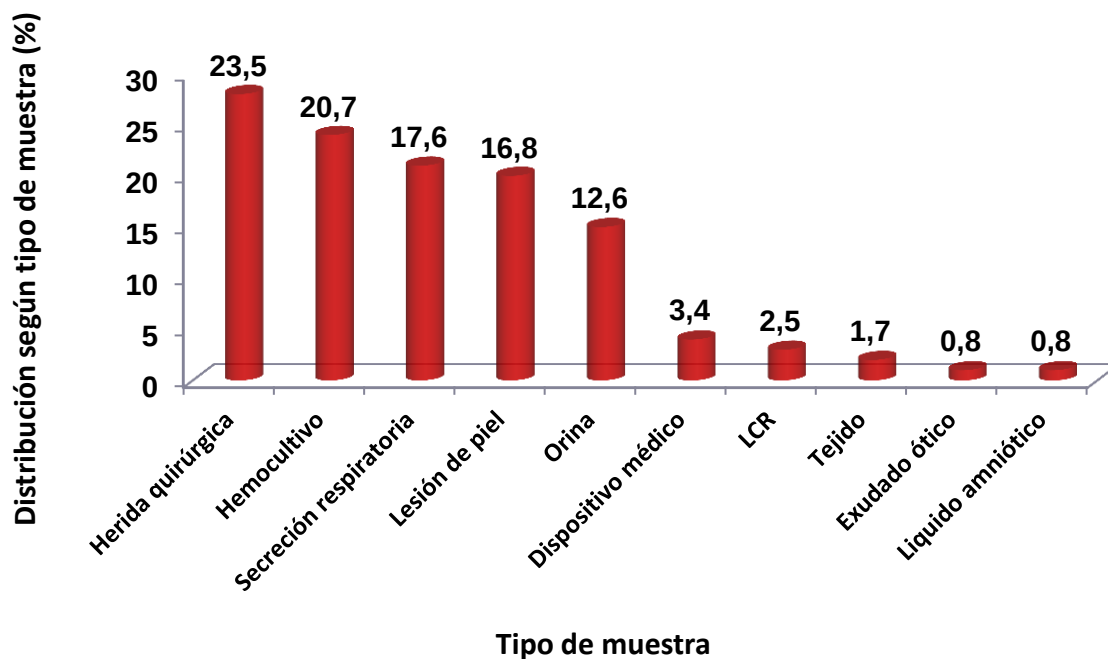
IV. 6. Aspectos éticos

Todos los aislamientos de *E.coli* recibidos en el (LNR-IAAS/IPK) durante el período de estudio se acompañaron de un modelo de recolección de datos (Anexo I). Los datos se recogieron por el personal de Microbiología de cada hospital a partir de la orden del cultivo bacteriológico y fueron confidenciales para este personal y los médicos que indicaron el estudio microbiológico. Esta investigación se aprobó por el Comité de Ética de la Investigación del INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURI” CEI-IPK 46-18 por La Comisión Científica Especializada de Microbiología.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A nivel mundial, *E. coli* se reconoce como un patógeno oportunista, capaz de causar tanto IAAS como infecciones de origen comunitario. Este microorganismo posee la capacidad de originar brotes hospitalarios, de adquirir y de transmitir, diferentes mecanismos de resistencia antimicrobiana por lo cual la identificación del germen es de vital importancia ⁶⁹. Por el impacto negativo que tienen a nivel mundial las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes, la vigilancia de los mismos resulta una alternativa indispensable para la contención de dicha problemática ⁷⁰.

El presente estudio incluyó 119 aislamientos de *E. coli* extraintestinal causantes de infecciones en pacientes ingresados en diferentes hospitales cubanos en el período de mayo 2017- junio 2018. En relación al tipo de muestra, el mayor número de aislamientos se obtuvo de secreción de herida quirúrgica (23,5%), seguido de hemocultivos (20,7%), secreción respiratoria (17,6%), lesión de piel (16,8%) y orina (12,6%), tal como se refleja en la figura 3.



Leyenda: LCR (Líquido Céfal Raquídeo)

Figura 3. Distribución según tipo de muestra de *E. coli* (n=119) causante de infección en hospitales cubanos. IPK, 2018

La piel es una de las barreras de defensa más importantes frente a la infección y la interrupción de su integridad por la cirugía supone un alto riesgo. Las infecciones del sitio quirúrgico constituyen la segunda o tercera causa de infección nosocomial⁷¹.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo que reportan en 2012 Pacheco, y colaboradores en Pinar del Río que en 578 pacientes con IAAS 19% resultó de infección del sitio quirúrgico por *E. coli*⁷². Por otra parte, en 2016 en Santiago de Cuba Paris y colaboradores y Ramírez y colaboradores notifican a *E. coli* como el agente causal más frecuente en infecciones del sitio quirúrgico^{73,74}. De igual manera, en diferentes países de América como México y Colombia, *E. coli* es el microorganismo que se aísla con mayor frecuencia de infecciones de herida quirúrgica^{75,76}.

La infección del torrente sanguíneo es una de las principales causas de morbilidad por enfermedades infecciosas en todo el mundo. *E. coli* extraintestinal es el patógeno que más comúnmente se asocia con esta patología en hospitalizados, en los cuales se reporta como responsable de aproximadamente 30% de los casos de bacteriemia⁷⁵. Adrianzén, en Perú, en un estudio que incluyó 85 pacientes mayores de 16 años con diagnóstico de bacteriemia por *E. coli* informa que 35,3% de las bacteriemias fueron debidas a cepas productoras de BLEE⁷⁷.

Suárez y colaboradores en Cuba en un estudio que incluyó 89 aislados de *E. coli* de pacientes hospitalizados notifican que el hemocultivo con 34,2 % ocupó el segundo lugar en frecuencia después de secreción endotraqueal con 41,5%⁷⁸.

La bacteriemia por *E. coli* se asocia a la prolongación de la estancia hospitalaria y a las dificultades del tratamiento antibiótico como consecuencia de la resistencia bacteriana. Esto trae como resultado el incremento de los costos de atención médica con el consecuente impacto clínico y económico. Una preocupación adicional es el aumento del número de infecciones del torrente sanguíneo por patógenos resistentes a múltiples familias de antimicrobianos (MDR); por ejemplo, las enterobacterias productoras de BLEE. En los últimos años *E. coli* ha sobrepasado a *K. pneumoniae* como principal microorganismo productor de BLEE, en IAAS. La OMS señala que en América Latina las bacteriemias por bacterias gram

negativas MDR representan hasta 40% de los casos y de estos 48% son por *E. coli*^{79,63}.

