



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA
ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO**

TÍTULO:

**PERFIL DE SENSIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA A
ANTIMICROBIANOS BETALACTÁMICOS EN *Escherichia coli*
AISLADOS EN UROCULTIVOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS DE
UN NOSOCOMIO DE NIVEL III-1 EN LA CIUDAD DEL CUSCO EN LOS
6 PRIMEROS MESES DEL AÑO 2017**

SUSCEPTIBILITY PROFILE AND RESISTANCE MECHANISMS TO
BETALACTAMIC ANTIMICROBIALS IN *Escherichia coli* ISOLATED IN
URINE CULTURES OF HOSPITALIZED PATIENTS IN A LEVEL III-1
NOSOCOMY IN CUSCO IN THE FIRST 6 MONTHS OF THE YEAR 2017

ALUMNO(S):

PAOLA ESTELA JUAREZ CARDENAS

FANNY YOLANDA GARAY NAVARRO

ASESOR:

DR. JESÚS HUMBERTO TAMARIZ ORTIZ

LIMA - PERÚ

2020

JURADOS

Dra. Maritza Mercedes Calderón Sánchez de Jiménez - Presidenta

Mg. Maribel Denise Riveros Ramírez - Vocal

Lic. Delia Margot Faustino Arias - Secretaria

ASESOR

Dr. Jesús Humberto Tamariz Ortiz

DEDICATORIA, AGRADECIMIENTOS Y FUENTES DE FINANCIAMIENTO

A nuestros padres por todo el apoyo que nos brindaron siempre, por ser nuestro ejemplo a seguir; a nuestros hijos por ser nuestra fortaleza y motor para continuar creciendo como profesionales y finalmente un agradecimiento especial a nuestro asesor, profesor y jefe del laboratorio Dr. Jesús Humberto Tamariz Ortiz, por siempre guiarnos, compartir sus conocimientos y darnos las facilidades en este proceso.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

Los autores del presente trabajo de tesis declaramos no tener algún conflicto de interés; las opiniones de este trabajo de investigación, así como discusiones están sujetas bajo la responsabilidad de los autores de la tesis presentada, teniendo en cuenta que toda palabra redactada y/o parafraseada usadas para la elaboración de este se encuentran debidamente citadas y solo serán usadas para la investigación.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN	
2.	INTRODUCCIÓN	1
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
3.1	Diseño del estudio	5
3.2	Población y muestra	5
3.3	Aislamiento e identificación bacteriana	5
3.4	Susceptibilidad a antimicrobianos.....	6
3.5	Detección de mecanismos de resistencia.....	7
3.5.1	Detección de BLEA	7
3.5.2	Detección de BLEE.....	7
3.5.3	Detección de AmpC	7
3.5.4	Detección de producción de carbapenemasas	7
3.6	Control de calidad	8
3.7	Aspectos éticos	8
3.8	Análisis estadísticos	9
4.	RESULTADOS	10
5.	DISCUSIÓN	12
6.	CONCLUSIONES	19
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
8.	TABLAS.....	26

1. RESUMEN

Antecedentes: Las infecciones de tracto urinario son una de las infecciones más recurrentes, la principal bacteria causante de esta afección es *Escherichia coli* (*E. coli*), que alberga niveles de resistencia bacteriana muy elevados, siendo el mecanismo de resistencia más recurrente la producción de Betalactamasas de Espectro Extendido, causando un problema de salud pública a nivel mundial que incrementa la mortalidad, el tiempo de hospitalización y los costos de atención. El Cusco es una ciudad mega diversa, y cosmopolita, el proceso de explosión demográfica propiciado por el turismo ha generado condiciones de salud particulares.

Objetivo: Determinar el perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos, la asociación entre mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos con los perfiles de sensibilidad y la asociación de las variables sexo y grupo etario de los pacientes, con los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos en *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes hospitalizados en un nosocomio de nivel III-1 de la ciudad del Cusco en los 6 primeros meses del año 2017.

Material y métodos: Se realizó un estudio de tipo observacional, descriptivo transversal, en el que, mediante métodos fenotípicos se determinó el perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos en aislamientos de *E. coli* provenientes de pacientes hospitalizados de un nosocomio de nivel III-1 del Cusco, los aislamientos provenían del cepario del Laboratorio de resistencia a antimicrobianos e Inmunopatología del LID-UPCH.

Resultados: Se evaluaron 56 aislamientos de *E. coli*, 33.93% (19/56) fueron productoras de Betalactamasas de Espectro Ampliado (BLEA), 66.07% (37/56) fueron productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), no se encontraron mecanismos tipo AmpC, ni carbapenemasas.

Conclusiones: El mecanismo de resistencia más frecuente y relevante en nuestro estudio fue las Betalactamasas de Espectro Extendido. No se encontraron aislamientos con resistencia tipo AmpC ni producción de carbapenemasas.

Palabras clave: Resistencia bacteriana, *Escherichia coli*, Betalactámicos, Infecciones urinarias.

ABSTRACT

Background: Urinary tract infections are one of the most recurrent, the main bacterium that causes this condition is *Escherichia coli* (*E. coli*), a germ with very high levels of bacterial resistance, this being a public health problem worldwide that increases mortality, hospitalization time and costs of care. Being Cusco a mega diverse and cosmopolitan city, the demographic explosion process caused by tourism has generated particular health conditions.

