



Universidad Nacional del Nordeste
FACULTAD DE MEDICINA
Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica

**Resistencia antimicrobiana
de *E. coli* aisladas de urocultivos
en pacientes ambulatorios**

Alumno: *Ruiz, Cecilia Yanina*
Director *Cardozo, Marina Cecilia*

ÍNDICE

- Índice	1
- Agradecimientos	2
- Marco de Referencia	3
- Justificación	4
- Hipótesis	5
- Objetivo General	5
- Objetivos específicos	5
- Aspectos metodológicos	5
- Resultados	6
- Tablas y gráficos	7
- Discusión	10
- Conclusión	11
- Bibliografía	12

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Marina Cecilia Cardozo, por compartir sus conocimientos, y dedicar tiempo extra y esfuerzo a su labor.

A mi colega y amiga Aquino Zulema por compartir día a día la tarea de bacteriología sin competencia ni egoísmo.

Y a mi Familia que siempre estuvo a mi lado, acompañando en cada etapa de mi vida.

MARCO DE REFERENCIA:

Entre todas las infecciones humanas, las del aparato urinario son una de las más frecuentes, ocupando el segundo lugar después de las respiratorias. Excepto algunos microorganismos que se pueden encontrar en la uretra anterior, el aparato urinario está libre de microorganismos, por lo tanto, su presencia en la orina probablemente será indicativo de infección.ⁱ

La invasión del aparato urinario sano está restringido a un grupo muy selecto de microorganismos, llamados "uropatógenos", que son capaces, mediante la expresión de factores de virulencia, de sobrepasar, o minimizar los mecanismos de defensa del huésped. El microbiólogo debe tener en cuenta que el tipo de microorganismo aislado va a variar dependiendo de las circunstancias del paciente y sus enfermedades de base. Entre las infecciones adquiridas en la comunidad y enfermos sin factores de riesgo específicos, *Escherichia coli* (con una extrema y sofisticada adaptación para alcanzar las estructuras del aparato urinario) es la bacteria aislada en más del 70% de los casos, seguida de *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* y *Enterococcus faecalis*.ⁱ

Escherichia coli es colonizante del tracto gastrointestinal en humanos. Es un bacilo Gram negativo, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. La bacteria actúa como oportunista, coloniza desde las heces o la región perineal y asciende por el tracto urinario. Por ello es el principal agente en mujeres jóvenes, sexualmente activas. Su capacidad para invadir estructuras del árbol urinario, aún sanas, reside en su capacidad de expresar adhesinas o fimbrias manosa sensibles (MS) y manosa resistentes (MR) que reconocen determinados receptores celulares en los epitelios del aparato urinario del huésped. Además de estas características estructurales de la célula bacteriana, *E. coli* sintetiza enzimas como hemolisinas, leucocidinas, entre otros factores de virulencia. Es un microorganismo capaz de producir reinfección, se une a las células epiteliales de la vejiga, desarrolla una comunidad bacteriana y forma una biofilm evadiendo la respuesta del huésped, pudiendo permanecer meses después de la infección. Este mecanismo podría actuar como reservorio de la bacteria y en algún momento reactivarse como patógeno.^{ii;iii}

En un monitoreo de poblaciones realizado en España entre los años 2000 y 2006 se observó un aumento de la resistencia de *E. coli* a los antibióticos, principalmente a ampicilina, seguido por ciprofloxacina entre otros. Por otra parte la nitrofurantoína y la fosmocina, de uso específico en las IU, demostraron bajas tasas de resistencia antibiótica.^{iv}

E. coli posee varios mecanismos de resistencia antibiótica:

-**Alteraciones en la permeabilidad:** bajo nivel de resistencia, inespecífica, aunque generalmente va acompañado de otro mecanismo.