En la presente investigación el tercer tipo de muestra más frecuente estuvo dado por secreción respiratoria. Este patógeno se encuentra en equipos (ventiladores mecánicos), instrumentos y las manos del personal de salud, siendo los procedimientos invasivos como catéter venoso y urinario, intubación endotraqueal, endoscopia y cirugía, los sitios más colonizados. Los pacientes hospitalizados en las UCI son los que tienen mayor riesgo de desarrollar infección respiratoria por este germen, constituye la primera causa de infecciones en esta población específica, con una prevalencia de 14,8%⁸⁰.

Al respecto, es importante señalar que la tasa de colonización se incrementa hasta tres veces en el ambiente hospitalario, en forma directamente proporcional a la duración de la estancia y especialmente, a la presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre la flora comensal.

En cuanto a las infecciones de piel, en este estudio, un número elevado de los aislados procedió del Instituto de Angiología de la capital donde las muestras recibidas fueron fundamentalmente de lesión de piel, forúnculo y absceso, lo cual justifica el elevado porcentaje de *E. coli* extraintestinal que se obtuvo de este tipo de infección.

Se debe tener en cuenta que las manos de los profesionales de la salud son el principal vehículo para la transmisión del germen durante la manipulación del paciente. La permanencia del germen en las manos y en el ambiente hospitalario se debe a diferentes propiedades y características de esta bacteria, entre las que se encuentran su capacidad de resistir a la desecación en el medio y la de sobrevivir en la piel debido a su cápsula hidrófila; dicha cápsula, además, protege a la bacteria de la fagocitosis por los polimorfonucleares y macrófagos y de los diversos factores bactericidas del hospedero⁸¹.

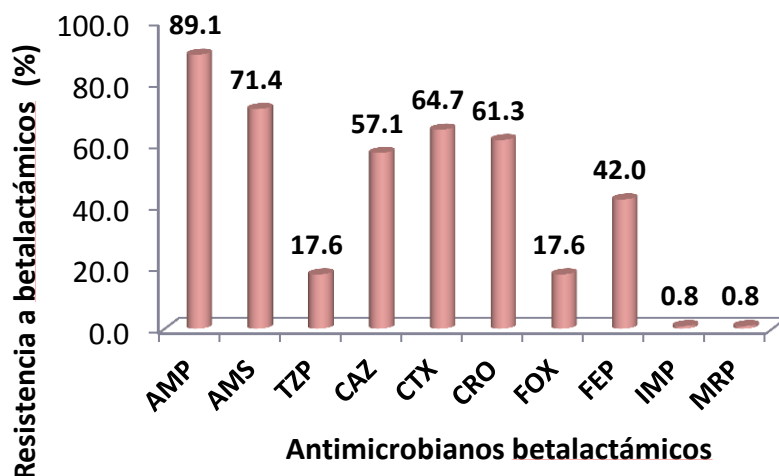
Como se conoce, *E.coli* es por excelencia, agente etiológico de las infecciones urinarias, sin embargo en nuestra investigación no está entre las infecciones más frecuentes. Este resultado puede constituir un sesgo durante el estudio ya que los aislados de *E. coli* uropatógenas que se recibieron de los hospitales de la Red Nacional de Microbiología participantes en la vigilancia de IAAS fueron

fundamentalmente de origen comunitario y en este estudio solo se incluyeron muestras de pacientes hospitalizados. No obstante la orina ocupó el quinto lugar según el tipo de muestra lo que ratifica la importancia de este patógeno como responsable de infecciones del tracto urinario.

La resistencia actual de los gérmenes a los antimicrobianos constituye un serio problema de salud en todo el mundo y un reto aún mayor para el futuro. Desde los últimos 30 años del siglo pasado hasta la actualidad se desarrollan investigaciones numerosas con el fin de conocer los mecanismos y las causas que hacen posible esta resistencia; así como la creación de nuevos productos farmacéuticos y naturales para hacerle frente a esta problemática⁸².

Sin embargo, el uso indiscriminado e irracional por el hombre de los antimicrobianos, constituye la principal causa de la gravedad de la situación que hoy se presenta. El incremento de la resistencia microbiana por la presión selectiva que ejerce el uso de antibióticos a gran escala, favorece la propagación de cepas que portan mecanismos de resistencia a múltiples antimicrobianos lo cual, en muchas ocasiones, dejan al médico de asistencia prácticamente sin alternativas para el tratamiento de las infecciones⁸².

La figura 4 muestra el comportamiento de los aislados de *E. coli* extraintestinal objetos de estudio, frente a diversos antibióticos betalactámicos. Los porcentajes de resistencia que se encontraron para ampicilina (con y sin inhibidor de betalactamasas), así como para cefotaxima y ceftriaxona son elevados (superiores a 50%).



Leyenda: ampicilina (AMP), ampicilina-sulbactam (AMS), piperacilina/tazobactam (TZP), ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), cefoxitin (FOX), cefepime (FEP),

Figura 4. Resistencia de los aislados de *E. coli* extraintestinal (n=119) procedentes de hospitales cubanos a los antimicrobianos betalactámicos. IPK, 2018.

Los resultados de la presente investigación evidencian que tanto ampicilina como su combinación con inhibidores de betalactamasas (ampicilina/sulbactam) no se deben utilizar en el tratamiento empírico de las infecciones por *E. coli* de origen hospitalario. Estos resultados concuerdan con lo que reporta Suárez y Argüez en estudios puntuales en La Habana y Artemisa respectivamente, quienes informan que más de 50% de los aislados de *E. coli* de ITUs adquirida en el hospital es resistente a estos antimicrobianos^{78,87}.

Los resultados de un estudio en el Hospital Hermanos Ameijeiras en La Habana que incluyó 89 aislados de *E. coli* nosocomial, revelan una resistencia elevada a ampicilina-sulbactam (44.9%) y a las cefalosporinas, con porcentajes superiores a 45%⁷⁸. De igual forma, estos resultados son similares a los reportados por Ramírez y colaboradores en Santiago de Cuba en 2016 los que obtuvieron 50% de *E. coli* resistentes a las cefalosporinas de tercera generación⁷⁴.

La resistencia de *E. coli* a cefalosporinas es un problema creciente en la práctica clínica debido a que el manejo de las infecciones más graves se basa en esquemas

de tratamiento más largos y complejos. La aparición de enterobacterias resistentes a cefalosporinas de amplio espectro y aztreonam se ha convertido en un gran problema de salud pública mundial, lo cual se debe en gran medida a la producción de BLEE⁸³.

