PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO PROVENIENTES DE UROCULTIVOS DE PACIENTES PEDIATRICOS AMBULATORIOS.

Marchetti, Eliana

Gonzalez, Liliana Lorena

Cossutta, Sandra Lorena

Sección de Bacteriología - Hospital Infantil Municipal - Córdoba - Argentina.

Correspondencia: Marchetti Eliana. Sección de Bacteriología. Lavalleja 3050. Córdoba.
Tel: 0351-155065333. Eli_tala@hotmail.com.

Aceptado para su publicación 27/3/17.

RESUMEN

La infección del tracto urinario (ITU) es uno de los principales motivos de consulta y hospitalización en pediatría. El agente etiológico que se encuentra con mayor frecuencia en infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad (ITU-IC) es *Escherichia coli,* responsable de entre el 80 y 90% de las infecciones. En los últimos años, las opciones terapéuticas para ITU-IC causadas por Enterobacterias se han reducido progresivamente debido a la adquisición de mecanismos de resistencia. En los bacilos gram negativos el más común e importante es la producción de Betalactamasas, principalmente de Espectro Extendido (BLEE). El objetivo fue determinar la prevalencia y conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias productoras de BLEE provenientes de urocultivos de pacientes pediátricos ambulatorios procedentes del Hospital Infantil Municipal de Córdoba sin factores de riesgo asociados en el periodo Enero 2011- Diciembre 2015.

En el presente trabajo, la prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE causante de ITU-IC en pacientes pediátricos fue del 1,35 %.

Palabras claves: Enterobacterias. Betalactamasas de espectro extendido. Infección del tracto urinario. Prevalencia.

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es uno de los principales motivos de consulta y hospitalización en pediatría. Representa una de las infecciones bacterianas más frecuentes después de las respiratorias y diarreicas (1), siendo su diagnóstico de suma importancia para prevenir complicaciones a largo plazo tales como cicatrices renales, hipertensión arterial e insuficiencia renal crónica (2,3). Afecta con mayor frecuencia a pacientes de sexo femenino en todas las edades, a excepción de los primeros tres meses de vida, periodo en el que predomina en varones. Aproximadamente un 3% de las niñas prepuberales y el 1% de los varones de edad similar han presentado ITU a lo largo de su infancia (4).

Entre las especies uropatógenas encontramos principalmente enterobacterias. El agente etiológico que se aisla con mayor frecuencia en infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad (ITU-IC) es *Escherichia coli* responsable de entre el 80 y 90% de las infecciones. Ocasionalmente, otras especies tales como *Klebsiella spp, Proteus spp, Enterobacter spp, Pseudomona aeruginosa y Enterococos spp* causan ITU-IC (5-8).

En los últimos años, las opciones terapéuticas para ITU-IC causadas por enterobacterias se han reducido progresivamente debido a la adquisición de mecanismos de resistencia. En los bacilos

gram negativos el más común e importante es la producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico inactivando los antibióticos. Un grupo importante de estas enzimas son las BLEE que tienen la capacidad de hidrolizar Penicilinas, Cefalosporinas de primera, segunda, tercera, cuarta generación y Monobactámicos, pero no a Cefamicinas ni a Carbapenemicos, siendo inhibidas por el Ácido Clavulánico. Los genes que las codifican se encuentran en elementos móviles que facilitan su diseminación y con frecuencia presentan resistencia a otros antimicrobianos (9-11).

Las BLEE se pueden clasificar en diferentes grupos, la mayoría de ellas pertenecen a la clase molecular A de Ambler. Existen tres tipos principales, TEM, SHV y CTX-M. Las BLEE tipo TEM y SHV se empezaron a describir en los años ochenta y derivan de Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) por mutaciones puntuales que amplían el espectro. Las CTX-M, de diferente historia evolutiva, derivan de enzimas cromosómicas de *Kluyvera spp* y son las BLEE de mayor reporte mundial tanto en el ámbito nosocomial como en la comunidad (9,11,12). En nuestro país la BLEE CTX-M-2 es la variante alélica endémica, diferente a la de otros países como Francia, Italia y USA, donde es frecuente observar BLEE derivadas de TEM y SHV (13-16).