Objective: To know the sensitivity profile and the mechanisms of resistance to beta-lactam antimicrobials, the association between mechanisms of resistance to beta-lactam antimicrobials with the sensitivity profiles and the association of the variables sex and age group of the patients, with the mechanisms of resistance to beta-lactam antimicrobials in *E. coli* isolated in urine cultures of hospitalized patients in a level III-1 hospital in the city of Cusco in the first 6 months of 2017

Material and methods: An observational, descriptive cross-sectional study was carried out, in which, phenotypic methods, the susceptibility profile and the mechanisms of resistance to beta-lactam antimicrobials were determined in *E. coli* isolates from hospitalized patients of a level nosocomy III-1 in Cusco, the isolates came from the stock of the Antimicrobial Resistance and Immunopathology Laboratory of the LID-UPCH. Results: 56 isolates of *E. coli* were analyzed, 33.93% (19/56) were ESBL, 66.07% (37/56) were ESBL-producing and no AmpC-type resistance or carbapenamases were found.

Conclusions: The most frequent and relevant resistance mechanism in our study was Extended Spectrum Betalactamases. No isolates with resistance type AmpC or production of carbapenamases were found.

Key words: Bacterial resistance, Escherichia coli, Betalactamics, Urinary infections

2. INTRODUCCIÓN

La población a nivel mundial se ve afectada por un alarmante incremento de bacterias resistentes a los antibióticos, siendo este un problema de salud pública (1,2). La resistencia bacteriana incrementa la mortalidad, el tiempo de hospitalización, e incluso los costos de atención (3). Las bacterias presentan dos tipos de resistencia: la resistencia natural que es propia de una bacteria o grupo bacteriano, sin mayor impacto clínico y, por otra parte, la resistencia adquirida, que surge como resultado de mutaciones a nivel cromosómico o por intercambio de su material genético con otras bacterias o fagos, la presencia de un gen mutado o adquirido se expresa mediante diferentes mecanismos de resistencia como bombas de eflujo o excreción, inactivación del antibiótico mediante enzimas hidrolíticas, bloqueo de la penetración del antibacteriano, modificación del sitio activo PBP (*Penicilin binding protein*) y alteración de la permeabilidad de la membrana (4). Los antibióticos del grupo de los betalactámicos actúan inhibiendo la etapa final de la síntesis de la pared celular bacteriana, son la familia más numerosa de antimicrobianos, también la más utilizada en la práctica clínica, tanto en bacterias gramnegativas y grampositivas (5). Las bacterias gramnegativas presentan diferentes mecanismos de resistencia frente a antibióticos betalactámicos: Betalactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA), betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), betalactamasas de espectro extendido (BLEE), betalactamasas tipo AmpC y producción de carbapenemasas (6).

Las bacterias productoras de BLEE expresan resistencia a las penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas, incluidas las de tercera y cuarta generación, pero son inhibidas por ácido clavulánico y no tienen actividad frente a carbapenems. Son

principalmente plasmídicas, siendo las más comunes la SHV, TEM y CTX-M, estas últimas son las de mayor prevalencia en nuestro país (7-9). El impacto clínico de las BLEE es severo, según estudios, alrededor del 63% de pacientes con infecciones por bacterias productoras de BLEE fallecen (2).

Dentro de la familia de las betalactamasas, son las carbapenamasas las que muestran mayor versatilidad, hidrolizan todos los betalactámicos incluido los carbapenémicos que tienen el espectro más amplio de actividad. Estas enzimas se han asociado a elementos genéticos transferibles (10). Se han reportado tres tipos moleculares de producción de carbapenemasas: A, B y D; las de clase A y D presentan un residuo de serina en su sitio activo (Serina-betalactamasa), las de clase B presenta un cofactor enzimático de Zinc (metalo-betalactamasas). Las de clase A y B muestran resistencia a penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas y carbapenémicos; las de clase A también a Aztreonam y se inhiben en diferente rango por ácido clavulánico y ácido fenilborónico, la más importante de esta clase es la KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa). Las de clase B se inhiben por quelantes como el Zinc, la más difundida en nuestro país es la Nueva Delhi Metalobetalactamasa (NDM-1). Las de clase D llamadas también Oxacilinasas, muestran baja hidrólisis a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y carbapenémicos; son inhibidas parcialmente por ácido clavulánico y tiene alta resistencia a Temocilina; la más importante de esta clase son las OXA 48 y similares (11,12).

A fin de establecer parámetros de comparación, se han planteado esquemas de clasificación de los niveles de resistencia a los antimicrobianos, una de las más aceptadas es la propuesta por Magiorakos y col. que consideran como MDR

(Multidrogo resistentes), aislamientos resistentes a un antibiótico o más, por lo menos en tres familias de antimicrobianos; XDR (extremadamente resistentes) aquellos aislamientos resistentes a más de un antibiótico en todas las familias de antimicrobianos, exceptuados dos o menos familias y PDR (Pandrogo resistentes) se consideran a los aislamientos resistentes a todos los antibióticos establecidos como potencial terapia para infecciones causadas por el patógeno (13).

Las infecciones de tracto urinario (ITU) son muy comunes, estas se ven influenciadas por el estilo de vida de cada persona, el uso de catéteres, diabetes, entre otros factores, por lo general afectan más al sexo femenino; pues alrededor del 40% de féminas presentaron algún síntoma de infección en el tracto urinario, por lo menos una vez en su vida, las ITU son causadas en su mayoría por bacterias gramnegativas, siendo *E. coli* la principal responsable, esta bacteria es muy susceptible a cambios genéticos por lo que el aumento de resistencia bacteriana es alarmante (14).