En la actualidad el uso prolongado de las mismas ha conllevado a que contemos con muy pocas opciones terapéuticas para los pacientes con infecciones por patógenos resistentes a estos antimicrobianos⁸³. En Colombia en 2017, Pallares y colaboradores reportan que el uso de betalactámicos en el período post-intervención quirúrgica incrementó la proporción de enterobacterias resistentes a cefalosporinas y a piperazilina/tazobactam, principalmente, *E. coli*⁸⁴. En la India Tewari y colaboradores 2018 encontraron 38% y 35% de resistencia a cefotaxima y ceftazidima respectivamente en 203 aislados de *E. coli*⁸⁵.

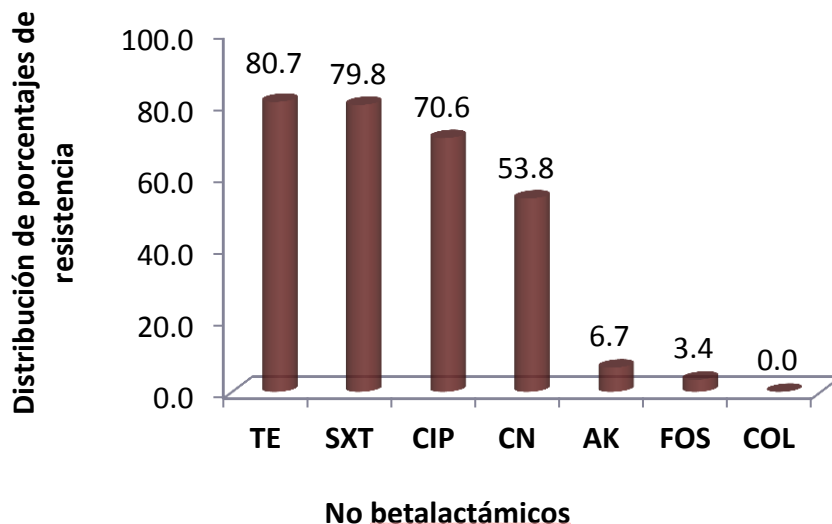
Con respecto a cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona son cefalosporinas de tercera generación, de administración parenteral y por ende de uso hospitalario. Los resultados de esta investigación están en concordancia con lo que se reporta en la literatura internacional. Pues, son numerosos los reportes de *E. coli* con porcentajes elevados de resistencia a las cefalosporinas y en su mayoría como consecuencia de la producción de BLEE⁸⁶.

En lo que respecta a cefoxitin estos resultados está muy de acorde con los que informan Argüez y colaboradores en 2015 en Cuba en la provincia de Artemisa con un 11,7% de resistencia⁸⁷. No obstante, a pesar de que menos del 20% de los aislados fue resistente, existen pocos reportes sobre la efectividad del uso de las cefamicinas en el tratamiento de las enterobacterias⁸⁸. Además, existen evidencias de la selección de mutantes de resistencia deficientes en porinas durante el tratamiento, por lo que no se recomiendan como tratamiento de primera línea en infecciones complicadas del tracto urinario⁸⁹.

Los carbapenémicos, con 0.8% de aislados resistentes, continúan siendo la principal alternativa terapéutica frente a *E. coli* extraintestinal, por lo que se debe evitar su utilización indiscriminada para proteger su eficacia en el manejo de pacientes críticos⁹².

Meropenem está indicado como terapia empírica previo a la identificación del microorganismo causal, o bien para infecciones causadas por una o más bacterias susceptibles tanto en adultos como en niños en distintas localizaciones, que incluyen la neumonía nosocomial y neumonías adquiridas en la comunidad severas, infecciones intrabdominales complicadas, septicemia, neutropenia febril, infecciones complicadas de tejidos blandos, meningitis bacteriana, infecciones complicadas del tracto urinario e infecciones ginecológicas^{90,91}.

La figura 5 muestra el comportamiento de los aislados de *E. coli* extraintestinal frente a diversas familias de antimicrobianos no betalactámicos. Como se puede apreciar los mayores porcentajes de resistencia fueron para tetraciclina 80,6%, sulfametoxazol/trimetoprim (sulfaprim) 79,8 % y ciprofloxacino 70,6 %.



Leyenda: fosfomicina (FOS), ciprofloxacina (CIP), meropenem (MRP), imipenem (IMP), colistina (COL), gentamicina (CN), amikacina (AK), sulfametoxazol/trimetoprim(SXT), tetraciclina (TE)

Figura 5. Resistencia a los no betalactámicos de los aislados *E. coli* extraintestinal (n=119) causantes de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2018

Se considera que las tasas de resistencia superior al 20%, son una limitante para seleccionar un antibiótico empíricamente como de primera línea. Por tanto los resultados del presente estudio ratifican la baja eficacia de tetraciclina y sulfaprim para el manejo de las infecciones por *E. coli* por lo que no son recomendables en la

terapia empírica, a menos que la susceptibilidad a estos esté previamente demostrada⁹².

Getenet y Tsage (2011) en un hospital de Etiopía, informa niveles de resistencia de 50% para tetraciclina y un 75% para sulfaprim en un estudio de ITU en pacientes hospitalizados⁹⁴; situación similar reporta Mohammad y colaboradores en Iran, en 2012, con un 28% y un 44% de los aislamientos de *E. coli* resistentes a tetraciclina y sulfaprim, respectivamente, en pacientes hospitalizados con infecciones por enterobacterias⁹⁵.

Además de la resistencia para trimetoprim sulfametoxazol y tetraciclina, son preocupantes los niveles elevados de resistencia frente a quinolonas en los aislados objetos de estudio. Por otra parte, los reportes de aislados de origen hospitalario de *E. coli* uropatógena altamente resistente a estos fármacos son frecuentes en la literatura internacional⁹³.

Las quinolonas son un grupo de antimicrobianos sintéticos de amplio espectro, cuyo blanco de acción es la síntesis del ADN. Se utilizan ampliamente para el tratamiento de infecciones tanto intra como extrahospitalarias. Las mismas son un recurso de suma importancia para países en vías de desarrollo debido a que reducen drásticamente el costo del tratamiento⁹⁶.

No obstante, a nivel mundial, en las últimas décadas son numerosos los reportes de porcentajes elevados de resistencia en enterobacterias tanto para quinolonas como para fluoroquinolonas, por lo que la OMS hace un llamado a disminuir el uso de estos antimicrobianos con vistas a mejorar su eficacia¹.

Un estudio realizado por Ramírez y colaboradores en Cuba informan 68% de resistencia a ciprofloxacino en aislamientos de *E. coli* multidrogorresistente⁸³. En España González y colaboradores informan 91,67% y 58,33% de *E. coli* extraintestinal resistente a ciprofloxacino y sulfametoxazol/trimetoprim⁹⁷.