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias productoras de BLEE provenientes de urocultivos de pacientes pediátricos ambulatorios que asistieron al Hospital Infantil Municipal de Córdoba sin factores de riesgo asociados en el periodo Enero 2011- Diciembre 2015.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo en un período comprendido entre Enero del 2011 y Diciembre de 2015 sobre un total de 2882 urocultivos positivos. Las muestras provenían de pacientes de la comunidad de 0 a 15 años de edad sin factores de riesgos asociados, que se constató con el pedido médico para urocultivo, en el que se encontraban detallados los datos clínicos del paciente. El material se obtuvo por micción espontánea (chorro medio). A todas las muestras se les realizó sedimento urinario, recuento de leucocitos por mm3 en cámara de Neubauer y se las sembró con ansas calibradas de 5µl en CHROMagar^{TM} Orientación. Luego de la incubación en aerobiosis a 37 °C durante 48 horas se llevó a cabo el recuento de colonias (que se expresa como UFC/ml).

Se evaluó la sensibilidad antimicrobiana a aquellos urocultivos monomicrobianos que presentaron un sedimento urinario con más de 5 polimorfonucleares por campo de 400x o más de 10 /mm3 (está demostrado una buena correlación entre la observación del sedimento y el recuento en cámara en pediatría) y más de 10.000 UFC/ml (17,18).

La sensibilidad antimicrobiana de las cepas que cumplieron con los criterios de jerarquización se determinó siguiendo las normas internacionales del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (19) por el método de difusión de Kirby-Bauer y se probaron los siguientes antibióticos: Ampicilina (AMP: 10µg), Cefalotina (CEP; 30µg), Trimetoprima-Sulfametoxazol (TMS; 25µg), Ciprofloxacina (CIP; 5µg), Nitrofurantoína (NIT; 300µg), Gentamicina (GEN; 10µg), Amikacina (AMK; 30µg), Ceftazidima (CAZ; 30µg), Cefotaxima (CTX; 30µg), Cefepime (FEP; 30µg). Amoxicilina-Clavulánico (AMC; 30µg), Imipenem (IPM; 10µg), Meropenem (MEM: 10µg).

La identificación bacteriana se realizó según pruebas bioquímicas convencionales (20).

La detección de BLEE se realizó ensayando CAZ y CTX (cefalosporinas de tercera generación) ubicadas a 25–30mm de centro a centro del disco de AMC; y se observó un agrandamiento o deformación del halo de inhibición de las cefalosporinas de tercera generación hacia el disco de AMC (efecto “huevo”) y por combinación de Cefotaxima-Clavulánico y Ceftazidima-Clavulánico comparando los diámetros de inhibición con los de Cefotaxima y Ceftazidima solos (21). El control de calidad se realizó con cepas American Type Culture Collection (ATCC).

Se utilizó para la recolección de los datos el sistema Epicenter™ V5.69, siendo luego exportados al programa Whonet 5.6 para su análisis.

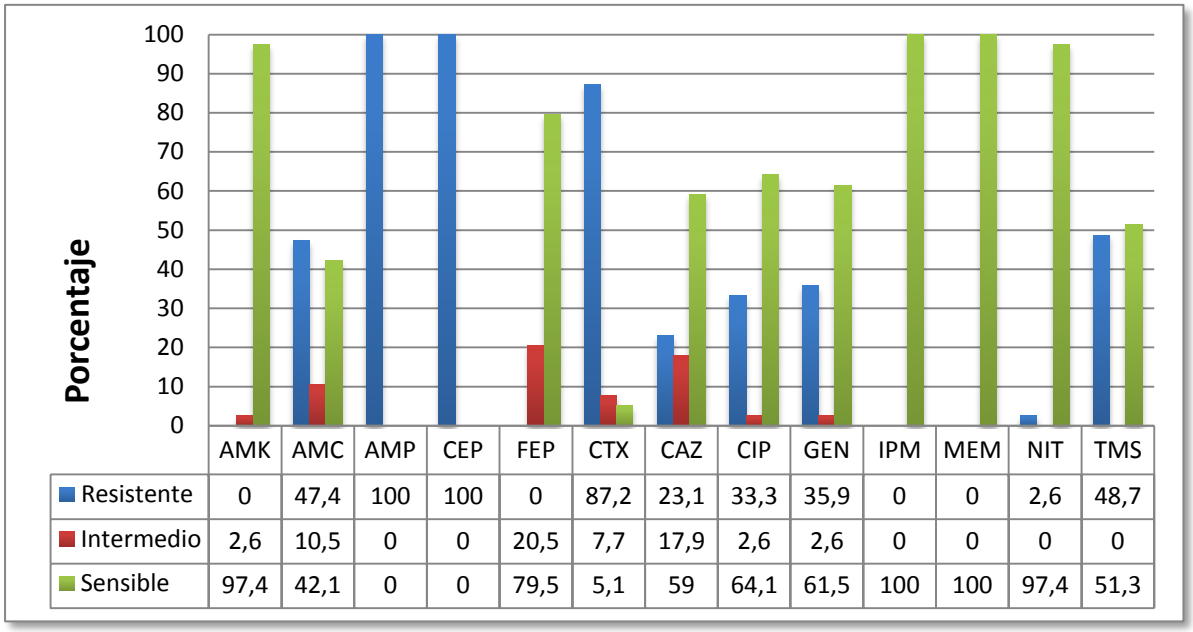
Aspectos éticos: Debido a que se trató de un estudio retrospectivo, sin intervención y sin riesgo para los pacientes, ya que se usaron los datos del Laboratorio de Bacteriología, no se requirió del consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigaciones en Salud (CIEIS) del hospital y se mantuvo la confidencialidad de la identidad de los pacientes.

