

Chávez Mónica\*  
 Salazar Martha Cecilia\*\*  
 Cabrera Cristina E\*\*\*  
 Gómez Romel F\*\*\*\*  
 Pallares Christian J\*\*\*\*\*

## Bacterias resistentes a los antibióticos en infecciones nosocomiales de un hospital en Colombia

Bacteria resistant to antibiotics in isolates of nosocomial infection in a hospital in Colombia

Fecha de aceptación: agosto 2012

### Resumen

**OBJETIVO.** Identificar las bacterias entéricas Gram negativas con resistencia a los antibióticos, aisladas de infecciones asociadas a la atención de la salud en un hospital de mediana complejidad de la ciudad de Cali.

**MATERIAL Y MÉTODO.** Los datos del antibiograma se obtuvieron de 1,899 aislamientos de bacterias entéricas Gram negativas, de la familia *Enterobacteriaceae*, y no fermentadoras de lactosa durante el periodo 2007-2008.

**RESULTADOS.** Los aislados más frecuentes fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*, con resistencia variable a β-lactámicos con excepción a los carbapenémicos. De los no fermentadores, *Pseudomonas aeruginosa* presentó resistencia simultánea a β-lactámicos (incluido imipenem), aminoglucósidos, quinolonas y susceptibilidad a meropemén.

La resistencia simultánea a cefoxitina, cefalosporinas de tercera generación, inhibidores de β-lactamasa, y sensibilidad a cefepime en aislados de *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *K. pneumoniae* probablemente se deba a β-lactamasa tipo AmpC.

La resistencia simultánea a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, aztreonam y a los inhibidores de β-lactamasas en los aislados de *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *C. freundii*, *Morganella morganii* y *K. pneumoniae*, nos sugiere una resistencia mediada por BLEE.

**CONCLUSIONES.** El alto número de aislados con resistencia a aminoglucósidos, inhibidores del ADN y β-lactámicos está relacionado con el uso indiscriminado de estos antibióticos dentro del hospital. De la interpretación del antibiograma se pueden inferir los mecanismos de resistencia subyacentes, lo cual permite orientar el tratamiento antibiótico adecuado.

**Palabras clave:** bacterias entéricas, Gram negativas, resistencia, antibióticos, epidemiología.

### Abstract

**OBJECTIVE.** To identify Gram-negative bacteria with resistance to antibiotics isolated from infections associated to health care in a tertiary hospital in the city of Cali, which can be inferred to the predominant resistance mechanism.

**MATERIALS AND METHOD.** Susceptibility data was obtained from 1,899 isolates of enteric Gram-negative bacteria of the Enterobacteriaceae family and non-fermenting lactose bacteria, during 2007-2008.

**RESULTS.** The most frequent isolates were *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. mirabilis* with variable resistance to β-lactams except carbapenems. *Ps. aeruginosa* showed simultaneous resistance to β-lactams (including imipenem) and aminoglycosides, but susceptibility to quinolones and meropemén.

Simultaneous resistance to cefoxitin, third generation cephalosporins, β-lactamase inhibitors and susceptibility to cefepime observed in isolates of *P. mirabilis*, *E. aerogenes*, *C. freundii* and *K. pneumoniae* is probably due to production of β-lactamase Amp C. Resistance to cephalosporins of third and fourth generation, aztreonam and β-lactamase inhibitors in isolates of *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *M. morganii* and *K. pneumoniae*, suggests ESBL-mediated resistance.

**CONCLUSIONS.** The high resistance to aminoglycosides, inhibitors of DNA, and production of β-lactamases may be related to the indiscriminate use of these antibiotics in the hospital.

The interpretation of susceptibility can be inferred to underlying resistance mechanisms, allowing not only to guide the antibiotic treatment, but helping predict which antibiotics could not be appropriate, taking into account the most likely underlying mechanism.

**Keywords:** Enterobacteriæ, Gram-negative, resistance, β-lactam antibiotics, epidemiology.

\*Profesor Asociado, Laboratorio de Microbiología Molecular. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Libre seccional Cali. Grupo de Investigación GIMMEIN. Profesor titular, Universidad Santiago de Cali.

\*\*Profesor Asociado, Facultad de Salud, Área de Ciencias Básicas, Universidad Libre Seccional Cali. Grupo de Investigación GIMMEIN. Profesor Asociado Facultad de Salud, Departamento de Microbiología, Universidad del Valle.

\*\*\*Profesor auxiliar Facultad de Salud, Área de Ciencias Básicas,

Universidad Libre seccional Cali. Grupo de Investigación GIMMEIN.

\*\*\*\*Investigador asociado. Director del Comité de Enfermedades Infecciosas del Hospital Departamental Evaristo García.

\*\*\*\*\*Investigador asociado. Bacterióloga Clínica Rafael Uribe Uribe.

Correspondencia: Dra. Mónica Chávez Carrera 47 A número 10-65, Barrio Departamental, Cali, Colombia.

Teléfono: (57) 2 55 36 875

Correo electrónico: monikchavez@gmail.com

## Introducción

Las bacterias Gram negativas con multirresistencia a los antibióticos habitualmente causan un número alto de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), ocasionando graves problemas de salud pública en diversas ciudades del mundo.<sup>1</sup>

La resistencia en estas bacterias obedece a mecanismos que corresponden básicamente a la producción de enzimas inactivadoras de antibióticos  $\beta$ -lactámicos ( $\beta$ -lactamasas),<sup>2</sup> la alteración de los sitios blanco de los antibióticos del grupo de las quinolonas (girasas de ADN),<sup>3</sup> y la disminución de la concentración intracelular del antibiótico (bombas de expulsión).<sup>4</sup> Sin embargo, la producción de  $\beta$ -lactamasas es el mecanismo que mayor impacto causa en estas bacterias.<sup>2,5</sup>

Entre las  $\beta$ -lactamasas, las cromosomales se denominan AmpC (cefalosporinas) y son capaces de inactivar de manera eficiente aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de distintas generaciones, y cefamicinas, presentando también resistencia a la inhibición por ácido clavulánico.<sup>6</sup> Se pueden expresar, de modo inducido, en enterobacterias.<sup>7</sup> La sobreproducción de estas enzimas puede conferir resistencia a todos los  $\beta$ -lactámicos, a excepción de las cefalosporinas de cuarta generación y a los carbapenemes.

Se han determinado algunas  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC codificadas en plásmidos en *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella spp* y *P. mirabilis*.<sup>8</sup>

Las primeras  $\beta$ -lactamasas de origen plasmídico aisladas en bacterias Gram negativas fueron la TEM-1, TEM-2 y la SHV-1.<sup>9,10</sup> La mutación en la  $\beta$ -lactamasa tipo SHV-1 generó la primera  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE), SHV-2, aislada en 1983 de una cepa de *K. pneumoniae* en Alemania.<sup>10</sup>

Los aislados de *K. pneumoniae* y *E. coli* producen BLEE con capacidad de hidrolizar a cefalosporinas de distintas generaciones, pero particularmente moléculas de tercera generación (oximino  $\beta$ -lactámicos: cefotaxime, ceftazidime y ceftriaxona) y al oximino-monobactam (aztreonam); no tienen efecto sobre las cefamicinas (cefoxitina, cefotetán) y los carbapenemes; la actividad de esta enzima es inhibida por el ácido clavulánico.<sup>11</sup>

Variantes de las enzimas BLEE son las tipo CTX-M, aislada por primera vez en Europa, en el año 1989, de una cepa de *Kluyvera georgiana*; luego se aisló en cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Salmonella entérica serovar tiphimurium*.<sup>12</sup> La BLEE tipo PER-1 se ha aislado principalmente de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Acinetobacter spp*,<sup>13</sup> y la tipo OXA de *K. pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii*.<sup>14</sup>

En la actualidad, han aparecido aislados resistentes a los carbapenemes, especialmente en las bacterias entéricas no fermentadores de lactosa. La resistencia se debe a la presencia de enzimas carbapenemasas mediadas por plásmidos con actividad contra las oximino-cefalosporinas, cefamicinas y carbapenemes.<sup>15</sup> Las carbapenemasas que principalmente se aíslan son de tipo IMP y VIM.<sup>16</sup>

Una dificultad inherente para combatir la multirresistencia está asociada con el considerable número de cepas productoras de BLEE que portan, simultáneamente, genes que confieren resistencia a quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoazol, o que, en el peor

de los casos, han adquirido genes que codifican para bombas de expulsión.<sup>4,17</sup>

El objetivo del presente estudio fue identificar las bacterias entéricas Gram negativas con resistencia a los antibióticos, aisladas de infecciones adquiridas en la Unidad de Cuidado Intensivo (UCI) de un hospital de mediana complejidad de la ciudad de Cali y, mediante los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos, realizar una aproximación que permita inferir el principal mecanismo de resistencia que está predominando en las bacterias que circulan en la UCI del hospital en cuestión.

## Material y método

### Población de estudio

El estudio se basó en datos recopilados, durante los años 2007 y 2008, a partir de bacterias entéricas Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae* y las no fermentadoras de lactosa que se aislaron de pacientes que se encontraban en la UCI de una institución de salud de mediana complejidad. Para el estudio, se consideró una infección asociada a la atención en salud cuando ésta se presentó en un rango posterior de 48 a 72 horas de haber ingresado el paciente al hospital.

### Aislamiento e identificación

Los aislados de bacterias entéricas Gram negativas se obtuvieron a partir de siembras, durante 24 horas, en agar MacConkey (Oxoid Ltd., Hampshire, United Kingdom) a 37°C.

La identificación de los microorganismos se realizó en el laboratorio clínico del hospital por métodos convencionales, y la pruebas bioquímicas para la identificación de la especies se realizó con el sistema automatizado MicroScan (Rochem Biocare, Inc.), el cual se basa en el uso de tarjetas de identificación con 30 diferentes pruebas bioquímicas.

### Estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos

Para la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana, se empleó el método de difusión del disco según el método de Kirby-Bauer<sup>18</sup> sobre placas con agar Mueller-Hinton (Oxoid Ltd., Hampshire, United Kingdom). Los sensidiscos provenían de la casa comercial Oxoid, y se emplearon con los siguientes antibióticos: cefalotina (CEP, 30 $\mu$ g), cefotaxima (CTX, 30 $\mu$ g), ceftazidima (CAZ, 30 $\mu$ g), cefepima (FEP, 30 $\mu$ g), cefoperazona (CFP, 75 $\mu$ g), ceftriaxona (CRO, 30 $\mu$ g), cefoxitina (FOX, 30 $\mu$ g), ampicilina/sulbactam (SAM, 10 $\mu$ g/10 $\mu$ g), piperacilina-tazobactam (TZP, 10 $\mu$ g/30 $\mu$ g), aztreonam (ATM, 30 $\mu$ g), imipenem (IMP, 10 $\mu$ g), meropenem (MEM, 10 $\mu$ g), gentamicina (GEN, 10 $\mu$ g), amikacina (AMK, 30 $\mu$ g), tigeciclina (TIG, 30 $\mu$ g), ácido nalidixico (NAL, 30 $\mu$ g), trimetropim-sulfametoazol (SXT, 25 $\mu$ g), ciprofloxacina (CIP, 5 $\mu$ g), norfloxacina (NOR, 10 $\mu$ g), levofloxacina (LVX, 5 $\mu$ g), y nitrofurantoína (NIT, 300 $\mu$ g). Las bacterias se consideraron resistentes de acuerdo con los valores de corte de susceptibilidad a los antibióticos según las norma M100-S20 2010 del Instituto de Estándares

para el Laboratorio Clínico de los Estados Unidos (CLSI),<sup>19</sup> y se reportan en las categorías de interpretación de acuerdo con los datos obtenidos *in vitro*.

Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos se realizaron por triplicado, empleando la cepa referencia de *Escherichia coli* ATCC 25922 para verificar la efectividad de los sensidiscos.

## Resultados

Se recolectaron los datos a partir de 1,829 aislamientos de bacterias entéricas Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae* y de no fermentadoras de lactosa; con un registro total de 893 y 936 bacterias aisladas durante los años 2007

y 2008, respectivamente. Las bacterias fueron recuperadas a partir de diferentes muestras clínicas habitualmente estériles; de líquidos (sangre, líquido pleural, líquido sinovial, orina, líquido cefalorraquídeo); de tejidos blandos (punción-aspiración); y de puntas de catéter.

Durante el año 2007, las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* representaron 75.4% (n= 673) de los aislados. De éstos: *E. coli* correspondió a 48.5%, *K. pneumoniae* a 27.6%, *P. mirabilis* a 9.8%, *E. aerogenes* a 4.9%, *E. cloacae* a 4.0%, *M. morganii* a 3.1%, *C. freundii* a 1.5%, y *P. vulgaris* a 1.3%. En el año 2008, los aislamientos de las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* representaron 74.3% (n= 695), con: 46.5% de *E. coli*, 30.8% de *K. pneumoniae*, 14.1% de *P. mirabilis*, 6.2% de *E. aerogenes*, 0.43% de *E. cloacae*, 0.43% de *M. morganii*, 1.2% de *C. freundii*, y 0.43% de *P. vulgaris*.

Cuadro 1

Porcentaje de resistencia a los antimicrobianos de los bacilos Gram negativos aislados de pacientes con infecciones intrahospitalarias de la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe.

CEPAS	<i>E. Coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeuroginosa</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>A. baumannii</i>		<i>E. aerogenes</i>		<i>E. Cloacae</i>		<i>C. freundii</i>		<i>M. morganii</i>		<i>Proteus-vulgaris</i>				
Año*	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	
Número aislados	327	323	186	214	153	170	66	98	67	71	33	43	27	3	10	8	21	3	3	3	3	3	
GEN	28,3	22	21,5	22	32,6	16,8	21	21,5	94,5	91,2	16,1	39	29,6	0	50	28,6	43	0	20	0	20	0	0
AMK	0	0	0	0	0	0	0	0	73,1	76,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NORF	48,2	51,1	34,6	36	0	33,3	0	9,5	0	0	40	20	28,6	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0
CIP	41,9	38,3	33	28,6	27,9	23,9	27,9	21,9	61,2	93,8	14,3	24	30	33,3	50	37,5	79	33,3	0	0	0	0	
LVX	39,1	50	28,6	33,3	29,1	0	10	0	65,5	50	33,3	0	27,8	0	44,4	0	64,7	50	0	0	0	0	
NAL	72,2	59,5	50	32,4	0	0	15,7	25	0	0	33,3	30	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
SXT	51,1	53	39,8	38,7	51,1		46	40	64,2	60	13,8	37,8	48,1		60	71,4	85,8	86,7	60	50			
TIG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NIT	0	0	23,5	13,9	0	0	0	0	0	0	33,3	60	0	0	0	0	0	0	50	0	76,7	0	
MEM	0	0	0	0	0	0	0	0	61,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
IPM	0	0	0	0	0	12,5	0	0	79,3	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ATM	0	0	11	27,4	16,8	0	0	0	85,1	88,6	16,7	33,3	47,4	0	25	0	81	0	0	0	0	0	
TZP	0	0	0	0	0	0	0	0	37,9	83,3	0	0	18,5	33,3	20	0	14,3	0	0	0	0	0	
SAM	45,4	49	32	48,5	0	0	26,8	19,7	98,5	45,8	52	76	0	0	80	75	0	86,7	0	0	0	0	
CEP 1	0	41,2	0	47,6	0	0	0	42,1	0	0	76,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
FOX	0	12,1	39,4	0	0	0	0	11,1	0	0	12	58,3	43	0	0	60	0	0	0	0	0	0	
CFP	0	33,3	0	0	0	0	0	0	40,3	43,3	62,7	0	77,8	0	33,3	0	97,4	0	0	0	0	0	
CRO	0	0	0	13,3	96,6	0	96,6	0	41,8	0	33,3	0	65,6	66,7	33,3	0	16,7	0	0	0	0	0	
CAZ	0	0	0	0	13,7	21,3	13,7	0	77,6	84,5	25	0	65,6	66,7	33,3	0	27,8	0	0	0	0	0	
CTX	19,6	13	15	21,5	79,8	0	78,8	0	41,8	93,3	17,1	40	67	50	30	28,6	20	0	0	0	0	0	
FEP	0	23,8	15,2	22,2	0	0	0	0	40,3	75	0	0	31,6	33,3	10	0	10	0	0	0	33,3	0	

Gentamicina: GEN, Amikacina: AMK; Norfloxacina: NORF, Ciprofloxacina: CIP, Levofloxacina: LVX, Ácido Nalidíxico: NAL, trimetoprim-sulfametoaxazol: SXT, Tigeciclina: TIG, Nitrofurantoina: NIT, Meropenem: MEM, Imipenem: IPM, Aztreonam: ATM, piperacilina-tazobactam: TZP, ampicilina-sulbactam: SAM, cefalotina: CEP, cefoxitina: FOX, cefoperazona: CFP, ceftriaxona: CRO, Ceftazidima: CAZ, CTX: Cefotaxima; Cefepime: FEP.

Los aislamientos de bacterias Gram negativas no fermentadoras de lactosa representaron 24.6 % (n= 220) durante el año 2007, con 69.5% para los aislados de *Ps. Aeruginosa* y 30.5% para *A. baumannii*. En el año 2008, los aislamiento de estas bacterias representaron 25.7% (n= 241), de los cuales 70.5% correspondió a *P. aeruginosa* y 29.5% para *A. baumannii*.

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos se plasmaron en el cuadro básico usado en el hospital. Los porcentajes de resistencia se encuentran en el cuadro 1.

De acuerdo con lo observado, los antibióticos a los que las bacterias mostraron resistencia con mayor asiduidad durante 2007 y 2008 fueron: trimetropim-sulfametoazol, especialmente en los aislados de *M. morganii* (85.8% y 86.7%) y *C. freundii* (60% y 71.4%); y ampicilina/sulbactam, principalmente en los aislados de *C. freundii* (80 y 75%) y *E. aerogenes* (52% y 76%). Otros antibióticos a los que se registró resistencia correspondieron, en el siguiente orden, a ciprofloxacina, cefotaxima, levofloxacina, y gentamicina.

La resistencia a cefalosporinas de tercera generación en *K. pneumoniae* se determinó especialmente a cefotaxima en 15% de los aislados para 2007, con un incremento de 21.5% en 2008. Para este último año se registró que 13.3% de los aislados presentaron resistencia a ceftriaxona. En cuanto a los aislados de *Ps. Aeruginosa*, en 79.8% se presentó resistencia a cefotaxima, 96.6% a ceftriaxona, y 13.7% a ceftazidima para el año 2007. Sin embargo, en 2008, la resistencia sólo se mantuvo a ceftazidima con 21.3%. Los aislados de *E. aerogenes* registraron resistencia a cefotaxima en 17.1%, a ceftriaxona en 33.3%, a ceftazidima en 25%, y a cefoperazona en 62.7% para el año 2007; la resistencia sólo se mantuvo a cefotaxima en 40% de los aislados durante 2008. En este mismo año, *C. freundii* registró resistencia únicamente a cefotaxima en 28.6% de los aislados. Todos los aislados presentaron sensibilidad a los antibióticos inhibidores de β-lactamasas, especialmente tazobactam.

En cuanto a *E. coli*, se observó resistencia a cefotaxima en 19.6% de aislados durante 2007, y 13% para 2008. La resistencia determinada para aminoglicósidos (gentamicina) en algunos de estos aislados correspondió a 28.3% en el año 2007, y 22% en 2008; cerca de la mitad de los aislados presentaron resistencia a los antibióticos inhibidores de la síntesis de ácidos nucléicos, 51.5% de los aislados fueron resistentes a trimetropim-sulfametoazol en 2007, y 53% en 2008; mientras que 41.9% de los aislados presentaron resistencia a ciprofloxacina en 2007, con una leve disminución (38.3%) para el año 2008. En algunos aislados de *K. pneumoniae* se determinó algo similar.

La mayoría de los aislados de las cepas del grupo *Pseudomonas*, *Proteus*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, y *Enterobacter* (SPACE) presentaron resistencia principalmente a las cefalosporinas de tercera generación, como es el caso de *E. cloacae*, *C. freundii* y *A. baumannii*, con marcada resistencia a los antibióticos β-lactámicos empleados en combinación con inhibidores de β-lactamasas.

La resistencia a cefoxitina se detectó en 12% de los aislados de *E. aerogenes* para el año 2007, y se incrementó a 58.3% en 2008. En este mismo año se detectaron aislados

resistentes a dicho antibiótico en 60% para *C. freundii*, 12.1% para *E. coli*, y 11.1% para *P. mirabilis*. En ninguno de estos aislados se determinó resistencia a cefepime. Sin embargo, la resistencia a cefepime se observó en 40.3% de los aislados de *A. baumannii* en 2007, con un incremento a 75% en 2008; en el caso de los aislados de *K. pneumoniae* fue de 15.2% a 22.2%, y *E. cloacae* de 31.6% a 33.3%, respectivamente. En cuanto a *E. coli*, se observó la aparición de aislados resistentes a cefepime en 23.8% para 2008.

Entre los aislados de *P. aeruginosa* se registró resistencia a imipenem en 12.5% para el año 2008, y para *A. baumannii* la resistencia a este antibiótico se mantuvo durante los dos años del estudio, con 79.3% de los aislados para 2007, y una disminución a 50% para 2008. No obstante, en aislados de esta bacteria se detectó una alta resistencia a meropenem en 61.2% de ellos, durante 2007. Para los aminoglicósidos evaluados, se detectó resistencia a gentamicina en todas las bacterias aisladas, pero destacó *A. baumannii* con más de 90% de los aislados resistentes a este antibiótico. Un comportamiento similar se observó en los antibióticos inhibidores de la síntesis de ácidos nucléicos, donde más de 60% de los aislados de *A. baumannii* presentaron resistencia.

## Discusión

En la UCI, los aislados más frecuentes correspondieron a *E. coli*, seguida de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* y *A. baumannii*. El aislamiento de *E. cloacae*, *C. freundii*, *M. morganii* y *P. vulgaris* fue bajo durante los dos años que duró el estudio.

El análisis de los resultados obtenidos en la prueba de susceptibilidad a los antibióticos permite inferir acerca de la clase de β-lactamasas producidas por las bacterias resistentes.<sup>20</sup> Según esta interpretación, se sugiere que la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, observada en algunos aislados susceptibles a los antibióticos inhibidores de β-lactamasas (sulbactam y, especialmente, tazobactam) de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *C. freundii*, puede ser debida a la presencia de BLEE, como se ha establecido en estudios anteriores.<sup>21</sup> En este sentido, la resistencia registrada a cefalosporinas de tercera (cefotaxima) y cuarta generación (cefepima), al monobactámico aztreonam y a los inhibidores de β-lactamasas (ampicilina/sulbactam o piperacillina/tazobactam) en los aislados de *A. baumannii*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *M. morganii*, y especialmente en *K. pneumoniae*, sugiere que el mecanismo principal que media la resistencia estaría determinado por la producción de BLEE.<sup>21,22</sup>

La resistencia observada a cefalosporinas de cuarta generación se debe, probablemente, al efecto de inóculo que sufren las BLEE, sobre todo en aquellas infecciones con inóculos bacterianos elevados. De esta manera, el antibiótico cefepima puede ser hidrolizado con mayor afinidad y velocidad, conduciendo hacia un fracaso terapéutico.<sup>21</sup>

La resistencia simultánea registrada a la cefalosporina de tercera generación (cefotaxima), gentamicina, ciprofloxacina y trimetropim-sulfametoazol, con una sen-

sibilidad aparente a ceftazidima y aztreonam en algunos aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae*, hace pensar que la resistencia se deba a un mecanismo mediado por BLEE tipo CTX-M. Esta enzima es la que se aísla con mayor frecuencia en Europa, Latinoamérica<sup>11</sup> y en los hospitales de Colombia.<sup>23</sup>

Las BLEE tipo OXA confieren resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación.<sup>14</sup> De acuerdo con esta aproximación, es probable que la resistencia determinada a ceftazidima, cefotaxima y aztreonam en aislados de *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *M. morganii*, *E. cloacae*, y *A. baumannii* se deba a esta clase de enzima. Sin embargo, el fenotipo de algunos aislados con resistencia a ceftazidima y aztreonam no descarta la posibilidad de que exista la presencia de BLEE tipo PER-1 o PER-2, como lo han establecido estudios anteriores.<sup>13</sup>

Para algunos de los aislados, la resistencia determinada a cefoxitina, cefalosporinas de tercera generación (cefoperazona, ceftriaxona, cefotaxima y ceftazidima) e inhibidores de β-lactamasa (tazobactam y sulbactam), como en el caso de *P. mirabilis*, *E. aerogenes* y *C. freundii* con sensibilidad a cefepime, hace pensar en la posibilidad de que se trate de aislados cuya resistencia estaría mediada por β-lactamasa tipo AmpC.<sup>11,20</sup>

Algunos estudios establecen que la principal resistencia a los antibióticos β-lactámicos en estas bacterias está mediada por la β-lactamasa tipo AmpC. El gen que codifica por este tipo de β-lactamasa se localiza preferencialmente en el cromosoma bacteriano, y su expresión se induce fácilmente por el uso de cefalosporinas de amplio espectro, como las de tercera generación.<sup>11,20</sup> En los estudios realizados por Chow y colaboradores,<sup>24</sup> se demostró que el uso de cefalosporinas de tercera generación selecciona, en 32% de los casos, cepas multirresistentes de *Enterobacter spp* con una mortalidad asociada de 20%. Los estudios de Kaye y colaboradores<sup>25</sup> determinaron cifras más altas en la selección de *Enterobacter spp* multirresistente debida a estos antibióticos en 63% de los casos, con una mortalidad asociada de 26%.

El empleo extensivo de cefalosporinas en los hospitales, en especial las de tercera generación, genera una presión selectiva que favorece la aparición de mutantes productoras de β-lactamasas que actúan sobre todos los antibióticos β-lactámicos conocidos, excepto los carbapenémicos, como es el caso de los aislados de las enterobacterias evaluadas. Esta β-lactamasa es altamente activa contra la ampicilina y las cefalosporinas de primera generación; y, a las mismas concentraciones, menos activa contra cefalosporinas de tercera generación, pero al entrar en contacto con éstas se producen grandes cantidades de la enzima, lo que explicaría el comportamiento de algunos aislados en lo que respecta a la susceptibilidad a los antibióticos β-lactámicos demostrada en nuestro estudio.<sup>21</sup>

Por otra parte, la probable presencia fenotípica de β-lactamasa AmpC tipo CMY-2 se podría determinar por la resistencia observada a los antibióticos penicilina, aztreonam y cefalosporinas (con excepción de cefepime). Es probable que entre los aislados estudiados, especialmente de *E. aerogenes*, se encuentre este tipo de determinante de resistencia.<sup>11,20</sup>

Los estudios efectuados por Doi y colaboradores<sup>26</sup> demostraron la presencia de dos variantes de β-lactamasas CMY-2 (CMY-33 y CMY-44) que confieren resistencia a cefepima. Algunos aislados de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *E. cloacae* y *A. baumannii* podrían tener incorporados estos tipos de variantes de CMY-2. Lo anterior explicaría la resistencia observada en estos aislados a cefepima. Entre estas cepas, probablemente se podría estar presentando un fenómeno de hiperproducción de β-lactamasas tipo AmpC, por lo que sería recomendable elegir una opción terapéutica de mayor espectro (carbapenémicos).<sup>20,24</sup>

La resistencia detectada a cefoxitina en los aislados de *K. pneumoniae*, así como la resistencia observada a otras cefalosporinas, refuerza la evidencia de que esta resistencia se deba a la producción de β-Lactamasas tipo AmpC. No obstante, se debe considerar la posibilidad de que la resistencia a estas cefalosporinas, en algunos de los aislados, se deba también a la presencia de porinas mutadas, como la OmpK35 y OmpK36, que impiden la penetración de la droga por la membrana externa.<sup>4,21</sup> En los estudios desarrollados por Martínez-Martínez<sup>27</sup> se detectaron cepas mutantes en *K. pneumoniae* carentes de esta porina, en hospitales de Colombia.

En el caso de *A. baumannii*, se halló que los aislados presentan una amplia diversidad de fenotipos con resistencia a casi todos los antibióticos evaluados en este estudio, exceptuados el ácido nalidíxico y la nitrofurantoína. Lo anterior estaría en concordancia con una probable resistencia favorecida por β-lactamasas, en lugar de la presencia de porinas mutadas.

En 2007, se determinaron aislados de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* con resistencia a imipenem, y en 2008 se detectaron aislados con resistencia a meropenem, siendo estos fármacos la primera opción para tratar las infecciones ocasionadas por dichas bacterias. Existe, también, la posibilidad de que en algunos de los aislados de estas bacterias no fermentadoras, especialmente en *P. aeruginosa*, se haya perdido la porina OprD, lo que generaría una mayor resistencia a imipenem y una disminución de la sensibilidad a meropenem.<sup>28,29</sup> Se ha establecido que la pérdida de esta porina la favorece por el tratamiento prolongado con carbapenemes tipo imipenem.<sup>16,29</sup>

En el caso de infecciones de *P. aeruginosa*, los resultados demuestran que, en aislados con resistencia a gentamicina y ceftazidima, la terapia opcional incluye el empleo de estos fármacos. Los resultados que presentamos son preocupantes porque, si tenemos en cuenta que *P. aeruginosa* fue el tercer bacilo que se aisló con mayor frecuencia en este estudio, las opciones terapéuticas para tratar las infecciones desencadenadas por estos patógenos están disminuyendo. Los factores de riesgo para el desarrollo de la resistencia en estas bacterias se asocian, en gran medida, con el uso inapropiado del antibiótico por parte del personal de salud.<sup>15,16</sup>

El gran número de aislados con resistencia a los aminoglucósidos y a los antibióticos inhibidores del ADN en el período estudiado refuerza la idea de que el uso indiscriminado de estos antibióticos ha favorecido la producción de β-lactamasas de espectro extendido.<sup>7,13,15</sup>

Como logramos establecer en el presente estudio, con el manejo adecuado de los resultados de las pruebas de susceptibilidad se pueden inferir los mecanismos de resistencia subyacentes en un aislamiento particular, como ya ha sido establecido anteriormente.<sup>20</sup>

El conocimiento de los mecanismos de resistencia bacterianos contribuye a elegir racionalmente los antibióticos. También permite definir protocolos de uso de

antibióticos en cada hospital e implementar medidas de contención a través del comité de infecciones para evitar brotes, lo que finalmente se traduce en la disminución de los costos hospitalarios. Además, los resultados podrán ser corroborados mediante técnicas de biología molecular que permitirán establecer tanto los mecanismos de resistencia como los patrones de diseminación de las bacterias más prevalentes en el hospital.

## Referencias

- Cabrera CE, Gómez RF, Zuñiga AE, Corral RH, López B, Chávez M. "Epidemiology of nosocomial bacteria resistant to antimicrobials". *Colomb Med* 2011; 42(2): 117-125.
- Arpin C, Dubois V, Coulange L, Andre C, Fischer I, Noury P, et al. "Extended-spectrum B-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community and private health care centers". *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3506-3514.
- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. "The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance". *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 629-640.
- Poole K. "Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria". *Curr Pharm Biotechnol* 2002; 3: 77-98.
- Paterson DL, Bonomo RA. "Extended-spectrum B-lactamases: a clinical update". *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657-686.
- Martínez DV. "Betalactamasas tipo AmpC: Generalidades y métodos para detección fenotípica". *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2009; 29(2): 78-83.
- Bonnet R, Chanal C, Ageron E, Sirot D, De champs C, Grimont P, et al. "Inducible AmpC β-Lactamase of a new member Enterobacteriaceae". *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3316-3321.
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. "Plasmid-mediated AmpC-type beta-lactamases". *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1-11.
- Giamarellou H. "Multidrug resistance in Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum B-lactamases (ESBLs)". *Clin Microbiol Infect* 2005; 11Supl. 4: 1-16.
- Tzouvelekis LS, Bonomo RA. "SHV-type β-lactamases". *Curr Pharm Des* 1999; 5: 847-864.
- Bradford PA. "Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat". *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 933-951.
- Poirel L, Kampfer P, Nordmann P. "Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum beta-lactamases". *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 4038-4040.
- Endimiani A, Luzzaro F, Pini B, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo AQ. "Pseudomonas aeruginosa bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to expression of the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase". *BMC Infect Dis* 2006; 6: 52.
- Naas T, Nordmann P. "OXA-type β-lactamases". *Curr Pharm Des*. 1999; 5: 865-79.
- Suárez C, Kattán J, Guzmán A, Villegas M. "Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control". *Infection* 2006; 10: 85-93.
- Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. "Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients". *Clin Infect Dis* 2002; 34: 340-345.
- Hooper DC. "Efflux pumps and nosocomial antibiotic resistance: A primer for hospital epidemiologists". *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1811-1817.
- Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method". *Am J Clin Pathol* 1966; 45: 493.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement". USA; 2010.
- Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. "Interpretative reading: Recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes". *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 87-102.
- Torres JA, Villegas MV, Quinn JP. "Current concepts in antibiotic-resistant gram negative bacteria". *Expert Rev Anti Infect Ther* 2007; 5(5): 833-843.
- Sader HS, Hsiung A, Fritsche TR, Jones RN. "Comparative activities of ceftazidime and piperacillin/tazobactam tested against a global collection of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. with an ESBL phenotype". *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 341-344.
- Mantilla JR, Reguero MT, González EB, García IA, Leal AL, Espinal PA. "Caracterización epidemiológica y molecular de un brote causado por *K. pneumoniae* productora de CTX-M del grupo 1, en una unidad de cuidados intensivos neonatal en un hospital de Bogotá". *Biomédica* 2006; 26(003): 408-414.
- Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, et al. "Enterobacter bacteremia: Clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy". *Ann Intern Med* 1991; 115: 585-590.
- Kaye KS, Cosgrove S, Harris A, Eliopoulos GM, Carmeli Y. "Mechanisms of resistance: Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp". *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2628-2630.
- Doi Y, Paterson DL, Adams-Haduch JM, Sidjabat HE, O'Keefe A, Endimiani A, et al. "Reduced susceptibility to ceftazidime among *Escherichia coli* clinical isolates producing novel variants of CMY-2 β-Lactamase". *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(7): 3159-3161.

27. Martínez-Martínez S, Hernández-Allés L, Albertí S, Tomás JM, Benedi VJ, Jacoby GA. "In vivo selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum cephalosporins". *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 342-348.
28. Tomás M, Doumith M, Warner M, Turton JF, Beceiro A, Bou G, et al. "Antimicrob efflux pumps, OprD porin, AmpC  $\beta$ -lactamase, and multiresistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients". *Agents Chemother* 2010; 54: 2219 -2224.
29. Epp SF, Köhler T, Plésiat P, Michéa-Hamzehpour M, Frey J, Pechère JC. "Terminal Region of *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD modulates susceptibility to meropenem". *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1780-1787.