El consumo de tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim y ciprofloxacino en Cuba pudiera ser la causa de la resistencia elevada en los aislados de *E. coli* objetos de estudio, ya que estos fármacos ejercen presión selectiva de cepas resistentes⁹⁸.

En relación a los aminoglucósidos en el presente estudio la resistencia encontrada para la gentamicina fue mayor que la encontrada para la amikacina. Sin embargo,

para este último algunos aislados presentaron patrones de sensibilidad intermedia, lo que sugiere un aumento de las dosis habituales de tratamiento, pero se debe tener en cuenta gran cantidad de efectos adversos, lo cual limitaría esta opción terapéutica⁹⁹.

Marrero y colaboradores (2013), en el Hospital Juan Bruno Zallas de la provincia de Santiago de Cuba, notifican un porcentaje elevado de resistencia para aminoglucósidos en *E. coli* (60.0% y 14.9%, gentamicina y amikacina respectivamente)⁸¹.

Argüez y colaboradores en Artemisa encontraron resistencia a gentamicina y amikacina 55% y 5,8% respectivamente⁸⁷. Los aminoglucósidos y en especial la amikacina, constituye una eficiente alternativa tanto en monoterapia o como en terapia combinada logrando un efecto sinérgico con los betalactámicos. La utilización de este antibiótico solo se limitaría en el caso de pacientes con alteraciones renales y aun así, se valoraría el riesgo beneficio de su empleo¹⁰⁰.

En un estudio que incluyó seis hospitales de América, Gaitán y colaboradores (2009), informan que 20% y 40% de los aislamientos de *E. coli* uropatógena causante de IAAS fueron resistentes a la amikacina y la gentamicina respectivamente¹⁰¹.

Fosfomicina se ha utilizado, principalmente en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario. Las tasas de resistencia de *E. coli* todavía se mantienen en niveles extremadamente bajos, tiene una excelente actividad contra este patógeno. Es importante destacar que la fosfomicina es altamente eficaz contra *Enterobacteriaceae* productoras de (BLEE)¹⁰².

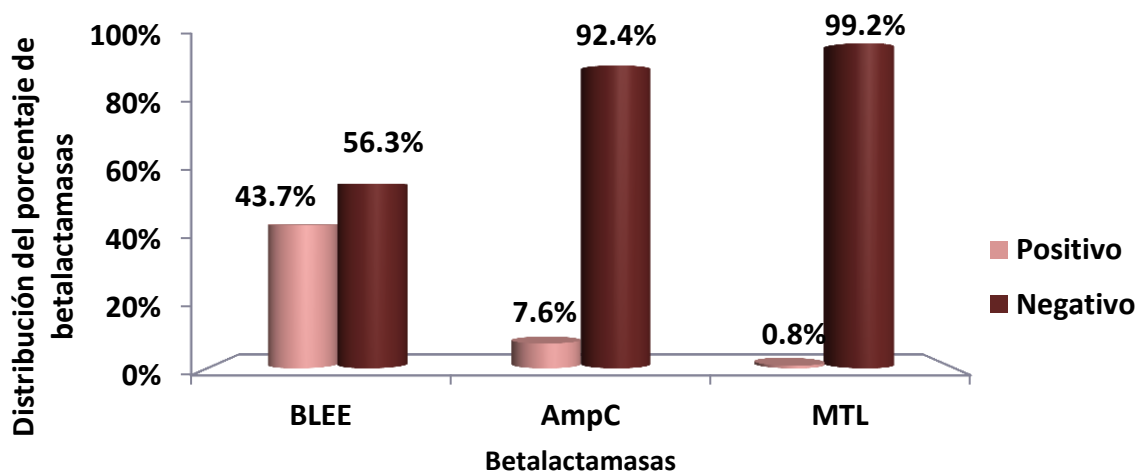
La resistencia a las polimixinas es infrecuente quizás por el tiempo que estuvo en desuso. No obstante, con el incremento del uso de las mismas en las últimas décadas, desde el primer hallazgo en 2015 de la resistencia transferible medida por el gen *mcr-1* que inició por el continente asiático, cada vez son más frecuentes los reportes de este mecanismo a nivel mundial incluida Latinoamérica⁶⁵. Por tanto, el monitoreo continuo de la resistencia en enterobacterias a colistina, es imprescindible.

Colistina integra el grupo de antimicrobianos que definen la pandrogresistencia. Por otra parte, la resistencia a este antimicrobiano representa una amenaza para la

salud pública, puesto que colistina se utiliza en la práctica médica como una de las últimas alternativas para el tratamiento de gérmenes multirresistentes ⁶⁵. A pesar, de que en la presente investigación no se detectaron cepas resistentes a este fármaco desde que se reportó la resistencia transferible mediada por el gen *mcr-1* y sus variantes, es indispensable mantener el monitoreo continuo de la vigilancia de resistencia a este fármaco ^{65,103}.

Desde el descubrimiento de la primera BLEE en 1983, continuaron emergiendo nuevas enzimas capaces de hidrolizar un espectro más amplio de betalactámicos entre ellas, las carbapenemasas. La identificación de estos fenotipos es una prioridad en los laboratorios de microbiología clínica, ya que, su conocimiento contribuye en la elección del antibiótico más apropiado para el tratamiento de las infecciones y permite instaurar medidas adecuadas de aislamiento, que evitaría la dispersión del microorganismo entre pacientes, en el ambiente hospitalario y la comunidad⁹⁹.

La figura 6 muestra la distribución de betalactamasas en los aislados de *E. coli* objetos de estudio, donde se observa producción de BLEE en 43,7% de los mismos, AmpC en 7,6% y MTL en 0,8%.



Leyenda: Betalactamasa de espectro extendido (BLEE), betalactamasa de tipo AmpC (AmpC) y metalobetalactamasa (MTL)

Figura 6: Mecanismos de resistencia a betalactámicos en *E. coli* (n=119) causantes de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2018

La familia *Enterobacteriaceae* constituye el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gram negativos de importancia médica. En las últimas décadas, estos bacilos adquieren mayor importancia como agentes causantes de infecciones intrahospitalarias, debido a que el desarrollo de múltiples mecanismos de resistencia a los antimicrobianos es un importante problema de salud que afecta a la mayoría de los países a nivel mundial¹⁰⁴.

En enterobacterias la resistencia a múltiples antibióticos es alta y las BLEE son el mecanismo más importante por su amplia distribución. Además, los genes que codifican estas enzimas son transmisibles por plásmidos y por lo general se acompañan de corresponsencia a otros antibióticos, lo cual limita las opciones terapéuticas.