RESULTADOS

En un período de cuatro años se identificaron 2882 urocultivos positivos y en 39 se confirmó la presencia de BLEE, que corresponde a una prevalencia del 1,35%. En 30 casos (76,90%) la cepa productora fue *Escherichia coli*, en 7 (17,90%) *Klebsiella pneumoniae*, en 1 (2,60%) *Klebsiella oxytoca* y en 1 (2,60%) *Citrobacter freundii.*

El patrón de susceptibilidad antimicrobiana de los urocultivos BLEE positiva se muestran en la Grafico I. La interpretación sensible, intermedio o resistente se realizó según los puntos de corte del CLSI (19).

Grafico I: Patrón de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias BLEE positivas aisladas de urocultivos de pacientes pediátricos de la comunidad. Hospital Infantil Municipal.



	AMK	AMC	AMP	CEP	FEP	CTX	CAZ	CIP	GEN	IPM	MEM	NIT	TMS
Resistente	0	47,4	100	100	0	87,2	23,1	33,3	35,9	0	0	2,6	48,7
Intermedio	2,6	10,5	0	0	20,5	7,7	17,9	2,6	2,6	0	0	0	0
Sensible	97,4	42,1	0	0	79,5	5,1	59	64,1	61,5	100	100	97,4	51,3

DISCUSIÓN

Las ITU causadas por enterobacterias productoras de BLEE han sido ampliamente descriptas a nivel mundial, con estudios que demuestran una prevalencia alta en infecciones de origen hospitalario (22,23). En los últimos años un creciente número de reportes demuestran la presencia de estos microorganismos en aislamientos provenientes de la comunidad, presentando resistencia acompañante a otros antibióticos, lo que plantea un desafío clínico y epidemiológico (22-25).

A nivel mundial, en un trabajo que se realizó en París (26) se reportó una prevalencia del 5 %.

Con respecto a nuestro país, un estudio similar publicado en Rosario (27) informó una prevalencia del 5,5 %, siendo estos valores superiores a los encontrados en nuestro trabajo.

Debido a la baja prevalencia de BLEE encontrada en el hospital Infantil Municipal de Córdoba las cefalosporinas de primera generación siguen siendo el tratamiento empírico de elección (28).

El presente estudio, también, permitió revisar la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias BLEE positiva a otros antibióticos que no son hidrolizados por las mismas, pudiendo ser utilizados como terapia empírica. En cuanto al uso de antibióticos no betalactámicos es preciso tener en cuenta la frecuente coexistencia de otros determinantes genéticos que confieren resistencia a otros antimicrobianos, como los aminoglucósidos y el