Por otra parte, el Cusco, importante ciudad turística del Perú, es considerada como una región mega diversa por sus características étnicas, geográficas, socioeconómicas, sanitarias; pero sobre todo cosmopolita, debido a la afluencia de turistas de diversas partes del mundo. La incidencia de enfermedades ligadas a la pobreza, bajo nivel educativo de la población rural, la lenta modernización del sector salud, sumándole el proceso de explosión demográfica propiciado por el turismo, hacen que la región presente problemas de salud propios (14). El incremento del traslado nacional o internacional de individuos ya sea por turismo u otras razones; los expone a aislamientos bacterianos resistentes y también permite la diseminación de estas (15).

En base a lo antes expuesto, se realizó el presente estudio para determinar el perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos, la asociación entre mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos con los perfiles de sensibilidad y la asociación de las variables sexo y grupo etario de los pacientes, con los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos en *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes hospitalizados en un nosocomio de nivel III-1 de la ciudad del Cusco en los 6 primeros meses del año 2017.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio de tipo observacional descriptivo transversal para conocer el perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia a antimicrobianos betalactámicos en *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes hospitalizados. El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Resistencia Antibiótica e Inmunopatología de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) - Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2 Población y muestra

El estudio tuvo como población a los aislamientos de *E. coli* provenientes de muestras de orina de pacientes hospitalizados en un nosocomio de nivel III-1 de la ciudad del Cusco, durante los 6 primeros meses del año 2017. Se incluyeron únicamente los aislamientos de pacientes hospitalizados con diagnóstico de infección urinaria (con más de tres días de internamiento). Se excluyeron aislamientos provenientes de un mismo paciente, aislamientos con datos incompletos (edad, sexo y servicio de hospitalización del paciente) y aislamientos del cepario con evidencia de contaminación. La muestra estuvo constituida por 67 aislamientos de *E. coli*, de las cuales se seleccionaron 56 que cumplían con los criterios establecidos anteriormente.

3.3 Aislamiento e identificación bacteriana

Para recuperar los aislamientos se hicieron repiques del cepario en Caldo tripticasa de soya (Oxoid, Inglaterra), para luego ser sembradas en Agar Mac Conkey (Oxoid, Inglaterra), posteriormente se realizó el aislamiento en Agar tripticasa de soya (TSA) (Oxoid, Inglaterra), para proceder a la confirmación de la identificación

mediante baterías bioquímicas: Agar triple azúcar hierro (Oxoid, Inglaterra), Lisina hierro Agar (Oxoid, Inglaterra), Citrato (Oxoid, Inglaterra), Movilidad indol ornitina (Britania, Argentina) y Caldo úrea (Sigma-Aldrich, Alemania). Fueron consideradas como *E. coli* los aislamientos productores de acidez en el Agar triple azúcar hierro, Indol positivo, productores de Lisina Descarboxilasa, productores de gas a partir de glucosa, citrato negativo, móviles y urea negativos

3.4 Susceptibilidad a antimicrobianos

Para la realización del antibiograma por el método de Disco-difusión (16), los aislamientos fueron sembrados en agar TSA (Oxoid, Inglaterra), a partir de ello se realizó la dilución con una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. Con un hisopo estéril fueron sembradas en Agar Mueller Hinton (Oxoid, Inglaterra), para luego agregar los siguientes discos de antibióticos:

- Gentamicina, Amikacina y Tobramicina (Aminoglucósidos)
- Sulfametoxazol/Trimetoprim (Antagonista de folato)
- Amoxicilina/Ácido Clavulánico, Piperacilina/Tazobactam (Betalactámico/Inhibidor de betalactamasa)
- Imipenem, Meropenem, Ertapenem (Carbapenems)
- Cefoxitina, Cefotaxima, Cefepime, Ceftazidima, Ceftriaxona (Cefalosporinas)
- Ciprofloxacino (Fluoroquinolonas)
- Fosfomicina (Fosfonato)
- Aztreonam (Monobactámico)
- Nitrofurantoina (Nitrofurano)
- Ampicilina (Penicilinas)

3.5 Detección de mecanismos de resistencia

3.5.1 Detección de BLEA

Los aislamientos de *E. coli* resistentes a Ampicilina, Amoxicilina/ Ácido clavulánico y cefalosporinas de primera generación, fueron considerados como productores de Betalactamasas de Espectro Ampliado (BLEA).

3.5.2 Detección de BLEE

Para la detección presuntiva de BLEE se consideró los siguientes halos de inhibición: ceftazidima ≤ 22 mm, aztreonam ≤ 27 mm, cefotaxima ≤ 27 mm y/o ceftriaxona ≤ 25 mm. Los aislamientos sospechosos para BLEE fueron sometidos a la prueba fenotípica recomendada por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (16), para lo cual se emplearon discos de ceftazidima, ceftazidima/ácido clavulánico y cefotaxima, cefotaxima/ácido clavulánico, una diferencia entre los halos de inhibición mayor a 5 mm entre cefalosporinas con y sin ácido clavulánico, se interpretó como resultado confirmado para la producción de BLEE.

3.5.3 Detección de AmpC

Para la identificación de betalactamasa de tipo AmpC se empleó el método de sinergia con discos de cloxacilina y ácido fenil-borónico los cuales fueron colocados entre dos cefalosporinas: cefotaxima y ceftazidima a una distancia de 25 mm (de borde a borde), la sinergia entre las cefalosporinas con cloxacilina y ácido fenil-borónico fue indicador de positividad (17).

3.5.4 Detección de producción de carbapenemasas

La presencia de producción de carbapenemasas fue detectada por el método de Triton Hodge Test. Se dejó secar la placa de Agar Mueller Hinton (Oxoid,

Inglaterra) a 35°C, luego se colocaron 50 µL de Triton X-100 (Merck, Alemania) y se dejó cubrir la totalidad de la superficie, una vez seca la placa, con un hisopo estéril, se sembró *E. coli* ATCC 25922 a partir de un cultivo con turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. Se colocó un disco de Ertapenem al medio de la placa, luego se sembraron mediante una estría simple los aislamientos problema, de afuera hacia el disco de Ertapenem (afuera hacia adentro), se dejaron incubando las placas durante 18 horas a 35 °C, para evaluar la deformación de los halos de inhibición característicos (16, 18).

3.6 Control de calidad

Para el control de calidad se emplearon las siguientes cepas: *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 para la evaluación de la producción de BLEE. Para el control de calidad de la producción de AmpC y producción de carbapenemasas se emplearon cepas del Laboratorio caracterizadas molecularmente por PCR.

3.7 Aspectos éticos

Se analizaron los aislamientos bacterianos junto a la información recolectada por el laboratorio de microbiología de un Hospital de nivel III-1 en el Cusco, teniendo en cuenta que los aislamientos no contaban con un estudio previo, se construyó una base de datos, donde la identidad de los participantes fue confidencial, se recodificaron las cepas para el completo anonimato de estas, no se tuvo contacto con ninguna muestra biológica de manera directa, ni contacto con alguno de los pacientes involucrados, donde podemos concluir que el riesgo para con los sujetos implicados son mínimos, donde se busca cuidar la integridad y la dignidad del participante. El protocolo se registró en el Sistema Descentralizado de Información

y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y fue evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetó los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se siguieron estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

3.8 Análisis estadísticos

Para el análisis de los resultados se empleó una base de datos en formato Excel, también el Software Statistics and Data Science (STATA): Se calculó promedios y porcentajes para la variable cuantitativa (edad) y se empleó la prueba de Chi Cuadrado para determinar la asociación entre nivel de resistencia y la presencia de BLEE. Las pruebas se manejaron con un nivel de confianza establecida del 95% y se consideró significativo un valor de $p < 0.05$

4. RESULTADOS

Evaluamos 56 aislamientos de *E. coli*, de los cuales 33.93% (19/56) fueron BLEA, mientras que el 66.07% (37/56) fueron productoras de BLEE, no se encontraron mecanismos tipo AmpC, ni producción de carbapenemasas entre los aislamientos analizados.

Con respecto al hallazgo de BLEA, debido a que no es de importancia clínica y que para su confirmación es necesario el uso de pruebas moleculares no se profundizó en este mecanismo.

Dentro de los datos demográficos evaluados de los pacientes (edad, sexo), a partir de los 56 aislamientos de *E. coli*, se obtuvo los siguientes datos: 58.93% (33/56) de los aislamientos provenían de pacientes del sexo femenino y 41.07% (23/56) del sexo masculino. De los aislamientos provenientes del sexo femenino se obtuvo un 41.07% (23/33) de producción de BLEE, por otro lado, los aislamientos provenientes del sexo masculino arrojaron un porcentaje del 25% (14/23) (tabla 1). Los aislamientos de nuestro estudio pertenecen a pacientes que se encuentran en un rango de 1 a 92 años, donde el promedio fue de 51 años y la media de 45 años (por lo que se consideró, como la edad de referencia para el análisis de los datos), motivo por el cual usamos un estudio previo como respaldo (7). Los pacientes con ITU menores de 45 años fueron 46.43% (26/56) y los de 45 años a más 53.57% (30/56); los pacientes menores de 45 años que presentaron *E. coli* productoras de BLEE fueron 25% (14/26) mientras que los pacientes de 45 años a más fueron 41.07% (23/30) (tabla 1).

En referencia a la resistencia antibiótica del fenotipo BLEE, podemos observar que para Ampicilina, Cefotaxima, Ceftriazona y Ceftazidima se obtuvo la totalidad aislamientos resistentes; en el caso de Cefepime, Ciprofloxacino y Sulfametoxazol/Trimetropim se obtuvo 94.59% (35/37), para Aztreonam 86.47% (32/37), Gentamicina 45.94% (17/37), Amoxicilina/ácido clavulánico, Piperacillin/Tazobactam, Amikacina y Tobramicina

40.54% (15/37); los antibióticos que mostraron la frecuencia más baja de resistencia en los aislamientos de nuestro estudio fueron Cefoxitina con 27.03% (10/37), Nitrofurantoina con 21.62% (8/37) y Fosfomicina con 18.92% (7/37) (tabla 2). Mientras que para Imipenem, Meropenem y Ertapenem no se obtuvieron aislamientos resistentes.

Con respecto a la resistencia antibiótica de los aislamientos no productores de BLEE, podemos observar que para Ampicilina se obtuvo la totalidad de aislamientos resistentes, en el caso de Aztreonam 42.22% (8/19), para Piperacillin/Tazobactam y Tobramicina se obtuvo 36.32% (5/19), Gentamicina 21.05% (4/19), para Amoxicilina/ácido clavulánico, Cefotaxima y Cefepime el porcentaje obtenido fue 15.79% (3/19), Amikacina, Sulfametoxasol/Trimetropim y Nitrofurantoina 10.53% (2/19), Ciprofloxacino 5.26% (1/19) y finalmente para Cefoxitina, Ceftriaxona, Ceftazidima, Fosfomicina, Imipenem, Meropenem y Ertapenem no se obtuvieron aislamientos resistentes (tabla 2).

Los antibióticos en los que se obtuvo una asociación estadísticamente significativa (valor de $p < 0.001$) con respecto a aislamientos productores y no productores de BLEE fueron los siguientes: Amoxicilina/ácido clavulánico, Cefotaxima, Cefepime, Aztreonam, Amikacina, Gentamicina, Ciprofloxacino y Sulfametoxasol/Trimetropim (tabla 2).

En cuanto a la clasificación de los niveles de resistencia en los aislamientos de *E. coli*, siguiendo los lineamientos establecidos por Magiorakos y col. 52 aislamientos (92.9 %), fueron considerados MDR y 4 (7.1 %) fueron catalogados como XDR. No se encontraron aislamientos PDR.

5. DISCUSIÓN

La elevada prevalencia de las infecciones urinarias requiere una terapia antibiótica adecuada, sobre todo en las ITU complicadas. El uso indiscriminado de antibióticos, muchas veces innecesario en el tratamiento de estas infecciones, la automedicación, que puede variar según la zona (rural o urbana), el nivel de educación de los individuos, la interrupción de la terapia, entre otros factores, han convertido a la resistencia antimicrobiana en un reto para el sistema de salud a nivel mundial (20-23).

En bacterias gramnegativas, el mecanismo de resistencia antibiótica más común es la producción de BLEE, el cual en los últimos años ha experimentado un crecimiento descontrolado, lo que se evidencia con los datos obtenidos en un estudio del año 2012 en un hospital de la ciudad de Lima en el que se reportó 29.4% de este mecanismo de resistencia (7), en el año 2016 en el mismo hospital se evidencia un incremento al 55.8% del mismo mecanismo de resistencia (BLEE) (24); en otro estudio en el año 2014 de un hospital de referencia en la ciudad del Cusco se aislaron 18.6% de aislamientos productores de BLEE (24), el resultado obtenido en nuestro estudio basado en muestras provenientes de un hospital de referencia en la ciudad del Cusco es de 66.07% de aislamientos productores de BLEE, nuestros hallazgos corroboran la información del incremento de este mecanismo de resistencia en el tiempo.

En el estudio para el monitoreo de resistencia antimicrobiana, de la región Asia/Pacífico, los niveles más altos de producción de BLEE han sido reportadas en la India (79%) y la China (54%) (26); cifras preocupantes que llevaron a la Organización Mundial de Salud a considerar a la *E. coli* productora de BLEE como

prioridad crítica en su lista de bacterias para las que se necesitan urgentemente antibióticos nuevos (27).

Es importante mencionar que los aislamientos de nuestro estudio provienen de pacientes hospitalizados con diagnóstico de infección del tracto urinario de origen nosocomial, es conocido que la presión antibiótica a nivel nosocomial es un factor relevante para la selección de bacterias resistentes, considerándose que la hospitalización por más de 12 días es un importante factor de riesgo para contraer una infección con gérmenes resistentes (28).

Uno de los objetivos del estudio fue analizar la asociación entre los perfiles de sensibilidad de los aislamientos de *E. coli* y la producción de BLEE; en esa línea encontramos que la resistencia más elevada es hacia Ampicilina, el total de los aislamientos fueron resistentes a esta aminopenicilina, al margen de la producción de BLEE, resultados similares fueron obtenidos por Huamaní quien también reportó una resistencia en la totalidad de sus aislamientos para Ampicilina entre los años 2012 y 2013 en un hospital de la ciudad del Cusco (29). El antimicrobiano Ampicilina ha perdido actividad en el tiempo, en un estudio realizado el año 2015 por Tejada P. y col, se encontró que el 91.5% de aislamientos de *E. coli* mostraron resistencia a dicho antibiótico, por lo que su uso terapéutico en primera línea para infecciones urinarias complicadas y no complicadas, fue descartado (7). En cuanto a los betalactámicos con inhibidores de betalactamasas Amoxicilina/ácido clavulánico y Piperacilina/Tazobactam, presentaron resultados similares, 40.54 % de resistencia en aislamientos productores de BLEE. Usualmente, Piperacilina/Tazobactam reporta un mejor desempeño, lo que no muestran nuestros resultados.

La resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación es una característica de las bacterias productoras de BLEE, con algunas variaciones que dependen del tipo específico de betalactamasa. En nuestro estudio no encontramos tales diferencias, la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación fue del 100% y casi del 95% a cefepime en las *E. coli* productoras de BLEE. Al comparar la resistencia a cefalosporinas con otros estudios, algunos investigadores encontraron 100% de resistencia para Cefotaxima, Ceftriaxona, Ceftazidima e incluso Cefepime en aislamientos de *E. coli* de hospitales de la misma ciudad (29). De otra parte, en un estudio de López K, y col. reportaron en un hospital de la ciudad de Lambayeque resistencia del 100% para cefotaxima y ceftriaxona en el año 2018 (30).

Se encontró que Cefoxitina mantiene buenos niveles de sensibilidad, solo 27.03% de aislamientos productores de BLEE fueron resistentes, no se encontró resistencia a este antibiótico en las *E. coli* no BLEE. Aunque el uso de Cefoxitina no se consideraba como antibiótico de primera opción en el tratamiento de las ITU's (31), nuestros resultados muestran que Cefoxitina es una alternativa, incluso para tratamiento empírico, de las ITU no complicadas. Rodríguez y col, en una importante publicación sobre terapia en infecciones producidas por bacterias productoras de diferentes Betalactamasas, sugiere el uso de Cefoxitina para tratar infecciones por aislamientos productores de BLEE, sin embargo, el uso prolongado podría traer consigo el incremento de betalactamasa tipo AmpC (32).

A medida que pasan los años, la resistencia a carbapenémicos va en aumento en nuestro país, en un estudio realizado entre los años 2013 al 2017, se aislaron por lo menos 83 enterobacterias productoras de carbapenamasas, siendo la NMD la primera en la lista con 55 (67.46%) aislamientos, seguida de 24 (31.33%)

aislamientos de KPC (33), sin embargo, nuestro estudio no identificó ningún aislamiento productor de carbapenamasas. Un estudio previo realizado en el Cusco reportó 92.56% y 83.63%, de resistencia a Imipenem y Ertapenem respectivamente, aunque no indica que se trate de mecanismos enzimáticos (29). En un hospital de Lambayeque en el año 2018 se obtuvo 100% de sensibilidad a Imipenem, en la ciudad de Puno 97% y en Iquitos un 94% (31,35). Si bien la resistencia a carbapenémicos se está incrementando en nuestro país, los hallazgos del presente estudio no coinciden con ello, sin embargo, el uso indiscriminado de estos antibióticos puede originar la producción de las enzimas que las degradan.

La ubicación plasmídica de los genes responsables de la resistencia de tipo BLEE, permite la coexistencia de genes de resistencia a otros grupos de antimicrobianos generando multirresistencia, una característica común en estas bacterias. Nuestros resultados muestran una fuerte asociación de la presencia de BLEE y mayores niveles de resistencia a aminoglucósidos, ciprofloxacina y sulfametoxazol/Trimetoprin ($p < 0.001$). Se ha reportado que el gen *bla*CTX-M tiene un alto porcentaje de transferencia de genes mediante conjugación, significativamente mayor que las cepas que portan el gen *bla* TEM (34), pese a que nuestro estudio no identificó las variantes de BLEE, diversos estudios en nuestro país muestran que la CTX-M es la BLEE de mayor prevalencia.

Una alternativa terapéutica para el tratamiento de aislamientos productores de BLEE son los Aminoglucósidos, con restricciones en gestantes, inmunosuprimidos y ancianos, por lo que su uso debe ser restringido a infecciones severas debido a sus efectos nefrotóxicos, ototóxicos (los daños pueden ser irreversibles), pueden producir bloqueo neuromuscular e incluso una pseudosepsis (31,36). Nuestro

estudio encontró niveles de resistencia cercanos al 40% en Amikacina y Gentamicina, con mejor desempeño del primero.

Ciprofloxacina, hace algunos años, era considerado un antibiótico de primera línea para tratar infecciones urinarias, actualmente presenta niveles máximos de resistencia en bacterias productoras de BLEE (en este estudio, menos del 5% fueron sensibles), resultados completamente diferentes a las *E. coli* no BLEE cuya resistencia a esta fluoroquinolona llegó solo a 5.29%. Este patrón de resistencia se repite con Sulfametoxazol/Trimetoprin, con cifras bastante cercanas, lo que limita su empleo solo a bacterias no productoras de BLEE, que, en el presente estudio, constituye solo la tercera parte de los aislamientos. En estudios previos en la ciudad del Cusco se encontró 82.14% de resistencia para Ciprofloxacino y 81.55% para Sulfametoxazol/Trimetoprin; en Lambayeque se reportó 100% de resistencia para ambos antibióticos, en Puno, Lima e Iquitos se obtuvieron 61.2% de aislamientos resistentes (29,30,35).

Un hallazgo importante del estudio realizado, son los resultados favorables para Nitrofurantoina y Fosfomicina, antiguos antimicrobianos empleados para ITU no complicada, seguros y económicos, que dejaron de administrarse por sus altos niveles de resistencia. Nuestros resultados muestran que la resistencia bordea el 20% para ambos antibióticos en aislamientos productores de BLEE y mucho menores en las BLEE negativas. Algunos estudios coinciden con nuestros resultados con respecto a la pérdida de mecanismos de resistencia para estos antibióticos, lo que podría ser debido a la ausencia de presión antibiótica en el tiempo (29, 37), lo que las convierte en una alternativa para el tratamiento de ITU no complicada.

Respecto a la clasificación de los aislamientos por su nivel de resistencia, la mayoría de los aislamientos de *E. coli* correspondían a la clasificación MDR, un mínimo de XDR y no se identificaron aislamientos PDR. Si bien el nivel de resistencia MDR es preocupante, es importante considerar que los pacientes afectados con infecciones por estas bacterias aún tienen alternativas terapéuticas disponibles, que se ven reducidas drásticamente en los aislamientos XDR. La vigilancia de los niveles de resistencia en los patógenos nosocomiales es una herramienta importante para implementar las medidas de control necesarias. En ese sentido es importante resaltar la utilidad de los métodos microbiológicos fenotípicos por ser sencillos, económicos y técnicamente accesibles a los laboratorios clínicos, que empleados de manera adecuada, brindan información relevante para los programas de uso racional de antibióticos.

Respecto a los factores de riesgo para llegar a tener una infección por bacterias productoras de BLEE, 30 (53.57%) aislamientos provenían de pacientes mayores de 45 años, 76.77% de ellos tenían aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE, mostrando resultados significativamente estadísticos, lo que coincide con diversos estudios que atribuyen a la edad como uno de los factores para adquirir infecciones por *E. coli* productora de BLEE, siendo las mujeres con edades más avanzadas (tercera edad) el grupo etario más afectado por bacterias productoras de este mecanismo de resistencia (38).

Es importante mencionar que el estudio realizado ha presentado algunas limitaciones ineludibles, ligadas principalmente a la colección de bacterias empleadas. Es adecuado emplear en estudios de esta naturaleza, una muestra de estudio resultado de un cálculo de tamaño muestral prospectivo, nuestro estudio se

realizó en una colección de aislamientos provenientes de un cepario, es probable que se hayan obviado varios aislamientos que cumplían los criterios de inclusión, así mismo, es necesario considerar la temporalidad del estudio, pues los hallazgos deben ser considerados válidos para el periodo de aislamiento de los patógenos y es probable que hayan variado en el tiempo.

6. CONCLUSIONES

En base a los resultados del presente estudio podemos concluir:

- El mecanismo de resistencia más frecuente y relevante en nuestro estudio fue las Betalactamasas de Espectro Extendido. No se encontraron aislamientos con resistencia tipo AmpC ni producción de carbapenamasas.
- Se encontró un alto nivel de resistencia a Ampicilina, tanto en cepas productoras y no productoras de BLEE.
- No se encontró resistencia para Meropenem, Imipenem y Ertapenem en el estudio.
- La asociación entre los niveles de resistencia y los aislamientos productores de BLEE se dieron en la mayoría de los antibióticos a excepción de Cefoxitina, Nitrofurantoina y Fosfomicina.
- Los pacientes con 45 años o más, presentaron mayor porcentaje de infecciones urinarias y mayor porcentaje de aislamientos productores de BLEE.
- El mayor porcentaje de aislamientos productores de BLEE estuvo representado por el género femenino de 45 años o más.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Angles Eddie. Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana: ¿hacia dónde vamos?. Rev Med Hered [Internet]. 2018 Ene [citado 2019 Oct 19]; 29(1): 3-4. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2018000100001&lng=es. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/rmh.v29i1.3253>
2. Valdez L. *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro Extendido (BLEE), es un problema creciente en nuestros países. 2017; 28(3): 139-141.
3. WHO [Internet]. Ginebra: World Health Organization; 2016 [última actualización 31 jul del 2020; citado 20 de ago del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
4. Pérez H. Cano A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Rev Med MD. 2013; 4(3):186-191.
5. WHO [Internet]. Ginebra; World Health Organization; 2016 [última actualización 31 de jul 2020, citado 01 ago 2020]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/>.
6. Olarte T, Cáceres D, Alberto Jorge. Nuevas cefalosporinas. Rev Chilena Infectol. 2018; 35(5): 465-475.
7. Tejada J, Huarcaya J, Melgarejo G, Gonzales L, Cahuana J, Pari R, et al. Caracterización de infecciones por bacterias productoras de BLEE en un hospital de referencia nacional. An Fac med. 2015; 76(2): 161-166.

8. Galván Fi, Agapito J, Bravo N, Lagos J, Tamariz J. Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Rev Med Hered.* 2016; 27 (1): 22-29.
9. Oliver A, Cantón R. Enterobacterias productoras de beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido, 2003; Em: *Enferm Infecc Microbiol Clin.* Boletín de Control de Calidad SEIMC. Disponible en: <http://www.seimc.org>.
10. Vera A, Barria C, Carrasco S, Lima C, Aguayo A, Dominguez M, et al. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Ver Chil Infectol.* 2017; 34(5): 476-484.
11. Resurrección C, Montenegro J, Chiappe A, Vargas R, Cucho C, Mamani D, et al. *Klebsiella pneumoniae* nueva Delhi metalo-betalactamasa en el Hospital Nacional Dos de MAYO: Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud pública.* 2017; 34(2): 261-267.
12. Cercenado E. Detección de Enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Rev Esp Quimioter.* 2015; 28 (1): 8-11
13. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey R, Falagas M, Giske C, Harbarth S, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(3): 268-281.
14. SINEACE. Caracterización de la región Cusco [Internet]. Sistema Nacional de Evaluación, Acreditación y Certificación de la Calidad Educativa. [Consultado el 25 de mayo 2018].

15. Trucco A. Olivia, Prado J. Valeria, Durán T. Claudia. Red de vigilancia de resistencia antimicrobiana PRONARES: Informe primer semestre 2001. *Rev. chil. infectol.* [Internet]. 2002 [citado 2020 Oct 19] ; 19(2): 140-148. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019200015&lng=es.](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019200015&lng=es) [http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182002019200015.](http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182002019200015)
16. CLSI [Internet]; Wayne, Pennsylvania; Clinical Laboratory standards institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 29th edition. [diciembre 27, 2018].
17. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B. Detección Fenotípica de Mecanismos de Resistencia en Microorganismos Gramnegativos. 2011; 29(7): 524-534.
18. Pasteran F, Gonzalez L, Albornoz E, Bahr G, Vila A, Corso A. Prueba de Triton Hodge: Protocolo mejorado para la prueba de Hodge modificada para la detección mejorada de NDM y otros productores de carbapenemasas. *J Clin Microbiol.* 2016; 54 (3): 640-649.
19. Frías D. Herramientas para la redacción del informe de investigación. American Psychological Association. 2020: 7
20. Wei C, Piotr M. Urinary tract infections in adults. *Singapore Med J.* 2016; 57(9) 485-490.
21. Ventola L. The Antibiotic Resistance Crisis: part 1: causes and threats. *A peer-reviewed journal for formulary management*, 2015; 40(4), 277–283.

22. Virú M. Factores contra la automedicación en personas con enfermedad reciente que no buscaron un establecimiento de salud. *An Fac Med.* 2017; 78(4): 398-404.
23. Chavez D, Castro J. Automedicación en Zonas Urbano y Urbano – Marginal en la Provincia de Lima (Perú). *Rev Med Carr.* 2017; 4(1): 22.
24. Falconí A, Nolasco M, Bedoya A, Amaro C, Málaga G. Frecuencia y factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en pacientes de un hospital público de Lima, Perú. *Rev Perú med exp salud pública.* 2018; 35(1): 62-67.
25. Peñalva R, Una aproximación al Perfil Fenotípico de Resistencia en *Escherichia Coli* (método kirby Bauer). Hospital Antonio Lorena del Cusco, enero-diciembre 2014. 2014 [Tesis]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
26. Aguilar D. E. coli BLEE, la Enterobacteria que ha Atravesado Barreras. *Rev Invest Med Sur Mex.* 2015; 22 (2): 57-63.
27. 4. WHO [Internet]. Ginebra: World Health; 2017 [Actualizado 27 feb del 2017; citado 27 jun 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
28. Falconi A, Nolasco M, Bedoya A, Amaro C, Málaga G. Frecuencia y Factores de Riesgo para Bacteriemia por Enterobacterias Productoras de betalactamasa de Espectro Extendido en Pacientes de un Hospital Público de Lima, Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Publica.* 2018; 35 (1): 62-67.

29. Huamani Y. Prevalencia de Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Adolfo Guevara EsSalud- Cusco, periodo enero 2012 – octubre 2013 [Tesis]. 2014. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
30. López K, Díaz K, Vergara M, Santamaría O, Serquén L, Bustamante O, et al. Patrón de clonalidad mediante ERIC-PCR y REP-PCR de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido, aisladas de pacientes con infección urinaria intrahospitalaria. Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horiz Med.* 2018; 18(2): 11-18.
31. Delgado P. Infecciones Urinarias. 2019 [Internet]. Sociedad Española de Nefrología [cited 2020 junio 27]. Available from: <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-infecciones-urinarias-255>
32. Seral C, Gude M, Castillo J. Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó Cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. *Rev Esp Quimioter.* 2012;25(2):89-99
33. Rodriguez J, Gutiérrez B, Machuca I, Alvaro P. Treatment of Infections Caused by Extended Spectrum Beta Lactamase AmpC, and Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev.* 2018; 31(2)
34. Sacsquispe R, Bailón H. Identificación de Genes de Resistencia a Carbapenémicos en Enterobacterias de Hospitales de Perú, 2013-2017. *Rev Perú med exp salud pública.* 2018; 35(2): 259-264
35. Carbajal, Galarza M, Huacahuire S, Otiniano M, Soto J. Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres

- establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*. 2020; 40(1):139-47.
36. Palomino J, Pachón J. Aminoglucósidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21(2):105-15
37. Lifonzo S, Tamariz P, Champi R. Sensibilidad a Fosfomicina en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de Espectro Extendido. *Ver Perú med exp*. 2018; 35(1): 68-71.
38. Jaqueti J, Molina E, Limón A, García I. Sensibilidad en Enterobacterias uropatógenas productoras de BLEE versus no productoras, en pacientes pareados por edad, sexo y situación de ingreso hospitalario. *Rev Esp Quimioter*. 2018; 31(1): 63 -65.

8. TABLAS

TABLA 1: Distribución de aislamiento portadores de Betalactamasas de espectro extendido según sexo y edad.

Sexo y edad	Tipo de Resistencia		Total	Valor de p
	BLEE	NO BLEE		
	N=37 n (%)	N=19 n (%)		
Femenino <45	11 (19.64)	5 (8.93)	16 (28.57)	
Femenino ≥ 45	12 (21.43)	5 (8.93)	17 (30.36)	
	23 (41.07)	10 (17.86)	33 (58.93)	0.09
Masculino <45	3 (5.36)	7 (12.05)	10 (17.86)	
Masculino ≥ 45	11 (19.64)	2 (3.57)	13 (23.21)	
	14 (25)	9 (16.05)	23 (41.07)	
Total	37(66.08)	19(33.92)	56 (100)	<0.05

Valor de p < 0.05: resultados estadísticamente significativos

TABLA 2: Perfil de resistencia de *Escherichia coli* productora y no productora de BLEE.

ANTIBIOTICOS	BLEE N=37 n (%)	NO BLEE N=19 n (%)	Valor de p
Penicilina			
Ampicilina	37 (100)	19 (100)	0.016
Betalactámico/Inhibidor de betalactamasa			
Amoxicilina/ácido Clavulánico	15 (40.54)	3 (15.79)	<0.001
Piperacillin/Tazobactam	15 (40.54)	5 (26.32)	0.016
Cefamicinas			
Cefoxitina	10 (27.03)	0	-
Cefalosporinas			
Cefotaxima	37 (100)	3 (15.79)	<0.001
Ceftriaxona	37 (100)	0	-
Ceftazidima	37 (100)	0	-
Cefepime	35 (94.59)	3 (15.79)	<0.001
Monobactámico			
Aztreonam	32 (86.47)	8 (42.11)	<0.001
Aminoglucósidos			
Amikacina	15 (40.54)	2 (10.53)	<0.001
Gentamicina	17 (45.94)	4 (21.05)	<0.001
Tobramicina	15 (40.54)	5 (26.32)	0.025
Fluoroquinolonas			
Ciprofloxacino	35 (94.59)	1 (5.26)	<0.001
Antagonista de folato			
Sulfametoxazol/Trimetoprin	35 (94.59)	2 (10.53)	<0.001
Fosfonatos			
Fosfomicina	7 (18.92)	0	-
Nitrofuranos			
Nitrofurantoina	8 (21.62)	2 (10.53)	0.058

Valor de p < 0.05: resultados estadísticamente significativos