En Cuba, Quiñones y colaboradores en un estudio que incluyó 204 aislados de *E. coli* por un período de dos años detectan la producción de BLEE en 57% de los mismos con predominio del tipo CTX-M (70%). Además González y colaboradores en un hospital de La Habana evidencian la gran variabilidad genética de BLEE en 328 aislados de *E. coli* extraintestinal¹⁰⁵.

El uso indiscriminado de antibióticos en seres humanos hace que se vea facilitada la diseminación de bacterias multirresistentes, en especial las infecciones causadas por bacterias productoras de BLEE y otras bacterias gram negativas multirresistentes. Las infecciones por *E. coli* con BLEE han experimentado importantes cambios epidemiológicos en los últimos tiempos y actualmente la atención se centra en el aumento de infecciones y colonizaciones en pacientes en instituciones sanitarias¹⁰⁶.

La principal repercusión clínica de las BLEE parece ser la mayor frecuencia con que los pacientes con infecciones graves reciben un tratamiento empírico inadecuado, de ahí la importancia de identificar qué factores predicen la presencia de una cepa con BLEE para poder ofrecer un tratamiento adecuado lo antes posible¹⁰⁶.

En cuanto a las betalactamasas de tipo AmpC aunque su prevalencia es menor que las BLEE, las implicaciones terapéuticas son más graves. Las mismas, además de conferir resistencia a las cefalosporinas son también resistentes a la combinación de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas y solamente quedan disponibles

los carbapenémicos¹⁰⁷. Liu y colaboradores (2016), en China, en un estudio que incluyó 96 aislados de *E. coli* de diferentes hospitales del país reportan que 12,5% de los mismos fueron productores de AmpC¹⁰⁸. Sin embargo, Tewari y colaboradores en la India en un estudio que incluyó 203 aislados de este patógeno procedentes de diferentes muestras clínicas reportan porcentajes superiores (34%)⁸⁵. Esta discrepancia evidencia la diferencia en la epidemiología de las betalactamasas que existen entre las diferentes regiones del mundo.

Los carbapenémicos son los antibióticos de primera línea recomendados para el tratamiento de las infecciones graves asociadas a los cuidados de la salud y con frecuencia, son la única opción terapéutica disponible contra enterobacterias multirresistentes productoras de BLEE y AmpC. En los últimos años, la emergencia de la resistencia a los carbapenémicos genera gran alarma y preocupación por su rápida dispersión entre los bacilos gram negativos¹⁰⁷.

E. coli productora de carbapenemasa de tipo NDM fue descrita inicialmente en 2009 en Suecia en pacientes provenientes de la India y desde entonces son múltiples los reportes de esta enzima alrededor del mundo, con predominio en el continente asiático⁹⁸. En Latinoamérica, desde el primer reporte en Guatemala, son varios los países que notifican la circulación de la misma, incluido Cuba, donde el LNR-IAAS reporta que esta es la carbapenemasa más prevalente en los bacilos gram negativos resistentes a carbapenémicos¹¹⁰.

A modo de resumen *E. coli* extraintestinales un importante patógeno humano que desafía a la necesidad continua, microbiológica, epidemiológica. Afecta tanto a todos los servicios hospitalarios y causa diversas manifestaciones clínicas principalmente infecciones invasivas. Los elevados porcentajes de resistencia y en particular la detección de fenotipos de resistencia a betalactámicos por la producción de BLEE, de betalactamasas de tipo AmpC o pero aún de carbapenemasas avizoran un incremento en los próximos tiempos de las infecciones por este patógeno con mayor riesgo de fallo terapéutico.

VI. CONCLUSIONES

1. *E. coli* extraintestinal constituye un patógeno de impacto clínico elevado en hospitales cubanos siendo causa importante de infecciones invasivas como las asociadas al sitio quirúrgico, el torrente sanguíneo e infecciones respiratorias.
2. *E. coli* extraintestinal circula con una resistencia elevada a múltiples familias de antimicrobianos a excepción de las polimixinas y los carbapenémicos lo que evidencia la necesidad del monitoreo sistemático de la susceptibilidad en este patógeno, el uso racional de antibióticos y el fortalecimiento del programa de prevención y control de las IAAS.
3. El hallazgo de una cepa productora de carbapenemasa tipo metalobetalactamasa constituye una nueva alerta epidemiológica en el país, lo que unido a la circulación elevada de cepas productoras de BLEE pone en riesgo la efectividad clínica de los betalactámicos frente al género *Escherichia* y otros bacilos gran negativos en los hospitales por el carácter transferible de estos mecanismo de resistencia.

VII. RECOMENDACIONES

- Informar a las autoridades de salud pública sobre la prevalencia de mecanismos emergentes de resistencia antibiótica a betalactámicos de *E. coli* extraintestinal en hospitales cubanos, hallazgos de gran relevancia clínicas, epidemiológicas y terapéutica.
- Realizar la caracterización genética de las cepas productoras de BLEE, AmpC y de Carbapenemasa tipo MTL para una mejor comprensión de la epidemiología de la resistencia en este patógeno.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. (2015). Carga mundial de infecciones asociadas a la atención sanitaria. Obtenido de http://www.who.int/gpsc/country_work/burdenhcai/es/
2. Garay, U. (2014). Factores de riesgo relacionados con infección del sitio quirúrgico en cirugía electiva. Obtenido <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc2014/cc141g.pdf>
3. INS. (2015). Instituto Nacional de Salud. Qué son las IASS? Obtenido de <http://www.ins.gov.co/iaas/paginas/que-son-las-iaas.aspx>
4. OMS. (2016). Una atención limpia es una atención más segura. Recuperado el 15 de enero de 2016, de <http://www.who.int/gpsc/background/es/>
5. López-Herrera JR, Méndez-Cano AF, Bobadilla-Espinosa RI, Maldonado-Torres L. Infecciones nosocomiales, mortalidad atribuible y sobre estancia hospitalaria. *Rev Enferm. Inst. Mex. Seguro Soc.* 2012; 20 (2): 85-90.
6. Pujol, M. (2013). Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. Obtenido de <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-epidemiologia-general-las-infecciones-nosocomiales>.
7. Săndulescu O. Global distribution of antimicrobial resistance in *E. coli*. *J Contemp Clin Pract.* 2016; 2(2):69-74. doi: 10.18683/jccp.2016.1015Anuario Estadístico de Salud. 2015. Ministerio de Salud Pública. Dirección de Registros médicos y estadísticas de salud. ISSN versión electrónica 1561-4433.
8. Rottier WC, Ammerlaan HSM, Banten MJM. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteremia caused by extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* and patient outcome: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1311-20.
9. Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gram negativos. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2da ed. 2011 [citado 2 Nov 2012];(38); Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/prctodown.ht>