cotrimoxazol (TMS). En muchos casos la resistencia se transfiere conjuntamente con el gen responsable de la BLEE en el mismo plásmido (29). Los antibióticos orales de elección, además de las cefalosporinas de primera generación, son: TMS, AMC, CIP, NIT. Como se puede ver en el grafico I, el 48,7 % de las cepas presentaron resistencia al TMS, el 47,4 % al AMC, el 33,3% a la CIP y el 2,6 % a NIT, postulándose esta última como la mejor opción terapéutica oral por su bajísimo porcentaje de resistencia, pudiendo ser utilizada solo en ITU no complicada debido a que no se alcanzan buenas concentraciones en sangre y parénquima renal. Algunos autores sostienen que el uso de NIT es controvertido porque precisa ciclos de tratamiento más largos, lo que dificulta la adherencia terapéutica y puede presentar efectos tóxicos (30). Si bien la CIP no presentó un porcentaje de resistencia alto, está contraindicada en niños pequeños dados los posibles eventos adversos relacionados con las articulaciones y/o los tejidos circundantes, pudiendo ser utilizada como tratamiento de segunda o tercera línea en ITU complicadas (31). TMS y AMC son considerados antimicrobianos de primera línea para el tratamiento de ITU-IC. El clavulánico a diferencia de los otros inhibidores de las BLEE, como es el caso del tazobactam, no se ve afectado por el efecto inóculo (32).

Aunque los genes que codifican enzimas modificadoras de aminoglucósidos, de uso parenteral, pueden vehicularse con los que codifican las BLEE en los mismos plásmidos (fenómeno de resistencia cruzado), la frecuencia con que las bacterias productoras de BLEE son resistentes a los distintos aminoglucósidos es variable. En este trabajo las cepas presentaron un 35,9 % de resistencia a GEN y ninguna de ellas mostró resistencia a AMK. La GEN es más susceptible al fenómeno de resistencia cruzada, por lo que no es recomendable como monoterapia. Si bien las cepas no presentaron resistencia a AMK, hay que tener en cuenta que produce toxicidad renal (32,33).

El informe de las cefalosporinas de tercera generación en ITU no complicada se basa en los puntos de corte del CLSI, a diferencia de las bacteriemias donde se informan como resistentes aunque sean sensibles in vitro (19,21). Se puede apreciar en el grafico I que el porcentaje de resistencia de CTX es mucho más elevado que para CAZ, esto se puede deber a que en nuestro país la BLEE CTX-M-2 (hidroliza mejor a CTX) es la variante alélica endémica.

Si bien los carbapenemes (IPM y MEM) se muestran como sensibles en todas las cepas, no se utilizan como tratamiento de ITU. Se reservan para infecciones graves y pacientes de riesgo. Es Imprescindible controlar su uso, para evitar la aparición de resistencias (32,33).

Sería recomendable realizar un trabajo de carácter prospectivo en el cual se determine si los pacientes recibieron tratamiento antibiótico previo, hospitalización reciente, antecedentes de

ITU, ya que estos son factores que podrían predisponer la aparición de cepas productoras de BLEE en la comunidad.

BIBLIOGRAFIA:

1) Felipe Cavagnaro S.M. Infección urinaria en la infancia. Infectología práctica. Rev Chil Infect 2005; 22:161-8.
2) American Academy of Pediatrics. Committee on quality improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection. Practice parameter: The diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. Pediatrics 1999; 103:843-52.
3) Uyar Aksu N, Ekinci Z, Dündar D, Baydemir C. Childhood urinary tract infection caused by extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria: Risk factors and empiric therapy. Pediatr Int. 2016 Aug 8. Versión online. En: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ped.13112/abstract.
4) Ma J, Shortliffe LD. Urinary tract infection in children: aetiology and epidemiology. Urol Clin North Am 2004; 31: 517-26.
5) Alonso B, Bernarda M, Pereda M, Traversa M, Lechini R, Mariño S, Perdomo V. Infección urinaria en niños: agentes patógenos y sensibilidad antibiótica. Arch Pediatr Urug 2001; 72: 268-73.
6) Hernandez M, Daza A, Marin J. Infección Urinaria en el nino de 1 mes – 14 anos. AEP (Chil) 2008:55-73.
7) Prat C, Domínguez J, Rodrigo C, Gimenez M, Azuara M, Jiménez O, et al. Elevated serum procalcitonin values correlate with renal scarring in children with urinary tract infection. Pediatr Infect Dis J. 2003; 22: 438-42.
8) de Liria G, Mendez-Hernandez M, Azuara-Robles M. Infección Urinaria, AEP (Barc) 2006;14:125-34.
9) Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. En: Cantón R, Cercenado E, editores. Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2a Edición (38), 2011.
10) Livermore DM. Defining an extended-spectrum beta-lactamase. Clin Microbiol Infect. 2008;14:3–10.