- **β Lactamasa de espectro ampliado (BLEA):** Clase A (Ambler) Grupo 2b KB: TEM-1, TEM-2 y SHV-1 presentan resistencia a ampicilina y ticarcilina. Inhibibles por sulbactam, clavulánico y tazobactam. La hiperproducción de TEM-1 o SHV-1 generan resistencia ampicilina, ticarcilina, amoxicilina/clavulánico, ampicilina/sulbactam y cefalotina.

- **β lactamasa de espectro extendido (BLEE):** Grupo 2be KB: TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, OXAs. Presentan resistencia a ampicilina, ticarcilina, piperacilina, cefalosporinas 1^º, 2^º, 3^º (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) y de 4^º generación (cefepime) y monobactames. Generalmente presentan resistencia acompañante a quinolonas y aminoglucósidos.

- **β Lactamasa de tipo AmpC plasmídica:** Clase C (Ambler) – Grupo 1 (KB). Tienen la característica de dar cefoxitina resistentente, aunque existen excepciones. Son inhibibles por oxa/cloxa y ácido borónico. Generan resistencia a cefalosporinas de 3ª generación y disminución en la sensibilidad de las de 4ª. En el caso de infección urinaria no complicada, el uso de cefalosporinas 3ª generación sensibles en el antibiograma, puede tener éxito de tratamiento.^v

- **Resistencia a quinolonas:** existen mecanismos por mutaciones cromosómicas (no transferibles):

a) Alteraciones del sitio blanco (mutaciones en QRDR de genes *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*)

b) Disminución de la concentración citoplasmática de la droga (reducción de permeabilidad, E-flujo).

Y mecanismos plasmídicos (transferibles):

a- Protección del sitio blanco (proteína Qnr protege ADN girasa y Topo IV)

b- Modificación enzimática del ATB (enzima AAC(6`)-1b acetila el grupo NH₂)

c- E-flujo específico para Fluoroquinolonas

El principal mecanismo de resistencia en las quinolonas es por mutación en *gyr/par* (QRDR: 51-106 *GyrA*)^{vi,vii}

- **Carbapenemasas:** se clasifican en serin carbapenemasas, metalo β Lactamasa (MBL). Son enzimas que inactivan todos los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas y carbapanemes). Puntos de corte para sospechar presencia de carbapenemasa: CAZ \leq 22 y MER \leq 23.^{vii}

Durante los últimos años se ha alertado de la presencia de KPC en Enterobacterias, siendo *Klebsiella pneumoniae* principal patógeno portador de esta resistencia, pero ya se han detectado casos en *E. coli*, *C. freundii*, *Serratia marcescens* y *Enterobacter cloacae*.^{viii}

La situación en nuestro país:

Estudios de prevalencia de enzimas de tipo AmpC plasmídicas en Enterobacterias realizado entre el periodo de agosto - octubre del 2009 en varios hospitales de Buenos Aires y Santa Fe, demostraron que el 82,9 % de los hallazgos correspondían a *E. coli*, aislados en su mayoría de IU. El 23% de la resistencia a las cefalosporinas de 3º generación fue debido a este mecanismo.^{ix}

En octubre de 2010 estudios realizados en 15 hospitales y centros de salud públicos de Buenos Aires, Santa Fe y Chubut investigaron la resistencia de cefotaxima y/o ceftazidima en Enterobacterias, registrándose un 5,7 % de resistencia perteneciente a *E. coli*, siendo la producción de BLEE el principal mecanismo de resistencia a cefalosporinas de 3º generación, el que puede estar o no acompañado de otros mecanismos.^{vi}

JUSTIFICACIÓN:

Se han detectado cambios en el patrón de sensibilidad a ciertos antimicrobianos de uso habitual en el tratamiento empírico de las infecciones del tracto urinario, lo que plantea la necesidad de revisar las pautas actualmente establecidas. Es importante mantener un estado de vigilancia activa en la evolución de resistencias y adecuar el tratamiento a la población estudiada.

HIPÓTESIS:

Existe un aumento de la resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos de primera elección en infecciones urinarias.

OBJETIVO GENERAL:

Conocer la resistencia a antibióticos de cepas de *E. coli* aisladas de pacientes ambulatorios de la localidad de Villa Ángela, Chaco.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar la resistencia a antibióticos en cepas de *E. coli* presentes en infecciones urinarias.
- Predecir el tratamiento empírico adecuado para pacientes ambulatorios en IU de la comunidad en estudio.
- Promover el uso racional de antibióticos.

ASPECTOS METODOLÓGICOS:

Población en estudio:

Pacientes ambulatorios de la comunidad hospitalaria de Villa Ángela, Chaco

Criterios de inclusión:

- paciente ambulatorio
- ambos sexos
- rango etario: 10-50 años

Criterio de exclusión:

- pacientes internados
- estar bajo tratamiento antibiótico
- no pertenecer al rango etario
- pacientes sondados.

Muestras:

Se recolectaron muestras de urocultivos durante el período enero de 2012 hasta noviembre de 2015 de los pacientes que asistieron al laboratorio del Hospital Salvador Mazza de Villa Ángela, Chaco según los criterios de inclusión. Se indicó la recolección de orina por la técnica del chorro medio en frascos estériles, siguiendo las normas establecidas en el POE de urocultivos del laboratorio (anexo 1). Posterior a ser procesadas se seleccionó los cultivos monomicrobianos, con un desarrollo mayor a 10^5 UFC/ml de *Escherichia coli*.

Procesamiento de las muestras

Las muestras fueron procesadas siguiendo las normas de cultivo de orina usuales del laboratorio, establecidas en el POE de Urocultivo (anexo 1) y según la normas de bioseguridad establecidas por la OMS.^x

Resistencia a antimicrobianos

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *E.coli* aisladas de las muestras de orina a diferentes antibióticos empleando la técnica de difusión en agar de Kirby Bauer y utilizando las recomendaciones establecidas por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{xi xii}

Se probaron los siguientes antibióticos:

- Ampicilina 10 µg,
- Ampicilina/sulbactam 20 µg,
- Cefalotina 30 µg,
- Ciprofloxacina 5 µg,
- Ácido nalidíxico 30 µg,
- Nitrofurantoína 300 µg,
- Trimetoprima/sulfametoxazol 1,25 µg,
- Cefoxitina 30 µg.

Según el patrón de resistencia de la cepa, se ensayaron otros antibióticos para corroborar los mecanismos involucrados. Antibióticos suplementarios: Cefotaxima 30 µg, Ceftazidima 30 µg, Amoxicilina/clavulánico, Ácido Borónico, Cefotaxima/clavulánico, Ceftazidima/clavulánico.

Análisis estadístico: se empleó el Software Infostat (2002), v.1.1.

RESULTADOS:

Se procesaron 344 urocultivos monomicrobianos con recuento significativo para *Escherichia coli*, 318 pertenecientes al sexo femenino y 26 al sexo masculino.

Se estudio la variación de la sensibilidad a los antibióticos probados según el año estudiado **(ver tabla 1)**.

En función del análisis de los datos obtenidos se comprobó el aumento de la resistencia, significativo para trimetroprima/sulfametoxazol con un aumento superior al 10% a lo largo del período evaluado. Caso contrario para nitrofurantoína, de uso específico para infecciones urinarias, demostró una sensibilidad del 99%, aun en los cultivos que presentaron resistencia múltiple. Los restantes antibióticos, mantuvieron un patrón constante de resistencia con variaciones no superiores al 5 %.

Cabe destacar que de los 344 urocultivos, 15 (4%) presentaron BLEE con resistencia a Ciprofloxacina acompañante en un 99% de los casos. Solo en un caso en el año 2015 se comprobó el mecanismo de AMPc plasmídica, mediante la sinergia de cefalosporinas de tercera generación con ácido borónico, de los 3 urocultivos que presentaron resistencia ó sensibilidad intermedia a FOX.

El promedio de resistencia a los antibióticos obtenido para *Escherichia coli* en la etapa 2012-2015 es: ampicilina (AMP) 59%, ampicilina/sulbactam (AMS) 21%, cefalotina (CEF) 20%, cefoxitina (FOX) 1%, ácido nalidíxico 18%, ciprofloxacina (CIP) 13%, trimetroprima/sulfametoxazol (TMS) 38% y nitrofurantoína (NIT) 1%.**(ver tabla 2); (figura 1)**.

TABLA 1:

	2012			2013			2014			2015		
	SENSIBLE	SI	RESISTENTE									
AMP	31%	7%	62%	38%	4%	58%	36%	4%	60%	38%	5%	57%
AMS	67%	13%	20%	65%	11%	24%	75%	5%	20%	75%	7%	18%
AN	85%	2%	13%	77%	1%	22%	80%	1%	19%	84%	0%	16%
CEF	57%	24%	19%	57%	18%	25%	61%	18%	21%	65%	17%	18%
CIP	89%	0%	11%	83%	1%	16%	85%	0%	15%	89%	0%	11%
FOX	99%	1%	0%	99%	0%	1%	99%	1%	0%	99%	0%	1%
NIT	100%	0%	0%	99%	0%	1%	97%	2%	1%	100%	0%	0%
TMS	68%	1%	31%	65%	1%	34%	56%	0%	44%	58%	0%	42%

- AMP: Ampicilina

- FOX: Cefoxitina

- TMS: Trimetroprima/sulfametoxazol

- SI= Sensibilidad intermedia.

- AMS: Ampicilina/sulbactam

- CTX: Cefotaxima

- CEF: Cefalotina

- CIP: Ciprofloxacina

- NIT: Nitrofurantoína

FIGURA 1:

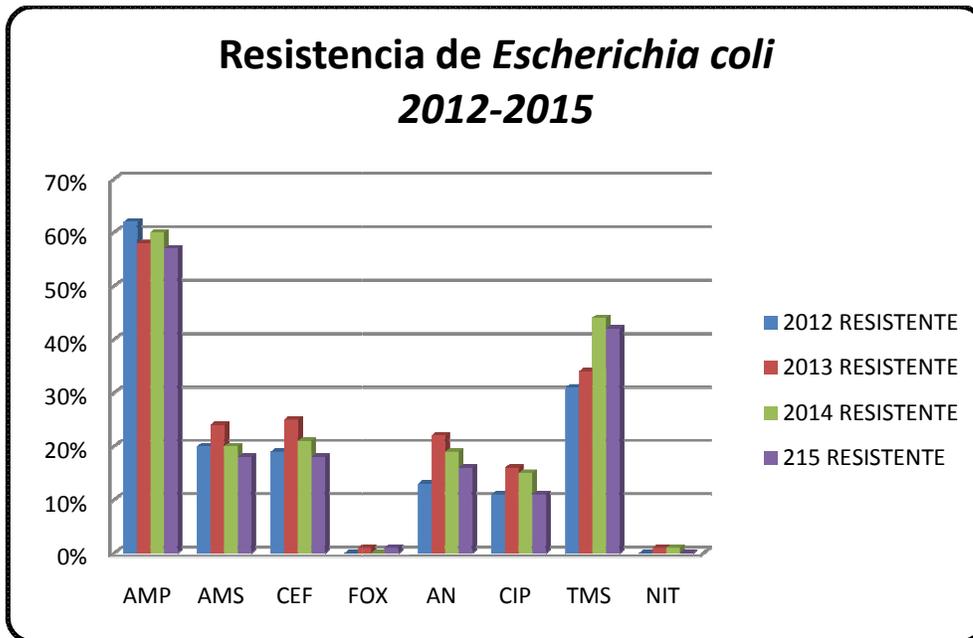
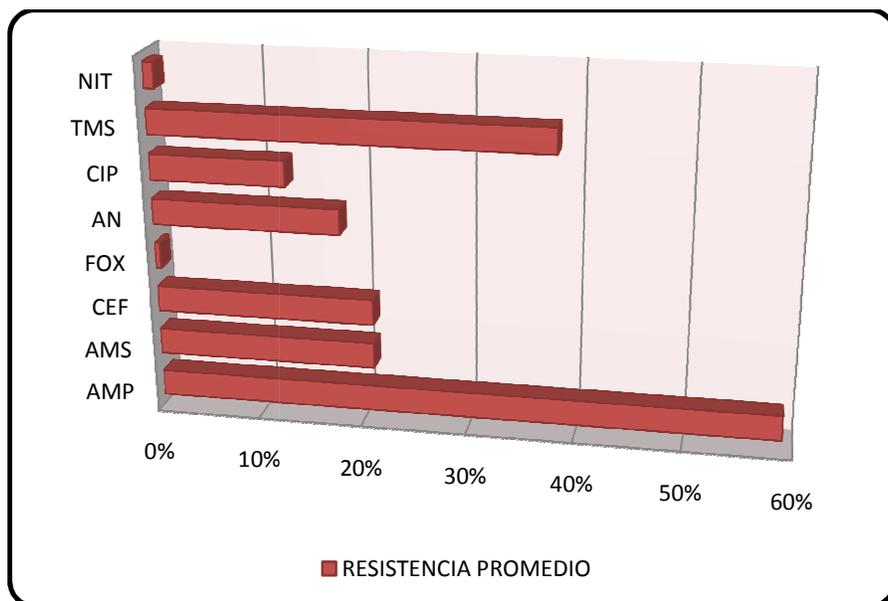


TABLA 2: Resistencia promedio a los antibióticos de *E. coli* en el período 2012-2015

ANTIBIÓTICOS	RESISTENCIA PROMEDIO
AMP	59%
AMS	21%
CEF	20%
FOX	1%
AN	18%
CIP	13%
TMS	38%
NIT	1%

FIGURA 2:



DISCUSIÓN:

El incremento del uso de antibióticos es la principal causa del aumento de resistencia bacteriana.^{xiii}

En *Escherichia coli* prevalece el mecanismo de resistencia de β Lactamasa de espectro ampliado (BLEA), que le confiere resistencia a Ampicilina y Ticarcilina e hiperproducción de TEM-1 o SHV-1 que amplía la resistencia a Ampicilina/sulbactam, amoxicilina /clavulánico, Ticarcilina/clavulánico, Piperacilina y Cefalotina.

El incremento de la resistencia a TMS en la población ambulatoria se relaciona al incremento en la prescripción para el tratamiento de infecciones de piel y partes blandas con el advenimiento de SARM-Co (Staphylococcus aureus meticilino resistentes de la comunidad). Una guía para manejo de infecciones por SAMR ha sido publicada por la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA), que recomienda, para pacientes con infecciones no severas, terapia empírica por vía oral con: clindamicina, **cotrimoxazol (TMS)**, tetracilina, linezolid.^{xiv}

Las guías de tratamiento para cistitis agudas proponen el tratamiento empírico sin realizar urocultivos, en el caso de pacientes con alta sospecha clínica de infección urinaria no complicada. Tanto las guías de la *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) como las de la *European Unión* y las del *Consenso Argentino*, recomiendan como droga de primera línea Trimetroprima/sulfametoxazol (800/160 mg 2 veces por día) durante tres días.^{xv}

En el caso de CIP, el aumento de R en la población estudiada es mínimo a pesar del aumento de la resistencia a nivel mundial.

Durante el período de los años 2014 y 2015 emergieron los primeros casos de BLEE.

También es importante considerar los pacientes son de bajos recursos, y el único medio de acceder a los antibióticos es a través de programas nacionales como REMEDIAR y el acceso a antibióticos que les provee salud pública.

CONCLUSIÓN:

Las crecientes tasas de resistencia que presenta *E. coli* como patógeno urinario representan un grave problema emergente en la comunidad. Se ha demostrado a través del periodo estudiado la variación del patrón de resistencia en los antibióticos de primera elección.

Trimetoprima/sulfametoxazol al superar el 20% de resistencia no debería usarse como tratamiento empírico.

Por su parte los β lactámicos como las cefalosporinas de primera generación y ampicilina/sulbactam son menos efectivos en el tratamiento y solo deben usarse en caso de tener un antibiograma que demuestre su sensibilidad.

Una alternativa óptima para tratamiento de primera elección sería Ciprofloxacina o Nitrofurantoína, considerando edad del paciente, clearance de creatinina y otros factores de riesgo.

Los médicos deberían implementar un tratamiento empírico en primera instancia pero previamente solicitar urocultivo para monitorear la emergencia del las BLEE en la comunidad y sus resistencia acompañante.

-
- ⁱ Picazo J. J editor, La infección urinaria 2002. SEIMC.
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap14.pdf>
- ⁱⁱ Cátedra de Bacteriología-FCEQyN-UNaM. Infecciones Bacterianas: el Laboratorio y la Clínica. Posadas Misiones 2006
- ⁱⁱⁱ Valdevenito S Juan Pablo. Infección urinaria recurrente en la mujer. Rev. chil. infectol. [revista en la Internet]. 2008 Ago [citado 2013 Mar 19] ; 25(4): 268-276. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000400004&lng=es. doi: 10.4067/S0716-10182008000400004.
- ^{iv} Cañavate C; Cacho J; Coira Nieto A; Lepe Jiménez J A. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. 2010.
Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011 Jan;29(1):52-7. doi: 10.1016/j.eimc.2010.06.008
- ^v Galas M. Optimización de las pruebas de sensibilidad de los agentes etiológicos de infecciones ambulatorias. En: XVI Jornadas Argentinas de Microbiología y III Congreso Bioquímico del Litoral. Santa Fe 2015 Agosto 5-7.
- ^{vi} Bantar C, Casellas J. M, Couto E, Famiglietti A , Galas M, Goldberg M, Marin M, et al . Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. **Rev. argent. microbiol.**, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, v. 37, n. 1, marzo 2005. Disponible en <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412005000100008&lng=es&nrm=iso>. accedido en 23 abr. 2013.
- ^{vii} Whonet Argentina. [en línea] Protocolo WHONET consensuado . Agosto de 2014. [Consulta: 10 de marzo de 2015] Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/10/Protocolo-WHONET-consensuado-agosto-2014-FINAL-2.pdf>
- ^{viii} Pasteran F, Corso A. Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología. Servicio antimicrobianos; Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Anlis Dr Carlos Malbran, Buenos Aires, Argentina 2010 Mayo.
- ^{ix} Radice M. Infecciones graves producidas por bacterias multirresistentes: Resistencia a cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas en enterobacterias. En: XVI curso anual de la subcomisión de antimicrobianos SADEBAC, AAM; Resistencia 2011 junio
- ^x Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ª ed. Ginebra. 2005
- ^{xi} National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Tabla 2 A , M100-S22, 2012; M100-S23, 2013; M100-S24, 2014
- ^{xii} National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard - Eleventh Edition. M2-A11
- ^{xiii} LÁZARO, E.; OTEO, J.: "Evolución del consumo y de la resistencia a antibióticos en España". Inf. Ter. Sist. Nac. Salud, 30: 10, 2006.
- ^{xiv} Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, Karchmer AW, Levine DP, Murray BE, J Rybak M, Talan DA, Chambers HF; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in adults and children. Clin Infect Dis. 2011;52:e18-55.
- ^{xv} Lovesio C. Infecciones urinarias. Rosario: Corpus Libros Médicos y Científicos, 2010. p. 72- 74