10. Gür D, Gülay Z, Akan OA, Akta^o Z, Kayacan CB, Cakici O, et al. Resistance to newer betalactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study. *Mikrobiyol Bul.* 2008;42(4):537-44.
11. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gram negativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(7):524-34.
12. ECDC. Annual epidemiological report 2014-Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. [Fecha de consulta: noviembre de 2015] Disponible en:<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report.pdf>
13. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Badal RE, Cantón R, Baquero F. Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with extended-spectrum betalactamases in community and hospital associated intra-abdominal infections in Europe: results of the 2008 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3043-6.
14. Hawser SP, Bouchillon SK, Lascols C, Hackel M, Hoban DJ, Badal RE, Woodford N, Livermore DM. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolates from intra-abdominal infections and molecular characterization of ertapenem resistant isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3917-21.
15. Escobar JA, Olarte NM, Castro B, Valderrama IA, Garzón MI, Martínez L, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1957-60.
16. Solé M, Pitart C, Roca I, Fàbrega A, Salvador P, Muñoz L, et al. First description of an *Escherichia coli* strain producing NDM-1 carbapenemase in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:4402-4.
17. OMS. Alerta epidemiológica: Primer hallazgo de New delhi Metalobetalactamasas (NDM) en América Latina. 2011. p. 1-4.
18. Circulación de carbapenemasas tipo Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM) en Colombia 2012-2014. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2014.
19. Castro N, Damaris E, Moreno M, Alarcón L. (2000). Caracterización molecular de β lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*. *Enf. Inf. Microbiol.* 28(3):114-120.

20. Castellani A, Chalmers AJ. Manual of Tropical Medicine. 3ª ed. Editorial Williams Wood; 1919.
21. Dalet, F. (1998). Panorámica De Las Infecciones Urinarias De Vías No Complicadas. Barcelona: Mayo.
22. Murray, P., Rosenthal, K. & Pfaller, M. 2006. Microbiología médica. 7ma edición. Madrid – España. Gea consultoría Editorial, S.L.L. 963 p.
23. Romero Cabello, R., 2007. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. En: Microbiología y Parasitología Humana. México: Editorial Médica Panamericana.
24. Echevarri Toro LM, Cataño Correa JC. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario. IATREIA. 2010;23(3):240-9.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States. Department of Health and Human Services. 2013; Atlanta, GA.
26. ECDC. Annual epidemiological report 2014-Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. Disponible en: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial_resistance_annual-epidemiological-report.pdf
27. Informe Anual RHOVE 2014. México: Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología; 2014. www.epidemiologia.salud.gob.mx
28. Robinson Pacheco LO, Correa AM, Villegas MV. Prevalencia de bacterias gram negativas portadoras del gen *bla KPC* en hospitales de Colombia. Biomédica. 2014;34(Supl.1):81-90.
29. Soria C, Nieto N, Villacís JE, Lainez S, Cartelle M. Brote por *Serratia marcescens* en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Guayaquil-Ecuador. RevChilInfectol. 2016;33(6):703-5.
30. Garza-González E, Mendoza-Ibarra S, Llaca-Díaz J. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae isolates at a tertiary care centre in Monterrey, México. J Med Microbiol 2011;60:84-90
31. Ruiz-Garbajosa P, Hernández-García M, Beatobe L, Tato M, Méndez MI, Grandal M, et al. A single-day point-prevalence study of faecal carriers in long-term care hospitals in Madrid (Spain) depicts a complex clonal and polyclonal dissemination of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2016;71:348-52.

32. Theuretzbacher U, Van Bambeke F, Cantón R, Giske CG, Mouton JW, Nation RL, et al. Reviving old antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:2177-81.
33. O'Neill Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. Wellcome Trust. HM Government. Mayo 2016. Disponible en: <http://amr-review.org/>
34. García Apac C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. *Acta Med Per.* 2012;29(2):99-100.
35. Soria C, Nieto N, Villacís JE, Lainez S, Cartelle M. Brote por *Serratia marcescens* en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Guayaquil-Ecuador. *Rev Chil Infectol.* 2016;33(6):703-5.
36. Begué Dalmau N, Goide Linares E, Frías Chang N, Domínguez Duany E, Leyva Frías R. Caracterización clínico epidemiológica de las infecciones asociadas a la atención sanitaria en niños y adolescentes. *MEDISAN.* 2015 [citado 13 Nov 2017];19(1).
37. Lizbeth P. Determinación de los mecanismos de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* realizados en el Laboratorio Nacional de Salud durante el período 2002-mayo 2004. Tesis. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala 2006.
38. Cabrera Alaix C, Mejía Otero C. Los mecanismos de resistencia a los antibióticos: ¿Podremos lograr un equilibrio entre el uso y abuso de los antibióticos y así lograr la disminución de la resistencia bacteriana a estos medicamentos? *Revista Colombiana de Salud Libre.* 2008 junio-enero;3(8):83-104.
39. Zallas Illas A. Caracterización microbiológica de *Klebsiella* aisladas en hospitales cubanos. Tesis para optar por el grado de Máster en Bacteriorología Micología. La Habana, Cuba: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" 2012.
40. Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma en enterobacterias. *Rev Enferm Infecc y Microbiol Clin.* 2010;28(9):638-45.
41. García Giro SB, Rojas Velásquez M, Rojas Velásquez M, Calderón Badia B, Quiñones Pérez D, Abreu Capote ME. Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes con infecciones intra y extrahospitalarias. *Correo Científico Médico.* 2012;1(1).
42. Cercenado E. Impacto pronóstico de las betalactamasas de espectro extendido. *Rev Clin Española.* 2011;211(3):139-41.
43. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Frontiers in Microbiology.* 2012;3(110):1-19.