11) Rivera A, Larrosa N, Mirelis B, Navarro F. Importancia de los controles de calidad para la detección de la resistencia a antibióticos β-lactámicos en enterobacterias. Enferm Infecc Microbiol Clin 2014;32(Supl 1):30-6.
12) D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: A successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol 2013;303:305-17.
13) D Faccone, F Pasteran, O Navarro, M Rapoport, I Chinen, A Corso. E. coli productores de CTX-M-15 causante de infección adquirida en la comunidad asociados a ST131 y ST44. Póster presentado al VII Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas – SADEBAC. 26 al 29 de junio de 2012. Buenos Aires, Argentina.
14) Truppia LA, Mollerach A, Di Conza JA, Radice M, Mugna V, Méndez E, Gutkind GO. Comparación de tres métodos microbiológicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en Santa Fe (Argentina). Enferm Infecc Microbiol Clin 2005;23:525-8.
15) Faccone D, Pasteran F, Petroni A, Rapoport M, Andres P, Vazquez J, Procopio A, Galas M. Emergencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) derivadas de TEM en Enterobacterias de Argentina. Presentación oral en XVII Congreso Latinoamericano de Microbiología – X Congreso Argentino de Microbiología. Octubre 18-21. Buenos Aires, Argentina.
16) Cantón R, Novais A, Valverde A et al. Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe.Clin Microbiol Infect 2008;14:144–53.
17) Rolando S, Definición de Criterios Clínicos de Laboratorio. En: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/resistencia_Microbiana/Definicao_criterios_clinicos_laboratoriais.pdf.
18) Lopardo H. Urocultivo. Procesamiento, Criterios de Interpretación e Informe. Apuntes de Laboratorios Volumen III. Laboratorios Britania, Buenos Aires, 2013.
19) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 26th informational supplement. CLSI/NCCLS M100-S16: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
20) Mc Fadin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia Clínica. Editorial panamericana, Buenos Aires. 1980.
21) Protocolo de Trabajo Red WHONET – Argentina. En: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/10/Protocolo-WHONET-consensuado-agosto-2014-FINAL-2.pdf.
22) Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. Lancet Infect Dis. 2008;8:159–66.

23) Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am J Med. 2006;119 6 Suppl 1:S20–8, discussion S62-S70.
24) Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum [beta]-lactamase producing Escherichia coli: Changing epidemiology and clinical impact. Curr Opin Infect Dis. 2010;23:320–6.
25) Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G,et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother. 2007;59:165–74.
26) Jacmel L, Timsit S, Ferroni A, Auregan C, Angoulvant F and Chéron G. Extended-spectrum *β*-lactamase-producing bacteria caused less than 5% of urinary tract infections in a paediatric emergency centre. Acta Paediatr. 2017;106:142-47.
27) Ruiz F, Vidal ME, Spoleti MJ. *Escherichia coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos. Póster presentado en XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, XIV Congreso Argentino de Microbiología. 26 – 30 de Septiembre de 2016. Santa Fe, Argentina.
28) Nuevas recomendaciones frente a las actuales controversias en infección urinaria. Arch. Argent. Pediatr., Buenos Aires. 2015; 113: 579-81.
29) Oliver A y Cantón R. Enterobacterias productoras de β-lactamasas plasmídicas de espectro extendido. Control Calidad SEIMC. 2004. Disponible en: https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Blees.pdf.
30) García-Tello A, Gimbernat H, Redondo C, Arana DM, Cacho J, Angulo JC et al. Betalactamasas de espectro extendido en las infecciones del tracto urinario causadas por enterobacterias: aproximación a su conocimiento y pautas de actuación. Actas Urol Esp 2014; 38: 678-84.
31) Grabe M, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Çek M, Naber KG, Tenke P, Wagenlehner F. Guía clínica sobre las infecciones urológicas. European Association of Urology 2010. Disponible en: http://www.aeu.es/UserFiles/17-GUIA_CLINICA_SOBRE_LAS_INFECCIONES_UROLOGICAS.pdf.
32) Miranda M. Escherichia coli portador de betalactamasas de espectro extendido. Resistencia. Sanid mil. 2013;69:244-8.
33) Rodríguez-Baño J y Navarro MD. Impacto de las BLEE en los tratamientos empíricos y las políticas antibióticas. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007;25 Supl. 2:54-9.