44. Echevarri Toro LM, Atehortúa Muñons SL, Robledo Restrepo J. *Klebsiella pneumoniae* y betalactamasas. Un problema creciente. Medicina UPB. 2009;28(2):135-41.
45. Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211-33.
46. Martínez-Martínez L, Calvo J. El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos gram negativos. Rev Enferm Infecc y Microbiol Clin 2010;28(2):25-31.
47. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gram negativos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(7):524-34.
48. Metwal y Younes A. Molecular diversity and genetic organization of antibiotic resistance in *Klebsiella* species. Tesis para optar por el grado de Doctor en Filosofía. Edinburgh, Escocia: Universidad de Edinburg 2010.
49. Hoenigl M, Valentin T, Zarfel G, Wuerstl B, Leitner E, Salzer HJF, et al. Nosocomial Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *Klebsiella oxytoca* in Austria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abril, 2012;56(4):2158–61.
50. Dahmen S, Mansour Wn, Charfi K, Boujaafar N, Arlet G, Bouallegue O. Imipenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Is Associated to the Combination of Plasmid-Mediated CMY-4 AmpC betalactamase and Loss of an Outer Membrane Protein. Microbial Drug Resistance. 2012;18(5):479-81.
51. Galán J-C, González Candelas F, Rolain J-M, Cantón R. Antibiotics as selectors and accelerators of diversity in the mechanisms of resistance: from there is to metogenetic plasticity in the betalactamases world. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy. Febrero, 2013;4(9):1-17.
52. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase producing Enterobacteriaceae. Emerging Infectious Diseases. Octubre, 2011;17(10):1791-9.
53. Fu Y, Zhang W, Wang H, Zhao S, Chen Y, Meng F, et al. Specific patterns of gyr A mutations determine the resistance difference to ciprofloxacin and levofloxacin in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. BMC Infectious Diseases. 2013;13(8):2-6.
54. El gorriaga Islas E, Guggiana Niloa P, Domínguez Yévenes M, González Rochaa G, Mella Montecinosb S, Labarca Labarcac J, et al. Prevalencia del determinante de resistencia plasmídica a quinolonas ac (6')-Ib-cr en cepas de *Escherichia coli* y

- Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE aisladas en diez hospitales de Chile. Rev En ferm Infecc y Microbiol Clin. 2012;30(8):466-8.
55. Mella S, Sepúlveda M, González G, Bellot H, Domínguez M, Zemelman R, et al. Aminoglucósidos aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Rev Chil de Infect. 2004;21(4):330-8.
56. Suárez Trueba B. Detección fenotípica de los mecanismos de resistencia en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* multidrogorresistentes. Tesis para optar por el título de especialista en microbiología. La Habana, Cuba: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí 2011.
57. L.F. Higueta-Gutiérrez, et al. Brotes hospitalarios de bacterias resistentes a colistina: revisión sistemática de la literatura. Infectio 2017; 21(4): 214-222.
58. Bakour S, Olaitan AO, Ammari H, Touati A, Saoudi S, Saoudi K, et al. Emergence of Colistin and Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. Microb Drug Resist. 2015; 21(3): 279-85. doi: 10.1089/mdr.2014.0214 14.
59. Lim LM, Ly N, Anderson D, Yang JC, Macander L, Jarkowski A 3rd, et al. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. Pharmacotherapy. 2010; 30(12): 1279-91. doi: 10.1592/phco.30.12.1279.
60. Surbhi Malhotra-Kumar y cols. Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. Lancet Infectious Diseases; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00014-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00014-1). 15
61. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. Clin Infect Dis 2016; 62 (10): 51-77.
62. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas, 10 de junio de 2016, Washington, D.C. OPS/OMS. 2016.
63. Surbhi Malhotra-Kumar y cols. Colistin resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. Lancet Infectious Diseases; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00014-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00014-1). 15
64. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina,

- implicaciones para la salud pública en las Américas, 10 de junio de 2016, Washington, D.C. OPS/OMS. 2016.
65. Mac Faddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. La Habana: Ciencias Médicas; 2006.
66. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17th informational supplement. CLSI document M100-S20. Table 1 *Enterobacteraceae* M02-M07- Minimal Inhibitory Concentration: Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
67. EUCAST 2018. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters v 6.0.
68. Áreas León G. Características clínicas y frecuencia de Betalactamasas de Espectro Extendido en aislamientos de enterobacterias causantes de IVU de origen comunitario en pacientes adultos de siete hospitales pertenecientes a la red GREBO 2009-2010. Tesis: Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia 2011.
69. Wollheim C, F Guerr IM, Conte VD, Hoffman SP, Schreiner FJ, L Delamare AP, et al. Nosocomial and community infections due to class A extended spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in southern Brazil. Braz J Infect Dis 2011; 15(2):138-143. 2011;15(2):138-43.
70. Espinosa Rivera F. Patógenos multirresistentes emergentes. Hospital “Hermanos Ameijeiras”. 2009. Rev Act Médica. 2011;13(1):38-45.
71. Pacheco M., León E. Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los años 2005 – 2009. Ecuador. Revista Médica Vozandes. 2011, vol. 22, n° 1, p. 15-21.
72. Martha Paris Licorish DMCMC, Lic. Zamira Maceira Soto, Dra. Ailet Castillo Amaro y Téc. Elvis Leyva Founier. Caracterización clínica y microbiológica de niños y adolescentes con infecciones asociadas a la atención sanitaria. Hospital Infantil Sur Docente “Dr Antonio María Béguez César”, Santiago de Cuba, Cuba 2016;22(5):508.
73. Yamilia Ramírez Salinas AZI, Solmary Infante del Rey, Yanilia M. Ramírez Salinas, Iveet Mesa Castellanos, Vicente Montoto Mayor Infección del sitio quirúrgico en púerperas con cesárea. Hospital General Clínico-Quirúrgico "Dr Juan Bruno Zayas Alfonso" Santiago de Cuba Cuba. 2016;vol.42 (no.1).

74. Latife S, Blanca C, Sergio A, et al. Epidemiología de las bacteriemias por *Escherichia coli* en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México: AnMed (Mex) 2018; 63 (2): 91-95.
75. Carlos H, Karen M, Jorge A, et al. Impacto de la infección nosocomial en un hospital de Bogotá, Colombia: Rev Chilena Infectol 2015; 32 (1): 25-29.
76. Adrianzén D, Arbizu A, Ortiz J, Samalvides F. Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. productoras de betalactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2013; 30(1):18-25.
77. Suárez B. T., Samper, Y. M., Rivera, F. E., Casares, M. H., Rodríguez, N. L. & Batista, M. L. M. 2014. Susceptibilidad antimicrobiana y mecanismos de resistencia de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos en un hospital de tercer nivel Revista Cubana de Medicina 2014; 53(1): 3-13.
78. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, et al. Colistin resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;59:786-90.
79. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. Clin Infect Dis. 2005; 40(9): 1333-41.
80. Marrero Rodríguez H, Quintero Salcedo S, Blanco Zambrano GL, Duarte Grandales S. Situación de la sepsis intrahospitalaria: subregistro e incumplimiento de las normas higiénico sanitarias establecidas. MEDISAN. 2013;17(3):462-7.
81. Bushnell G, Mitrani Gold F, Mundy LM. Emergence of New Delhi metallo β -lactamase type 1-producing *Enterobacteriaceae* and non *Enterobacteriaceae*: Global case detection and bacterial surveillance. Int J Infect Dis. 2013;17: e 325-33.
82. García Castellanos T, Castillo Marshal A, Salazar Rodríguez D. Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gram negativas. Rev Cub Salud Pública. 2014;40(1):129-135.
83. Christian J Pallares, Juan C. Cataño Impacto del uso racional de antimicrobianos en una clínica de tercer nivel en Colombia. Rev Chilena Infectol 2017;34(3):205-11.
84. Rituparna Tewari SDM, Feroze Ganaie, Nimita Venugopal, Sangita Das, Rajeswari Shome, Habibur Rahman, Bibek R. Shome. Prevalence of extended spectrum β -lactamase, AmpC β -lactamase and metallo β -lactamase mediated resistance in

- Escherichia coli* from diagnostic and tertiary healthcare centers in south Bangalore, India. 2018; 6(4):1308.
85. Sucapuca, F. 2016. Sensibilidad antibiótica de *Escherichia coli* causante de infección del tracto urinario en multigestas hospitalizadas en el servicio de ginecología y obstetricia del hospital de Ventanilla, enero 2015 – septiembre 2015.
86. Argües, A, Chávez, A. R. y Hernández, N. R. 2015. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. Rev Cub Med Int Emerg 14, 16-29.
87. Martínez, L. 2016b. Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. REV MED VALDECILLA, 1.
88. Casellas, J. 2011. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Pub 30, 519-28.
89. Gádor Manrique MF, González A, Aceituno I, González V, Redondo R, Mauro Aisa I, et al. Incidencia de infección nosocomial quirúrgica en ginecología y obstetricia en un hospital comarcal. Rev Chil Obst Ginecol. 2013; 78(5):344-5. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0717-75262013000500003&script=sci_arttext
90. Gastelo-Acosta RM, Díaz-Sipi3n RS, Maguiña Vargas C. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional de Lambayeque, diciembre 2014 – julio 2015. Acta Med Peru. 2016;33(3):183-8.
91. Marrero J., Leyva, M., Castellanos, J. 2015a. Infección del tracto urinario y resistencia antimicrobiana en la comunidad. Rev Cub de MGI, 31, 78-84.
92. Soba, M. H., Magu;, J., Idume;, J., C;, N. Garga, M. 2014. Antibiotics Susceptibility of Some Uropathogenic Bacterial Isolates from Ahmadu Bello University Teaching Hospital Zaria, Nigeria. IOSR-JPBS, 9, 20-23.
93. Getenet B, Wondewosen T. Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in Jimma University Specialized Hospital, Southwest Ethiopia. Ethiop J HealthSci. 2011;21(2):141-7.
94. MohammadMehdi SD, SeyedAsghar M, MohammadKazem SY, Lari Abdolaziz R, Zahra R, YansSovan A. AntimicrobialResistanceTrends Of *Klebsiella* spp. Isolated From Patients In Imam Khomeini Hospital Tehr3n University of Medical Science 2012;6(4):275-81.
95. Sadarriaga, E., Echevarri TORO, L., Osp3no, S. 2015. Factores cl3nicos asociados a multirresistencia bacteriana en un hospital de cuarto nivel. Infectio 19, 161-7.

96. González Vélez AE, Díaz-Agero Pérez C, Robustillo Rodela A, Pita López MJ, Cornejo Gutiérrez AM, Pelayo Pedrero-Pérez, *et al.* Tendencia de la prevalencia de bacilos gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido en un hospital universitario de Madrid. *Med Clín.* 2013;141:8-12.
97. González L, González M, Zayas A, Curbelo M, Garrido Y. Relación genética de aislados clínicos de *E. coli* productores de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en un hospital de la Habana, Cuba. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 2017;48(3):107-11.
98. Merida-Vieyra J, De Colsa A, Calderon Y, Arzate P, Aquino A. First Report of Group CTX-M-9 Extended Spectrum Beta-Lactamases in *Escherichia coli* Isolates from Pediatric Patients in México. *PLoS One* 2016;XI (12) Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168608>.
99. García., M. M. C. 2013. *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido. *Resistencia Sanid. mil* , 69, 244-248.
100. Gaitán C. SL, Espinal M. PA, Grupo de Investigación en Resistencia Bacteriana RC. Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales de la Región Caribe, Colombia. *Rev Chil Infect.* 2009;26(3):236-49.
101. Bergan T. Degree of absorption, pharmacokinetics of fosfomycin trometamol and duration of urinary antibacterial activity. *Infection.* 1990; 18 Suppl 2: S65-S69.
102. Circulación de carbapenemasas tipo Nueva Delhi Metalo betalactamasa (NDM) en Colombia 2012-2014. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2014.
103. Rivera, L. 2018. Factores asociados a presencia de bacterias productoras de β -lactamasas de Espectro Extendido con infección del tracto urinario hospital María Auxiliadora 2017.
104. Quiñones Pérez D, Carmona Cartaya, Yenisel, Rivero Rivero, Mayrelis, Pereda Novales, Niurka, Zallas Illas, Arnaldo, Marrero Carralero, Deysi, Soe aung Meiji, Kobayashi, Nobumichi. *Escherichia coli* multidrogorresistente en Cuba: emergencia del clon pandémico ST 131. Convención Internacional de Salud, Cuba Salud 2018.
105. Varela Y, Millán B, Araque M. Diversidad genética de cepas extraintestinales de *E. coli* productoras de las betalactamasas TEM, SHV y CTX-M asociadas a la atención en salud. *Biomédica* 2017;37:209-17.

106. Machucaa J, Agüerob J, Mirób E, Conejo M, Oteob J, Boub G, *et al.* Prevalencia en España de mecanismos de resistencia a quinolonas en enterobacterias productoras de betalactamasas de clase C adquiridas y/o carbapenemasas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(8):485-90.
107. Xiangqun Liu, Yongrui Liu, Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in *E. coli*. 2016; 29(3):687-690. Disponible en: <https://doi.org/10.3892/br.2016.661>.
108. Hong Du y cols. Emergence of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00056-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00056-6).
109. Quiñones, D. Caracterización microbiológica de aislamientos de *E. coli* causante de infecciones extraintestinales en Cuba. In, 2015 IV Taller de Resistencia Antimicrobiana Resistencia antimicrobiana.

IX. ANEXOS**Anexo I. Modelo de Recolección de datos. Vigilancia Nacional de bacterias nosocomiales, IPK.**

Número de entrada: _____ Fecha: _____

No. HC: _____ Edad: _____

Nombre y Apellidos: _____

Tipo de Hospital: _____

Servicio de ingreso: _____

Días de estadía hospitalaria: _____

Tipo de muestra: _____

Diagnóstico clínico del paciente: _____

Fallecido

No ____ Si ____

Resultados microbiológicos:

Identificación de especie: _____

Susceptibilidad antimicrobiana: _____

Otros datos de interés:
