



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

**EPIDEMIOLOGÍA Y EVOLUCIÓN DE LAS ENTEROBACTERIAS
PRODUCTORAS DE CEFAMICINASAS PLASMÍDICAS EN
AISLADOS CLÍNICOS DEL SECTOR III**

**EPIDEMIOLOGY AND EVOLUTION OF PLASMID
CEPHAMYCINASE-PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE IN
CLINICAL ISOLATES FROM SECTOR III**

Autor

Álvaro Laborda Pascual

Director

Francisco Javier Castillo García

Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Pediatría, Radiología Y Salud Pública

Curso 2021-2022

ÍNDICE

Resumen	Pág. 1
Introducción	Pág. 3
Material y métodos.....	Pág. 7
Objetivos	Pág. 9
Resultados.....	Pág. 10
• <i>Origen del paciente.....</i>	10
• <i>Distribución poblacional.....</i>	12
• <i>Distribución por sexo.....</i>	13
• <i>Origen de la muestra.....</i>	14
• <i>Resistencia y sensibilidad a los antibióticos estudiados.....</i>	16
○ <i>Citrobacter freundii.....</i>	16
○ <i>Klebsiella oxytoca.....</i>	16
○ <i>Klebsiella pneumoniae.....</i>	16
○ <i>Escherichia coli.....</i>	17
○ <i>Proteus mirabilis.....</i>	18
• <i>Cepas BLEE.....</i>	19
Discusión.....	Pág. 21
• <i>Resistencia y sensibilidad comparada.....</i>	21
• <i>Sexo de los pacientes.....</i>	24
• <i>Edad de los pacientes.....</i>	25
• <i>Origen de la muestra.....</i>	26
Conclusiones.....	Pág. 28
Bibliografía.....	Pág. 29

Resumen

El problema de las resistencias antibióticas es cada vez más importante dentro de la Medicina. Las cepas de enterobacterias productoras de cefamicinas plasmídicas (pAmpC) suponen un gran ejemplo de este creciente problema, en el ámbito de la bacterias gram-negativas. Mediante diferentes mecanismos de transmisión genética las bacterias van adquiriendo diferentes mecanismos de resistencia que, además, en algunas especies se suman a su resistencia intrínseca, lo que resulta en un aumento del perfil de resistencia.

Hemos encontrado que las cepas productoras de cefamicinasas plasmídicas son más resistentes, además de a los betalactámicos, a otras familias de antimicrobianos, cuando se comparan con las cepas no productoras de cefamicinasas plasmídicas. Por lo tanto, las infecciones que producen son más difíciles de tratar.

Del mismo modo, se observa que el perfil mayoritario entre los pacientes infectados por estas bacterias es el de personas de edad avanzada, aquejados de infección urinaria y con un ligero predominio de mujeres sobre hombres.

→ **Palabras clave:** Enterobacterias, Cefamicinasas plasmídicas, AmpC, Epidemiología, Resistencia-

Abstract

The problem of antibiotic resistance is becoming more and more important in medicine. Plasmid cephamycin-producing Enterobacteriaceae (pAmpC) strains are a great example of this growing problem in the field of gram-negative bacteria. Through different genetic transmission mechanisms, bacteria acquire different resistance mechanisms that, in addition, in some species are added to their intrinsic resistance, resulting in an increased resistance profile.

We have found that plasmid cephamycinase-producing strains are more resistant, in addition to beta-lactams, to other families of antimicrobials, when compared to non-plasmid cephamycinase-producing strains. Therefore, the infections they cause are more difficult to treat.

In the same way, it is observed that the majority profile among the patients infected by these bacteria is that of elderly people, suffering from urinary tract infection and with a slight predominance of women over men.

→ **Keywords:** Enterobacteriaceae, Plasmid cephamycin, pAmpC, Epidemiology, Resistance.

Introducción

Dentro del mundo sanitario existe actualmente un tema problemático que, con el paso del tiempo, no sólo no se ha solucionado, sino que ha ido empeorando. La resistencia a antimicrobianos por parte de las bacterias supone un reto para la comunidad científica, para el profesional en su día a día y, en última instancia, para los pacientes y el sistema sanitario.

Aunque existen algunas bacterias con mecanismos intrínsecos de resistencia especializada, el problema más grave surge cuando estos mecanismos son adquiridos por bacterias que antes no los poseían o eran menos eficaces para eludir la acción de algunos antimicrobianos. En la emergencia de estas bacterias resistentes desempeña un papel muy relevante la utilización de los antibióticos para la profilaxis o el tratamiento de infecciones, ya que acaba derivando en un proceso de selección natural de aquellas bacterias que mejor aguantan la agresión del medicamento. A esta situación se suma también el hecho de que existen sistemas de intercambio de material genético en vida de la bacteria (herencia horizontal) por los que las bacterias pueden compartir u obtener nueva información genética externa, en este caso obteniendo un nuevo mecanismo de resistencia antibiótica.

Es por esto por lo que resulta de vital importancia el estudio de la prevalencia de cepas de bacterias con resistencia a diferentes antibióticos y su evolución para el control y seguimiento de su emergencia y distribución, y para la implementación de medidas eficaces que limiten su propagación.

En este trabajo nos centramos en las especies de la familia *Enterobacteriaceae* productoras de cefamicinasas plasmídicas, aisladas de muestras clínicas de pacientes asistidos dentro del sector sanitario III de Zaragoza en el periodo 2020-2021.

Dentro de los antibióticos, aquellos sobre los que vamos a valorar la existencia de resistencia son principalmente los β -lactámicos. El motivo es que son los más empleados comúnmente para el tratamiento de infecciones producidas por enterobacterias, debido a que poseen una gran eficacia terapéutica y no resultan tóxicos para el hombre.

Ello se explica debido a que su mecanismo de acción actúa bloqueando las enzimas biosintéticas del peptidoglicano constituyente de la pared celular, que únicamente se halla en las células bacterianas (procariotas) sin que exista homólogo en las células animales (eucariotas).

Aunque se han descrito diferentes mecanismos de resistencia, dentro de las enterobacterias destaca la producción de enzimas hidrolíticas, más concretamente de β -lactamasas. Muchos integrantes de esta familia de bacterias poseen de forma natural β -lactamasas cromosómicas de tipo AmpC, las cuales son activas frente penicilinas y cefalosporinas (cefamicinas, oxiiiminocefalosporinas y monobactams) con la excepción de las cefalosporinas de cuarta generación y carbapenems. Además, presentan resistencia frente a los inhibidores de β -lactamasas (a excepción de tazobactam). Este rango de actuación puede verse ampliado a las cefalosporinas de cuarta generación en aquellas bacterias que presentan AmpC de espectro extendido (ESAC) [1]

Debemos tener en cuenta también el hecho de que la utilidad de estos estudios no beneficia exclusivamente al lugar donde se desarrollan, sino que sirven a su vez para la elaboración de mapas donde se muestran las cepas más prevalentes y cómo de frecuentes son las resistencias de dichas cepas en ese territorio, como podemos ver en la figura 1 [3].

- Mecanismo de funcionamiento de las betalactamasas AmpC-

Para continuar con este trabajo, creo conveniente explicar el funcionamiento del gen *ampC*, precursor de las β -lactamasas AmpC. Localizado en el cromosoma bacteriano, presenta una expresión de bajo nivel inducible como respuesta a algunos β -lactámicos. Esta inducción depende del correcto funcionamiento y coordinación de diferentes genes, comenzando por *ampR*, elemento que sirve como activador y represor del proceso. Al detectarse un agente inductor, la proteína AmpG cumple la función de permeasa y permite la entrada al citoplasma de los productos de desecho, provenientes de la degradación del peptidoglicano de la pared bacteriana, originados por la acción del betalactámico.

Introducción

Una vez dentro, al entrar en contacto con estos productos *ampR* pasa a funcionar como activador del gen *ampC*. Comenzará entonces a sintetizar las beta-lactamasas AmpC. Simultáneamente, la proteína AmpD se encarga de degradar estos productos con el fin de regular el proceso inductivo, al mismo tiempo que favorece la recomposición de la dañada pared. [2]

Existe una excepción en este proceso que podemos ver en *Escherichia coli*. En esta bacteria, nos encontramos con la ausencia del gen *ampR*. Ello condiciona que el proceso acaba regulado exclusivamente por mecanismos de atenuación y no de inducción.

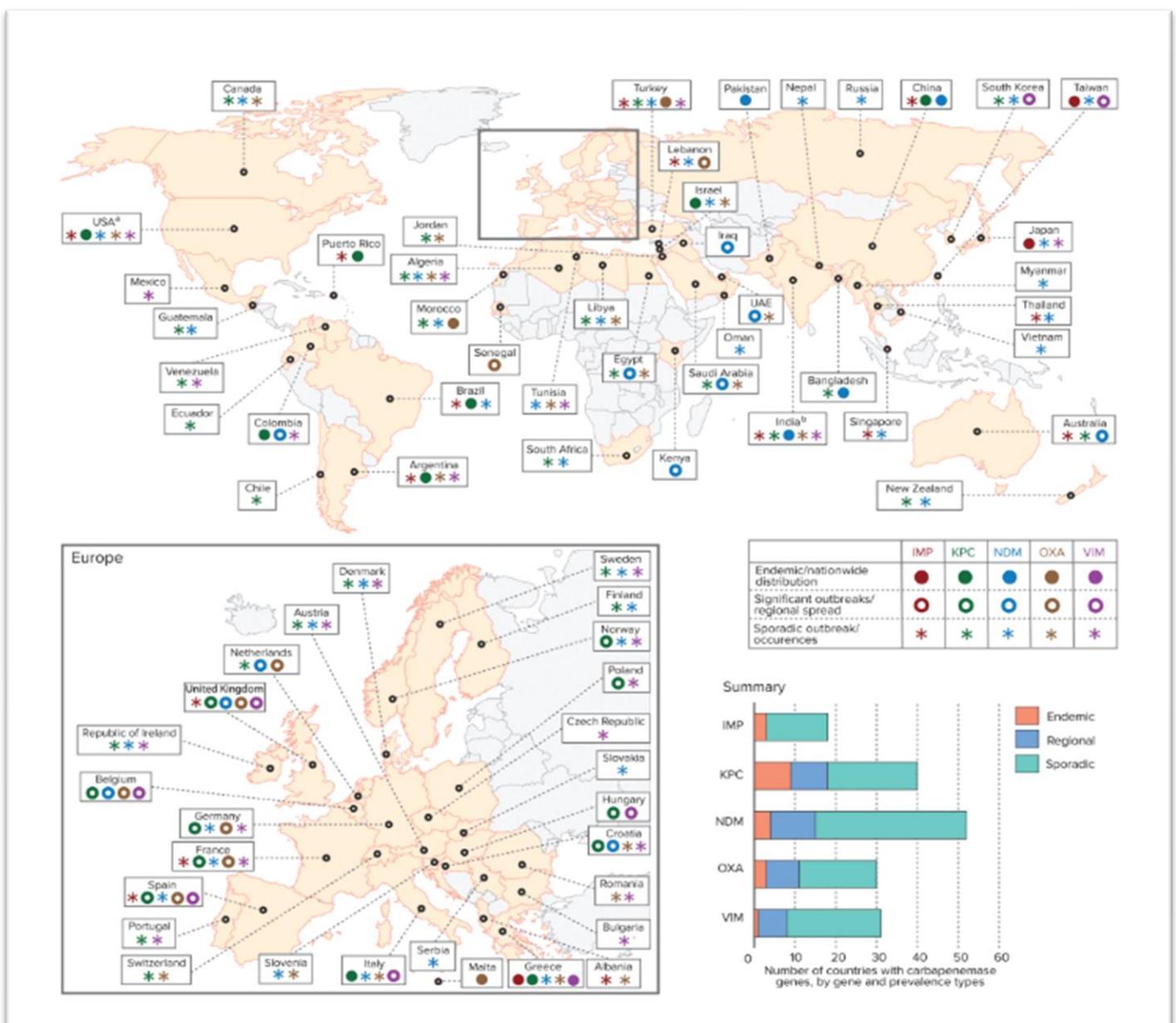


Figura 1. Mapa de distribución global de carbapenemasas en Enterobacterias (Logan, L. K et al., 2017)

Dentro de *E. coli* encontramos de forma constitutiva la enzima producida por *bla_{AmpC}*, que es la enzima de distribución más universal.

Afortunadamente, existen alternativas terapéuticas que permiten evitar este mecanismo de resistencia. Algunas de ellas son la Cefepima y los Carbapenems entre los betalactámicos y otras familias de antibióticos con mecanismos de acción y dianas diferentes como Tigeciclina, Colimicina, Fosfomicina, Aminoglicósidos o Fluoroquinolonas. [4]

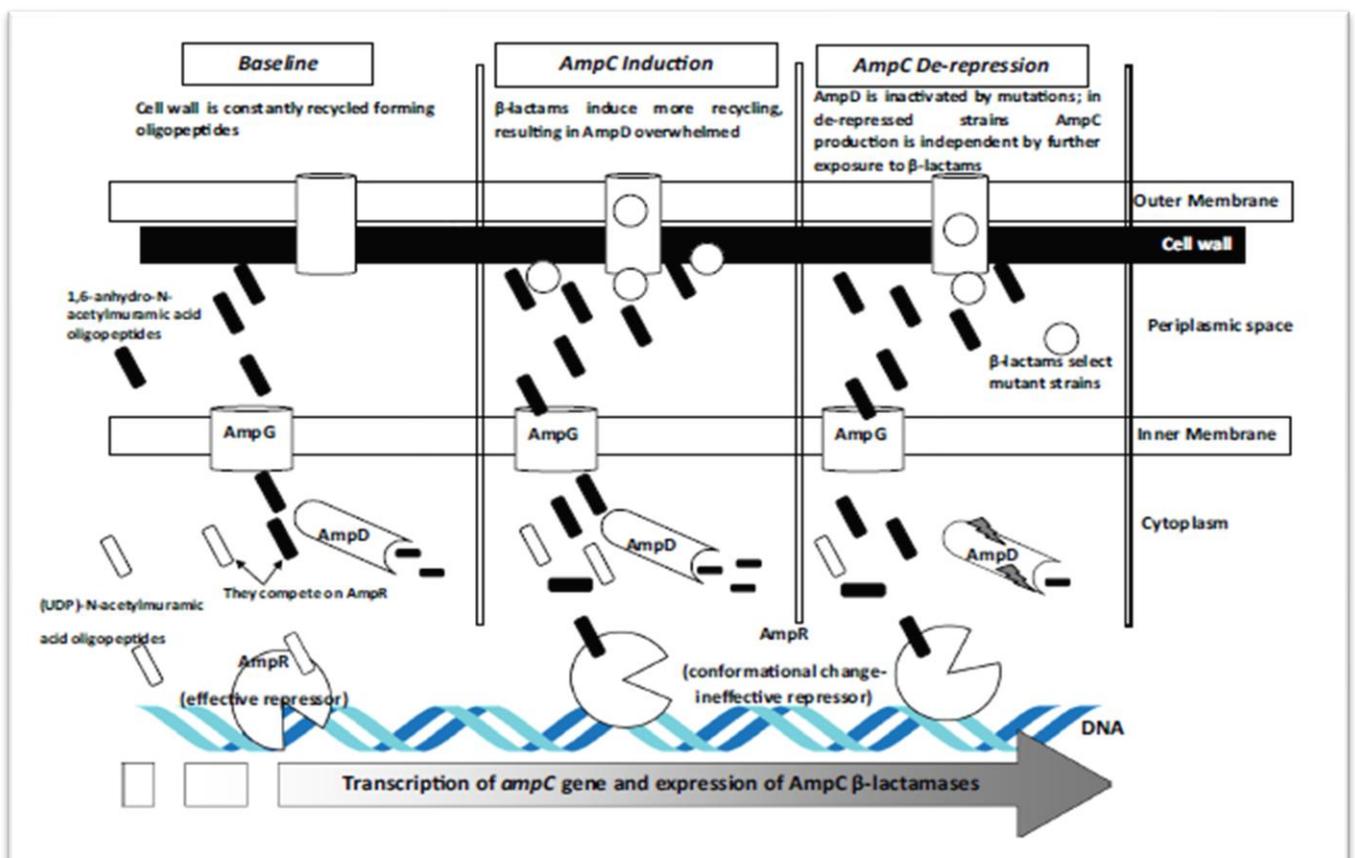


Figura 2. Mecanismo de actuación de la β -lactamasas AmpC (Meini, S., Tascini, C., 2019)

Material y Métodos

1- Muestra estudiada

La base de datos clínicos está constituida por información recogida de 120 pacientes pertenecientes al sector sanitario III de Zaragoza (*Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, CME Inocencio Jiménez, CME Ejea, CME Tarazona, CS Alagón, CS Bombarda, CS Borja, CS Cariñena, CS Casetas, CS Delicias Norte, CS Delicias Sur, CS Ejea de los Caballeros, CS Gallur, CS Herrera de los Navarros, CS La Almunia de Doña Godina, CS María de Huerva, CS Miralbueno, CS Oliver, CS Sábada, CS Sos del Rey Católico, CS Tarazona, CS Tauste, CS Univérsitas, CS Utebo y CS Valdefierro*) en los que se identificó la presencia de infecciones clínicas producidas por enterobacterias con fenotipo compatible con la producción de cefamicinasas plasmídicas, desde el 1 de Enero de 2020 hasta el 31 de Diciembre de 2021.

2- Tipo de diseño

Se trata de un estudio observacional de tipo transversal, concretamente un estudio de prevalencia.

3- Variables recogidas

Las variables recogidas son el sexo y edad del paciente, fecha del ingreso, tipo de muestra biológica obtenida, las bacterias aisladas en dichas muestras, el mecanismo de resistencia detectado, la CMI que presenta cada uno de los microorganismo frente a los antibióticos estudiados (*Piperacilina/Tazobactam, Cefuroxima, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefepime, Ertapenem, Imipenem, Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, , Norfloxacino, Ciprofloxacino, Levofloxacino, Fosfomicina y Colistina*) y la sensibilidad cualitativa a dichos antibióticos.

4- Consideraciones éticas y legales

La base de datos proporcionada por el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa se ha anonimizado y se han obtenido, exclusivamente, los datos epidemiológicos de utilidad para este estudio.

Este estudio cuenta con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA).

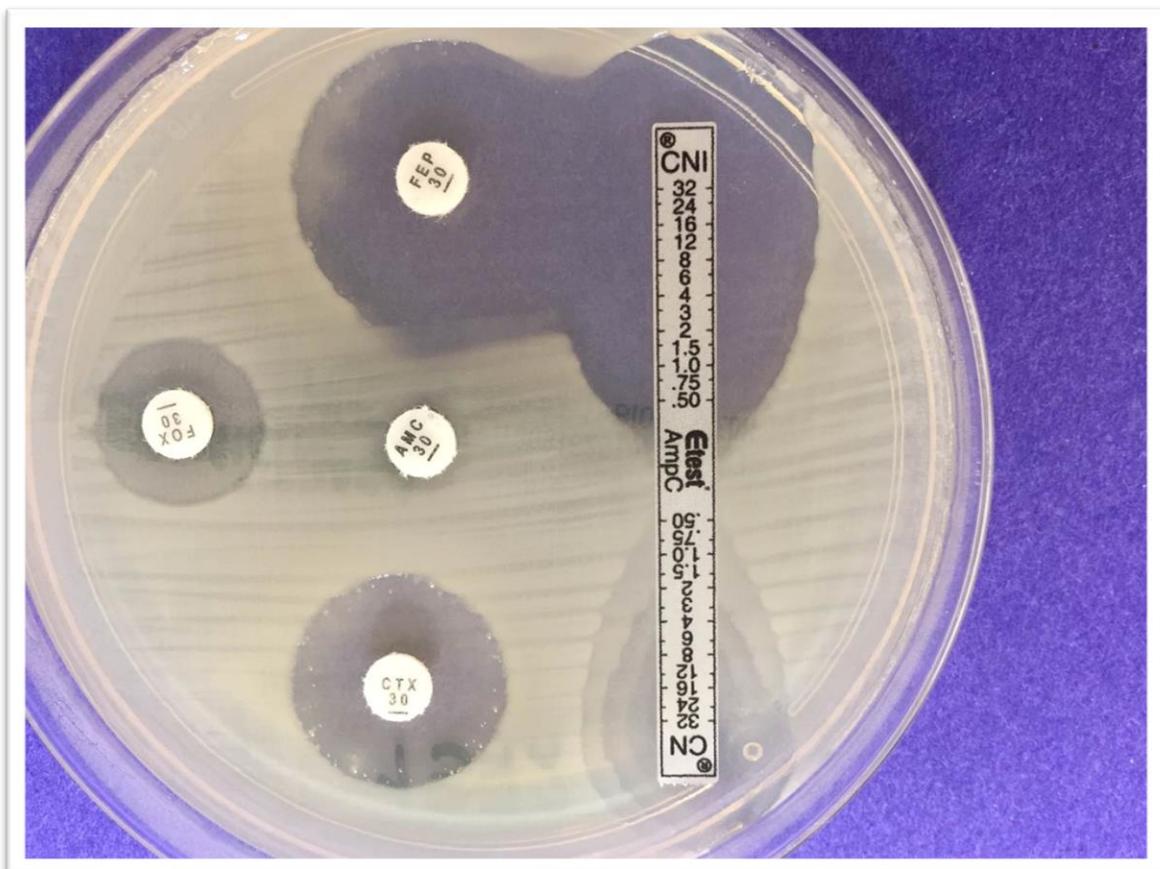
5- Análisis estadístico

El análisis estadístico se ha realizado mediante la utilización del programa Excel para la recogida de datos y la elaboración de tablas.

6- Confirmación fenotípica del mecanismo de resistencia

La lectura interpretada de la sensibilidad a los antibióticos β -lactámicos probados permite seleccionar fenotipos compatibles con la producción de AmpC de origen plasmídico en microorganismos no productores de AmpC cromosómica (*E. coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella*, *Shigella*, etc....).

Hemos confirmado la posible producción de cefamicinasas plasmídicas en las cepas seleccionadas, mediante la realización de pruebas de sinergia utilizando tiras de ϵ -test con la cefamicina Cefotetan, con y sin, el inhibidor de AmpC, Cloxacilina.



Proteus mirabilis productor de AmpC plasmídica. Test de sinergia.

Objetivos

- 1.** Conocer la incidencia de cepas productoras de cefamicinasas plasmídicas en enterobacterias de origen clínico.
- 2.** Describir la localización de las infecciones que producen, de acuerdo con las muestras de las que proceden las cepas.
- 3.** Analizar el estado de la resistencia a los betalactámicos y a otras familias y grupos de antimicrobianos de potencial utilidad terapéutica en las cepas diana.
- 4.** Analizar la distribución espacial y temporal de los aislados para obtener información epidemiológica relevante.
- 5.** Comparar los resultados actuales con los obtenidos en estudios previos realizados en el mismo ámbito para conocer su evolución temporal.

Resultados

Para la correcta comprensión de algunos datos, debemos explicar antes un concepto.

La “Sensibilidad EI” hace referencia a “bacteria sensible si se produce una exposición incrementada al antibiótico”. Esto quiere decir que, si bien existe un mecanismo de resistencia frente a ese antibiótico, este podría sobrepasarse mediante una exposición incrementada al fármaco, algo que se lograría utilizando dosis habitualmente usadas para infecciones graves o en focos complicados. Por lo tanto, debe considerarse al microorganismo como sensible al fármaco. Este concepto viene a sustituir al más tradicional de sensibilidad intermedia.

Cabe remarcar que la pauta posológica que garantiza la exposición incrementada al antibiótico dependerá del antibiótico en cuestión y del tipo de infección.

1- Origen del paciente

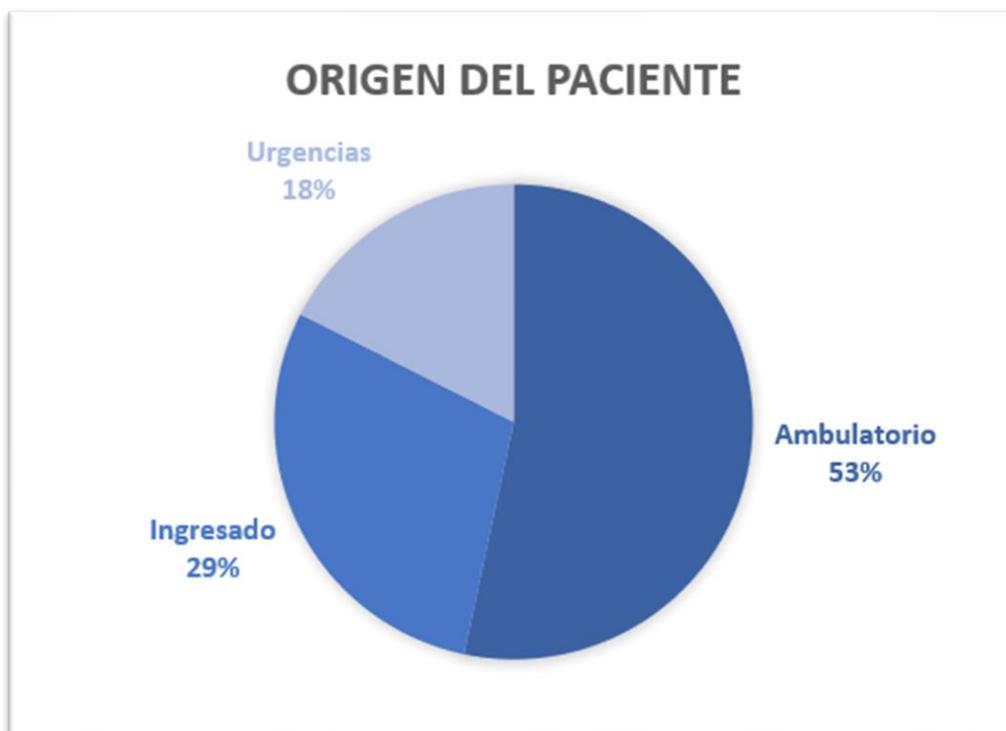


Figura 3. Distribución porcentual del origen de los pacientes.

Como podemos observar en la figura 3, la mayoría de los pacientes son de origen Ambulatorio (53%) e Ingresados (29%), seguidos después por las de origen en Urgencias (18%). Hay que aclarar que el bloque “Ambulatorio” (64 pacientes) incluye la agrupación de los pacientes de origen ambulatorio (53 pacientes) y de consultas externas hospitalarias (11 pacientes).

	Escherichia coli	Proteus mirabilis	Klebsiella pneumoniae	Total
Ambulatorio	43 (55,48%)	19 (52,77%)	2 (40%)	64
Ingresado	21 (27,27%)	11 (30,55%)	2 (40%)	34
Urgencias	13 (16,88%)	6 (16,68%)	1 (20%)	20
Total	77	36	5	118

Tabla 1. Origen de los pacientes y distribución de cada microorganismo. En esta tabla faltan los datos de *Klebsiella oxytoca* y *Citrobacter freundii* (Urgencias e Ingresado respectivamente) que no se han incluido al haber una única muestra.

Dentro de la tabla 1 vemos recogidos el número de casos de cada especie según el origen del paciente, donde podemos ver que el origen mayoritario es el Ambulatorio en todas ellas y que la bacteria presente en el mayor número de casos fue *Escherichia coli*.

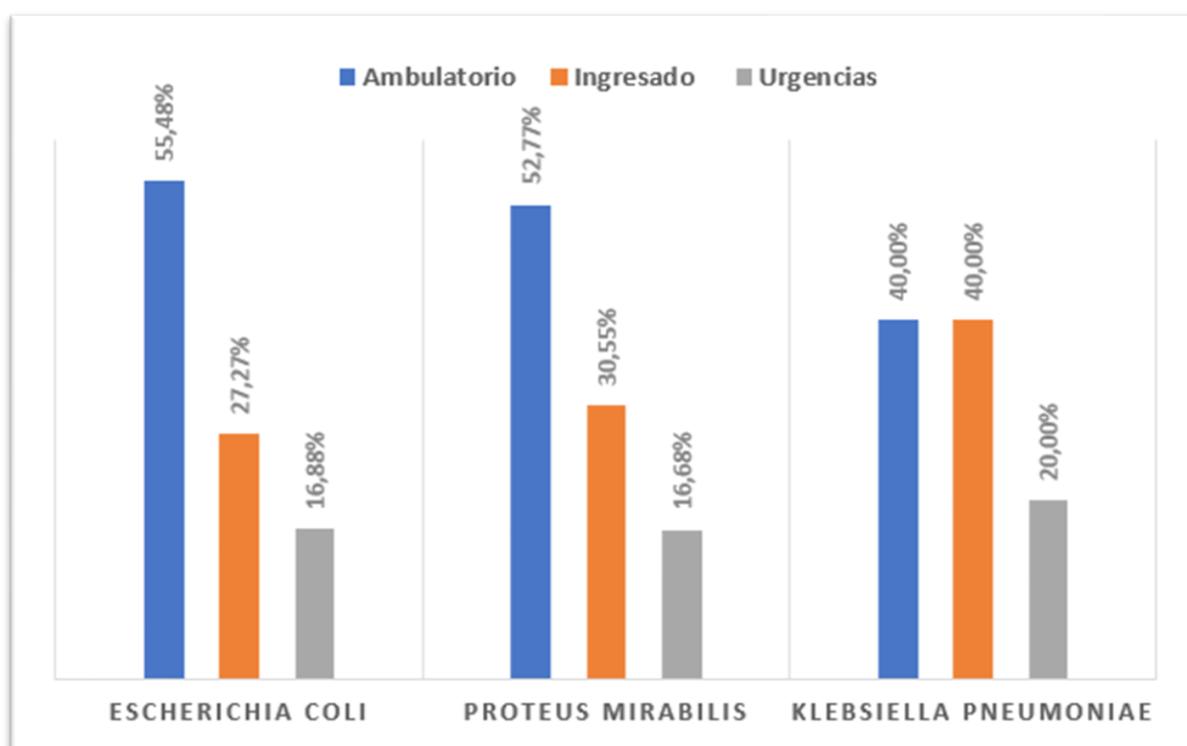


Figura 4. Distribución porcentual del origen de los pacientes dentro de cada especie.

2- Distribución poblacional

	0-14 años	14-60 años	>60 años	Nº de casos
<i>Escherichia coli</i>	2 (2,59%)	23 (29,88%)	52 (67,53%)	77
<i>Proteus mirabilis</i>	-	1 (2,77%)	35 (97,23%)	36
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	2 (40%)	3 (60%)	5
Total de casos	2	26	90	120*

Tabla 2. Número de casos por rango de edad dentro de cada bacteria y porcentaje.

Dentro de esta tabla faltan dos muestras, una de *Citrobacter* y otra de *Klebsiella oxytoca*, ambas dentro del rango de >60 años.

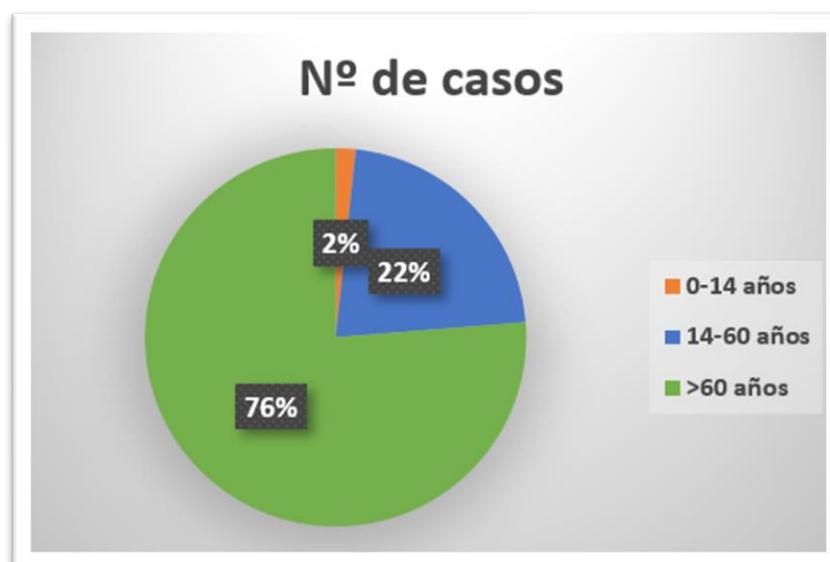


Figura 5. Número total de casos por rango de edad.

Dentro de cómo se distribuye la población en nuestra muestra, observamos que la mayoría de los pacientes presentan infección por *Escherichia coli* (77), seguidos por *Proteus mirabilis* (35).

Centrándonos dentro de cada uno de los grupos, podemos ver en la figura 6 como en *Escherichia coli*, más de la mitad de los pacientes (67,53%) eran mayores de 60 años. Además, también es la especie encontrada en los dos únicos casos de menores de 14 años (de 4 y 6 meses). En el caso de *Proteus mirabilis*, casi el 100% de los casos se concentran en pacientes mayores de 60 años (97,32%).

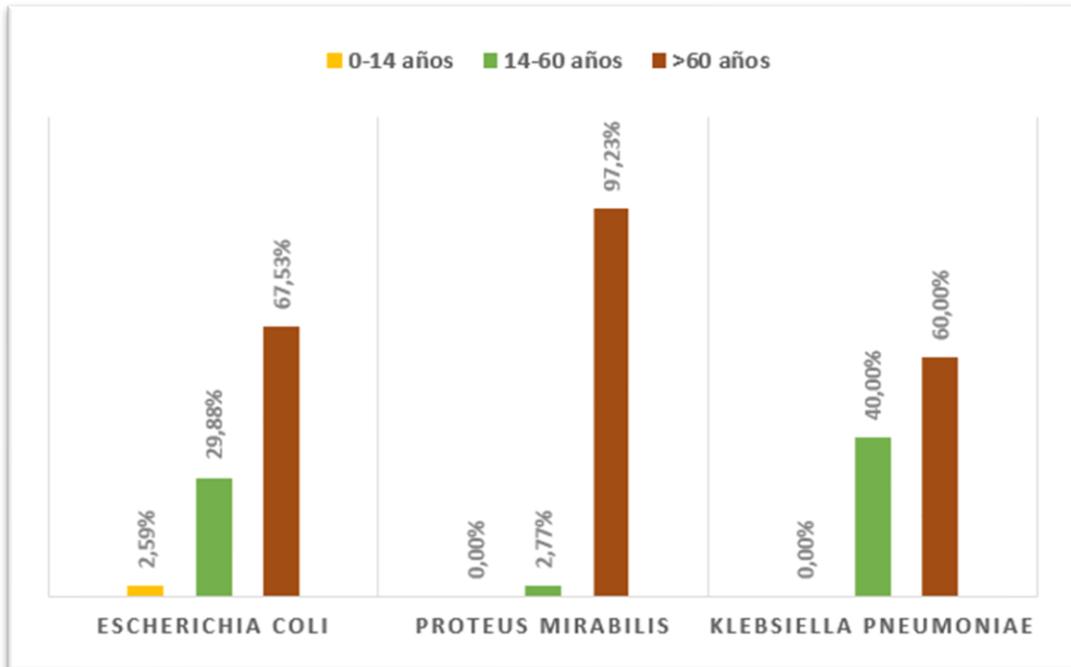


Figura 6. Distribución porcentual de los rangos de edad dentro de cada especie.

3- Distribución por sexo

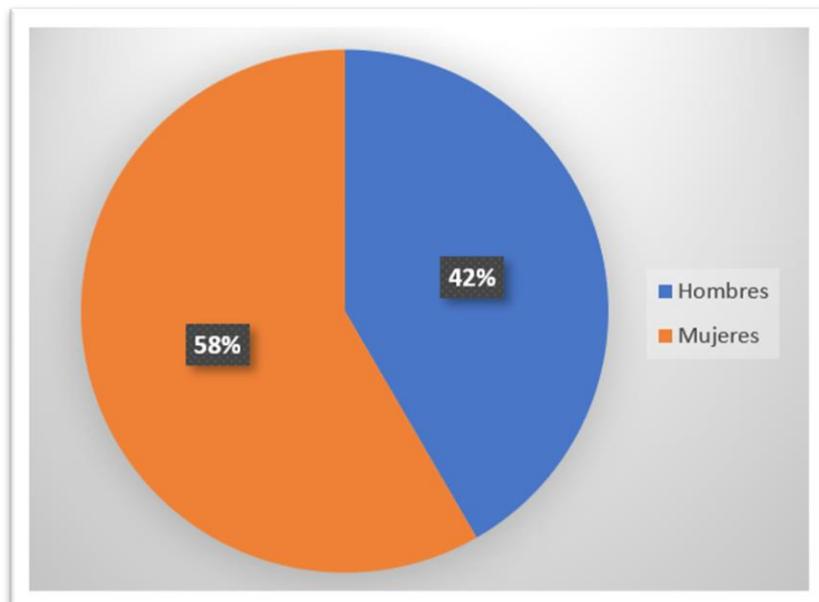


Figura 7. Distribución porcentual por sexos dentro de la muestra.

Como podemos ver representado dentro de la figura 7, es predominante el número de pacientes mujeres (70) frente al de hombres (50).

	Mujer	Hombre
Escherichia coli	46 (59,74%)	31 (40,26%)
Proteus mirabilis	20 (55,56%)	16 (44,44%)
Klebsiella pneumoniae	4 (80%)	1 (20%)

Tabla 3. Distribución por sexos de los pacientes dentro de cada grupo de bacterias aisladas en las muestras.

De la tabla 3 y la figura 8 podemos sacar la conclusión de que, estas especies (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*) producen infecciones con mayor frecuencia en mujeres.

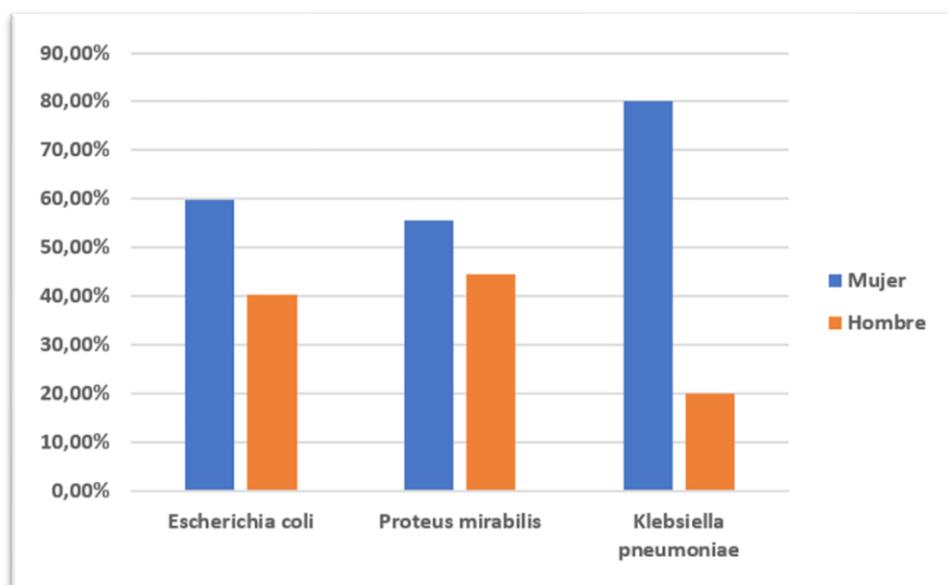


Figura 8. Distribución porcentual por sexos dentro de cada grupo de especies aisladas en las muestras.

4- Origen de la muestra

En lo que respecta al origen de las muestras obtenidas, vemos que, en su mayoría, proceden de muestras de orina (78%), lo que podemos relacionar con su presencia más frecuente en infecciones urinarias. En menor medida, también se han obtenido muestras de sangre (7%), de piel (5%) y líquido peritoneal (5%). Finalmente, en la figura 9 se pueden apreciar el origen del resto de muestras con un porcentaje del 1%.

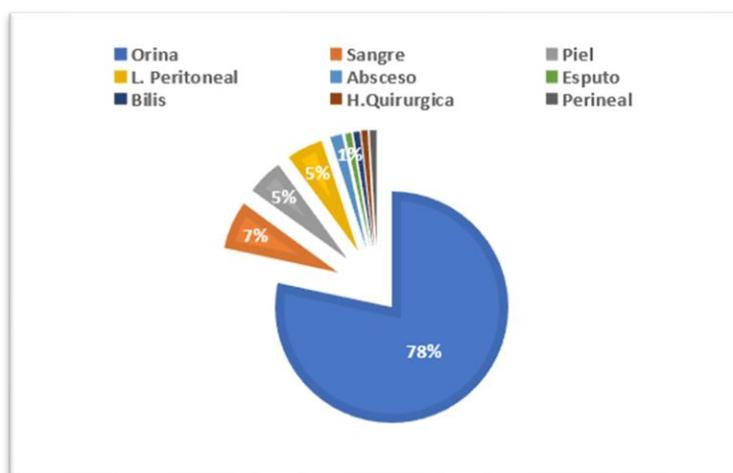


Figura 9. Distribución porcentual del origen de las muestras obtenidas.

Centrandonos más en la distribución porcentual del origen de la muestra dentro de cada especie aislada, vemos que se mantiene el predominio de las muestras de orina observado en la distribución general dentro de cada una de las bacterias. Concretamente en el 83% de las muestras de *Escherichia coli*, el 75% de las muestras de *Proteus mirabilis* y el 40% de *Klebsiella pneumoniae*, como puede apreciarse en en la tabla 4 y en la figura 1

	Orina	Sangre	Piel	L. Peritoneal	Absceso	Espuito	Bilis	H. Quirurgica	Perineal	Total bacterias
<i>Escherichia coli</i>	64 (83,12%)	4 (5,20%)	2(2,60%)	3 (3,88%)	1 (1,3%)	-	1 (1,3%)	1 (1,3%)	1 (1,3%)	77
<i>Proteus mirabilis</i>	27 (75%)	4 (11,11%)	3 (8,33%)	1 (2,78%)	1 (2,78%)	-	-	-	-	36
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (40%)	-	1 (20%)	1 (20%)	-	1 (20%)	-	-	-	5
Total muestras	93	8	6	5	2	1	1	1	1	118

Tabla 4. Distribución de las muestras dentro de cada grupo de bacterias aisladas.

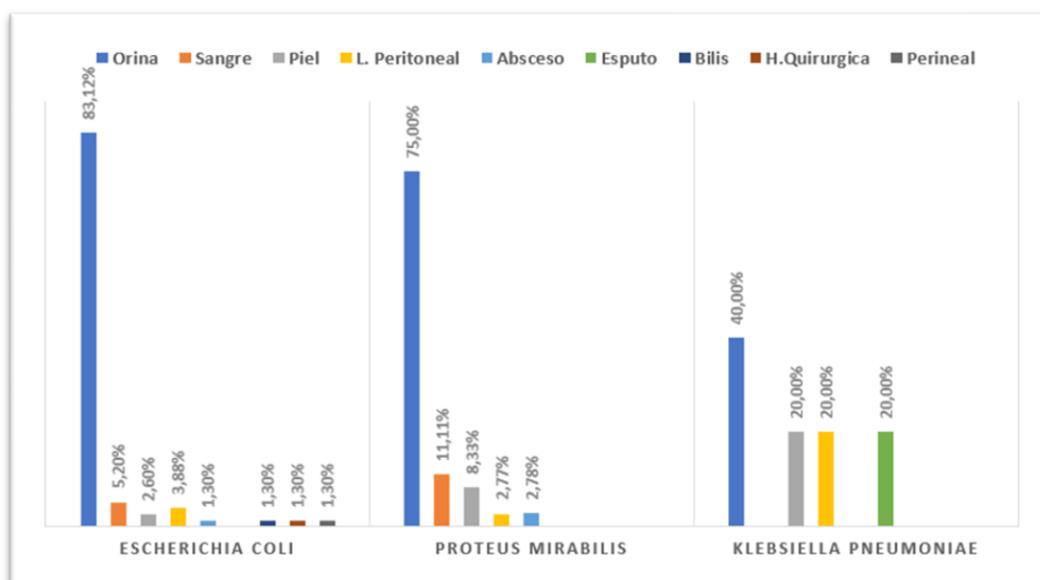


Figura 10. Distribución porcentual del origen de las muestras obtenidas dentro de cada especie aislada.

5- Resistencia y sensibilidad a los antibióticos estudiados

5.1- Citrobacter freundii

Aunque se identifica *Citrobacter freundii* en una de las muestras, no tenemos datos suficientes sobre su grado de resistencia o sensibilidad a los antibióticos estudiados como para dejar algo reflejado al respecto.

5.2- Klebsiella oxytoca

Dado que contamos con una única muestra de esta especie, los resultados no son relevantes. No obstante, podemos indicar que dicha bacteria presentaba resistencia frente *Cefuroxima*, *Cefotaxima*, *Ceftazidima* y *Fosfomicina*.

Así mismo, se mostraba sensible a *Cefepime*, *Ertapenem*, *Imipenem*, *Gentamicina*, *Tobramicina*, *Amikacina*, *Piperacilina-Tazobactam*, *Ciprofloxacino*, *Levofloxacino*, *Colistina* y *Norfloxacino*.

5.3- Klebsiella pneumoniae

	Klebsiella pneumoniae		
	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	SEN. EI
Cefuroxima	100,00%	-	-
Cefotaxima	100,00%	-	-
Ceftazidima	100,00%	-	-
Cefepima	-	100,00%	-
Ertapenem	-	100,00%	-
Imipenem	-	100,00%	-
Gentamicina	25,00%	75,00%	-
Tobramicina	25,00%	75,00%	-
Amikacina	-	100,00%	-
Piperacilina/ Tazobactam	25,00%	50,00%	25,00%
Ciprofloxacino	-	75,00%	25,00%
Levofloxacino	-	100,00%	-
Fosfomicina	-	100,00%	-
Colistina	-	100,00%	-
Norfloxacina	-	100,00%	-

Tabla 5. Porcentajes de Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI encontrados en las 5 muestras de *Klebsiella pneumoniae*.

Klebsiella pneumoniae presenta resistencia a la *Cefuroxima*, a la *Cefotaxima* y a la *Ceftazidima* en el 100% de los casos registrados. Del mismo modo, presentan sensibilidad ante *Cefepima*, *Ertapenem*, *Imipenem*, *Amikacina*, *Levofloxacino*, *Fosfomicina*, *Colistina* y *Norfloxacino* el 100% de las muestras.

Encontramos resistencia a la *Gentamicina*, *Tobramicina* y *Piperacilina/Tazobactam* en el 25% y una sensibilidad El a *Piperacilina/Tazobactam* y *Ciprofloxacino* en el 25%, como podemos ver en la figura 11.

5.4- Escherichia coli

En el caso de *Escherichia coli*, recogido en la tabla 6, vemos un rango de resistencias más amplio, presentando resistencia casi del 100% a la *Cefuroxima*; mayor del 70% en los casos de *Cefotaxima* y *Ceftazidima*; del 50% para el *Ciprofloxacino*, *Levofloxacino* y *Norfloxacino*; entre un 10-20% para *Cefepima*, *Piperacilina/Tazobactam* y *Fosfomicina* y, finalmente, del 1,32% y 1,56% para el *Ertapenem* y la *Colistina* respectivamente.

Considero importante destacar, en el caso de la *Cefotaxima* y la *Ceftazidima*, el notable porcentaje de bacterias que presentaban sensibilidad a dosis elevadas (21%)

	Escherichia coli		
	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	SENS. EI
Cefuroxima	98,68%	-	1,32%
Cefotaxima	69,75%	9,20%	21,05%
Ceftazidima	76,32%	21,05%	21,05%
Cefepima	15,79%	82,89%	1,32%
Ertapenem	1,32%	98,68%	-
Imipenem	-	100,00%	-
Gentamicina	11,84%	86,84%	1,32%
Tobramicina	11,84%	84,21%	3,95%
Amikacina	-	98,68%	1,32%
Piperacilina/ Tazobactam	14,47%	78,95%	6,58%
Ciprofloxacino	58,58%	42,10%	1,32%
Levofloxacino	55,26%	43,42%	1,32%
Fosfomicina	19,74%	80,26%	-
Colistina	1,56%	98,44%	-
Norfloxacina	59,38%	39,06%	1,56%

Tabla 6. Porcentaje de Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI encontrada en las 77 muestras de *Escherichia coli*.

5.5- Proteus mirabilis

El caso de *Proteus mirabilis* resulta más interesante. Como se puede observar en la tabla 7, si bien en *Escherichia coli* predominaba la resistencia a las Cefalosporinas y en menor medida hacia las Fluoroquinolonas, en *Proteus mirabilis* lo encontramos al inverso, con una mayoritaria resistencia frente a las Fluoroquinolonas y minoritaria frente a las Cefalosporinas. También en contraposición a *Escherichia coli*, vemos unos porcentajes mucho más elevados de sensibilidad frente a dosis elevadas o sensibilidad EI.

Así pues, se ha detectado una resistencia frente *Ciprofloxacino*, *Levofloxacino*, *Fosfomicina*, *Norfloxacino* y *Colistina* de entre el 85-100%. En lo concerniente a las Cefalosporinas, hay que destacar los casos de la *Cefotaxima* y la *Ceftazidima*, con un porcentaje mayoritario de sensibilidad EI.

Finalmente, vemos un 100% de sensibilidad frente a *Ertapenem* y, de forma combinada junto a la sensibilidad EI, a *Imipenem*, *Gentamicina*, *Tobramicina* y *Amikacina* persisten, como en el resto de las bacterias estudiadas, con bajos porcentajes de resistencia (13,89%, 16,67% y 5,56% respectivamente).

	Proteus mirabilis		
	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	SEN. EI
Cefuroxíma	38,88%	47,22%	13,88%
Cefotaxíma	47,22%	5,56%	47,22%
Ceftazidíma	19,45%	8,33%	72,22%
Cefepíma	8,33%	86,11%	5,56%
Ertapenem	-	100,00%	-
Imipenem	-	8,33%	91,67%
Gentamicina	13,89%	75,00%	11,11%
Tobramicina	16,67%	75,00%	8,33%
Amikacina	5,56%	83,33%	11,11%
Piperacilina/ Tazobactam	-	100,00%	-
Ciprofloxacino	97,22%	2,78%	-
Levofloxacino	88,89%	2,78%	8,33%
Fosfomicina	86,11%	13,89%	-
Colistina	100,00%	-	-
Norfloxacina	96,30%	3,70%	-

Tabla 7. Porcentaje de Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI encontrada en las 36 muestras de *Proteus mirabilis*.

6- Cepas BLEE

Conocidas como betalactamasas de espectro extendido (BLEE), esta denominación se otorga a aquellas bacterias que presentan enzimas capaces de hidrolizar Penicilinas, Cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación, y Monobactams (aztreonam), manteniendo la sensibilidad frente a Cefamicinas y Carbapenems. Además, presentan sensibilidad a la inhibición por Ácido clavulánico. [6,7]

De entre los 120 pacientes identificados por padecer infecciones causadas por enterobacterias productoras de pAmpC, hemos identificado 9 cepas que eran además portadoras de BLEEs, lo que representa un 7,5% del total. De estas 9, el 88.89% (8 de 9) pertenecen a *Escherichia coli*, identificándose todas como CTX-M, y un 11,11% (1 de 9) pertenece a *Proteus mirabilis* identificándose como no integrante del grupo CTX-M.

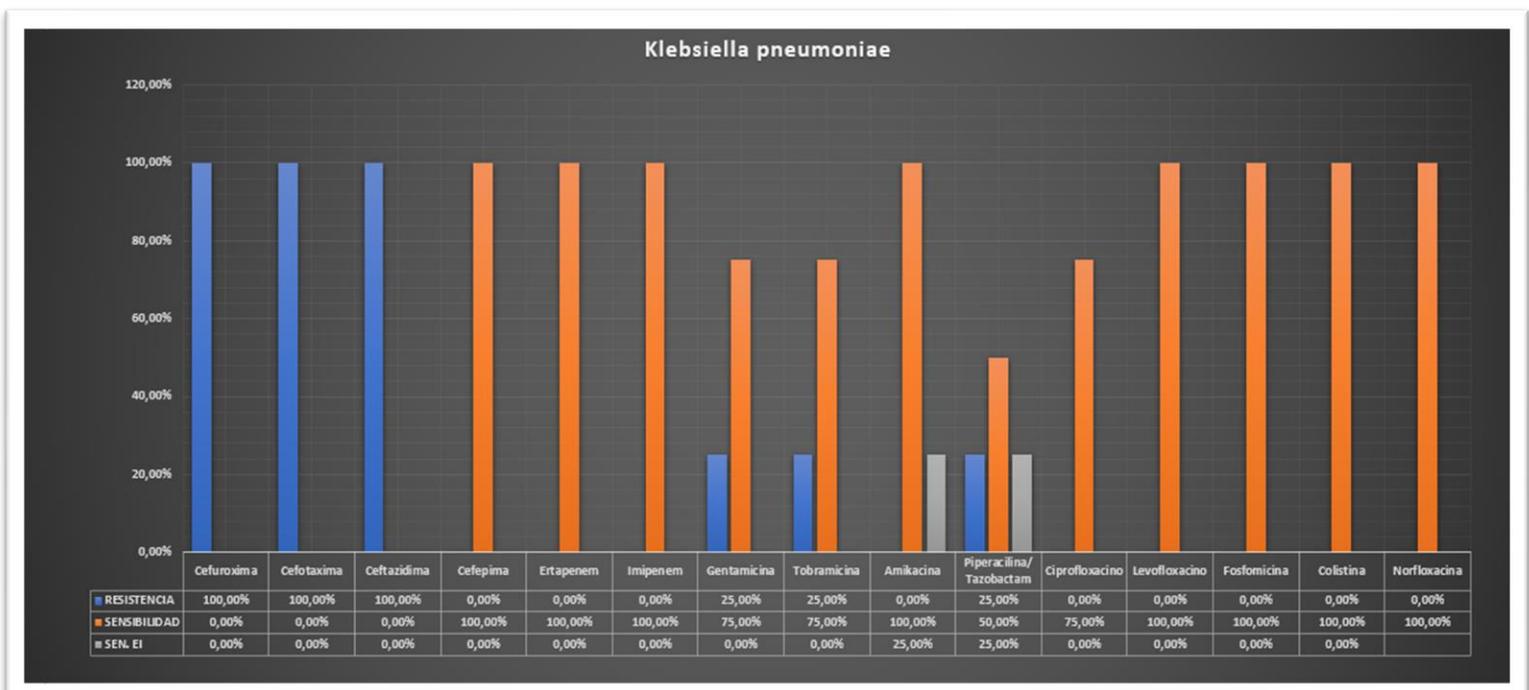


Figura 11. Distribución porcentual de la Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI a cada antibiótico estudiado para *Klebsiella pneumoniae*.

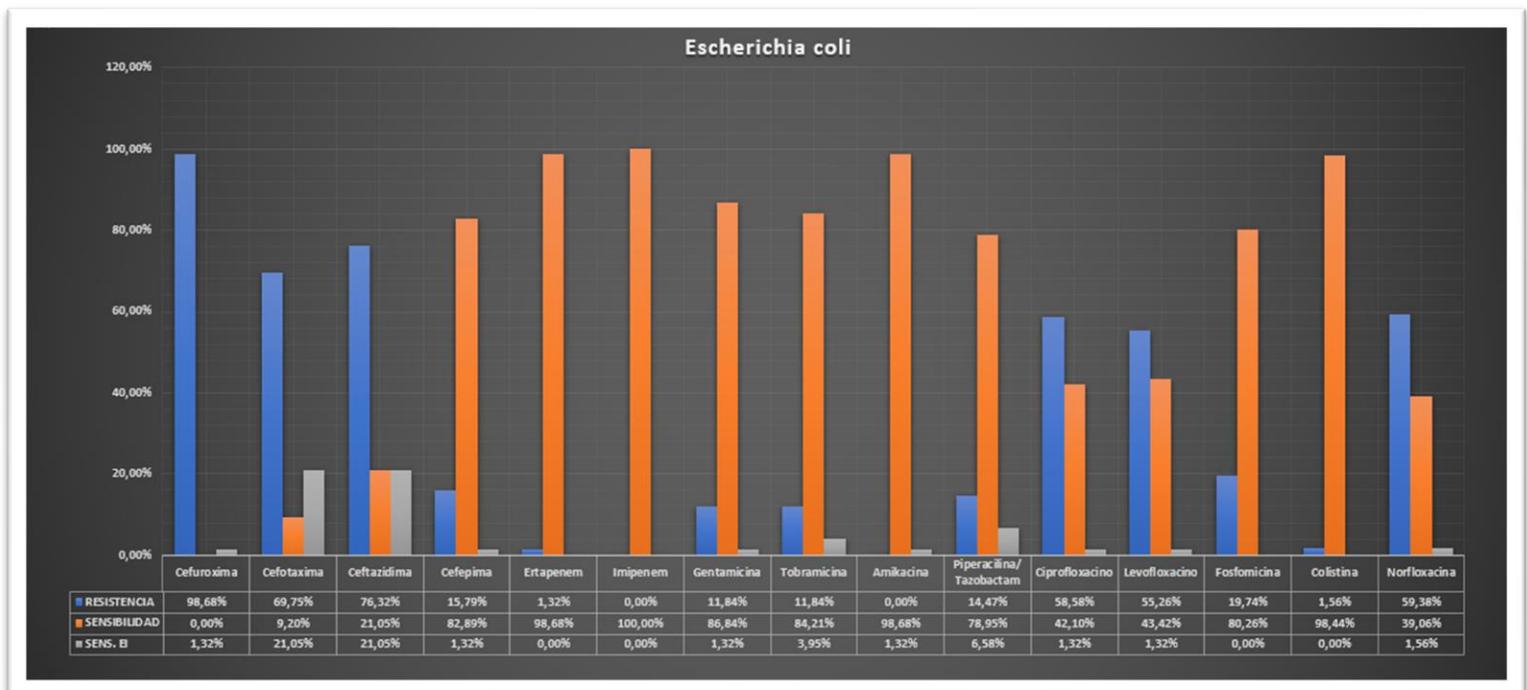


Figura 12. Distribución porcentual de la Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI a cada antibiótico estudiado para *Escherichia coli*.

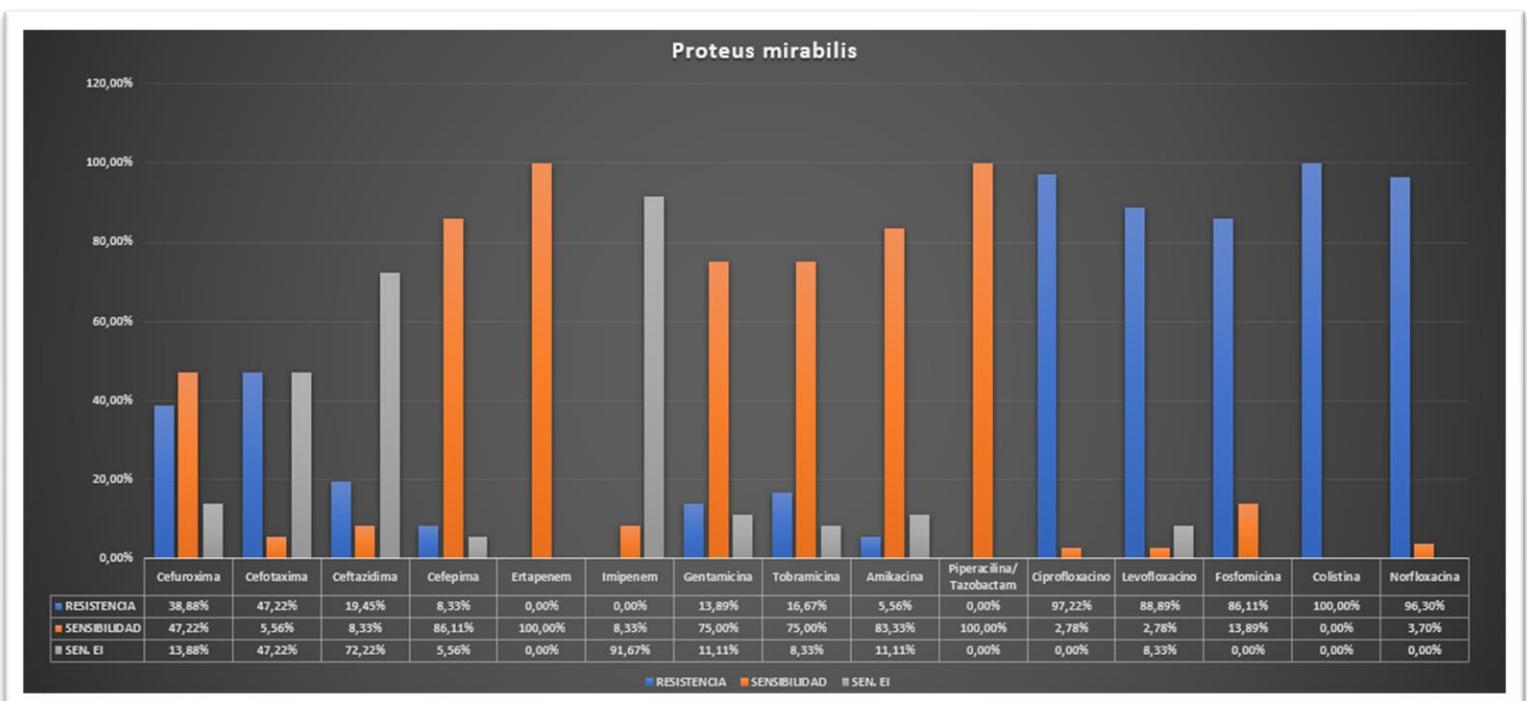


Figura 13. Distribución porcentual de la Resistencia, Sensibilidad y Sensibilidad EI a cada antibiótico estudiado para *Proteus mirabilis*.

Discusión

En los últimos años se ha observado, a nivel mundial, un incremento en la prevalencia en enterobacterias de AmpC plasmídica (pAmpC), especialmente, en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

En una revisión sistemática reciente de varios estudios [8], se estima que, en los últimos 10 años, el ratio de positivos para pAmpC oscila entre el 0,1 y el 40% en función de la población. A su vez se objetiva que el tipo más prevalente de pAmpC es CMY-2. Este hecho se repite dentro las bacterias de nuestra muestra siendo, en su mayoría, CMY-2 el tipo más frecuente de pAmpC.

Centrándonos en el caso de España, en el año 2018 se objetivó en dicha revisión que hasta el 14,2% de dichas enterobacterias (principalmente *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) fueron AmpC positivas. Este dato resulta llamativo, ya que es uno de los porcentajes más altos dentro del marco europeo, únicamente superado por Irlanda con un 19% de positivos. [8]

Dados la escasa presencia de algunas de las especies aisladas, nos centraremos en *Escherichia coli* principalmente.

1- Resistencia y sensibilidad comparada

Gracias a los datos aportados por el Servicio de Microbiología del Clínico podemos ver y comparar el estado de la resistencia frente a los principales antibióticos. Cabe señalar que, aunque las cepas del Clínico recogen todos los aislados obtenidos de pacientes asistidos en atención primaria del sector 3, son una muestra adecuada para la comparación que permita establecer cuál es el espectro y la frecuencia de la resistencia a diferentes antimicrobianos de las cepas portadoras de AmpC, respecto al conjunto de las cepas aisladas del sector.

En la figura 14 se puede observar cómo han ido evolucionando los diferentes porcentajes de resistencia frente a los antibióticos estudiados de las cepas aisladas en pacientes ambulatorios (atención primaria) desde 2016 hasta 2020.

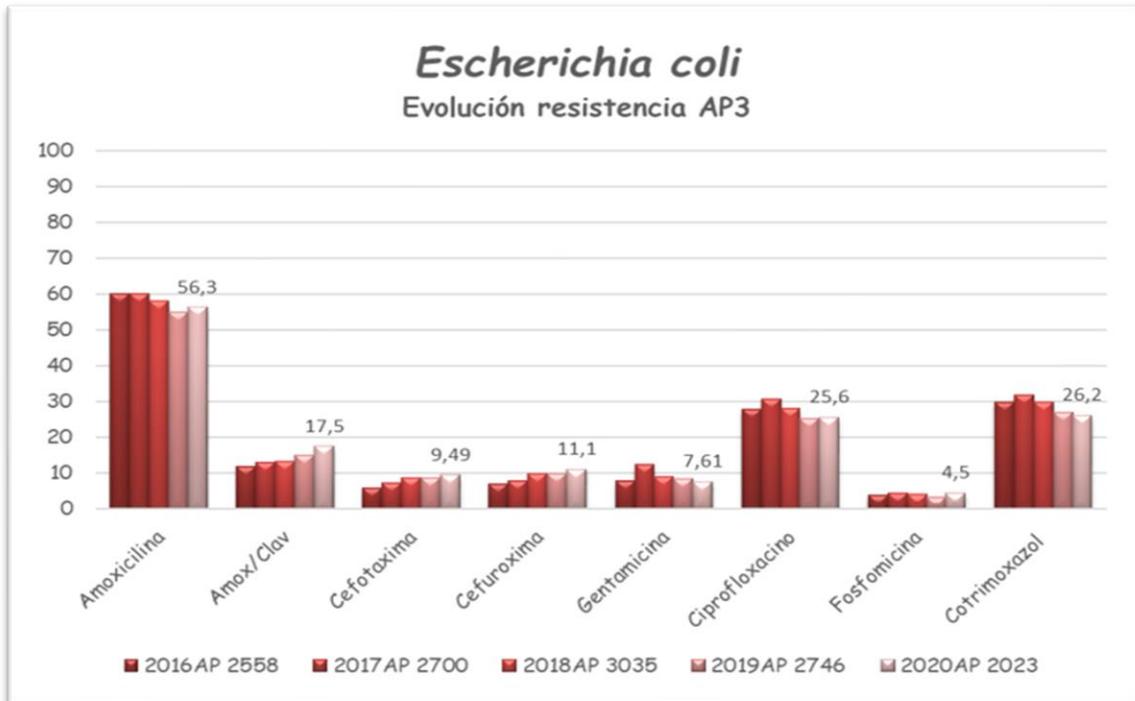


Figura 14. Evolución del porcentaje de resistencia antibiótica de *Escherichia coli* de origen ambulatorio en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa entre 2016 y 2020.

Como puede observarse al comparar con los resultados obtenidos en la muestra seleccionada, a modo de resumen, el perfil de resistencia es mayor para todos los antibióticos estudiados en las cepas productoras de cefamicinasas plasmídicas. Yendo uno por uno, podemos concretar los siguientes porcentajes:

- Cefuroxima → **11,11%** de resistencia frente al **98,60%** de nuestro estudio
- Cefotaxima → **9,49%** de resistencia frente al **69,75%** de nuestro estudio.
- Ciprofloxacino → **25,60%** de resistencia frente al **58,50%** de nuestro estudio.
- Fosfomicina → **4,50%** de resistencia frente al **19,74%** de nuestro estudio.
- Gentamicina → **7,60%** de resistencia frente al **11,84%** de nuestro estudio.

Con respecto a las cefalosporinas, el mayor porcentaje de resistencia era esperable dado que estamos comparando cepas de bacterias portadoras de un mecanismo de resistencia que implica directamente a diferentes betalactámicos. Más llamativo resulta el hecho de encontrar valores más elevados de resistencia en las fluoroquinolonas y aminoglucósidos. Este resultado se puede explicar por el hecho de que, en el proceso de transferencia de información por medio de plásmidos u otros vehículos de transmisión de genes de resistencia, se pueden transmitir con ellos varios genes que codifican diferentes mecanismos de resistencia frente a antibióticos no relacionados.

Este fenómeno se conoce como *corresistencia* y explica que se produzca un aumento de la resistencia a diferentes antibióticos de distintas familias, respecto a la resistencia observada para el conjunto de todos los aislados.

Comentando brevemente, en el caso de *Proteus mirabilis* podemos ver los siguientes resultados extraídos de la figura 15:

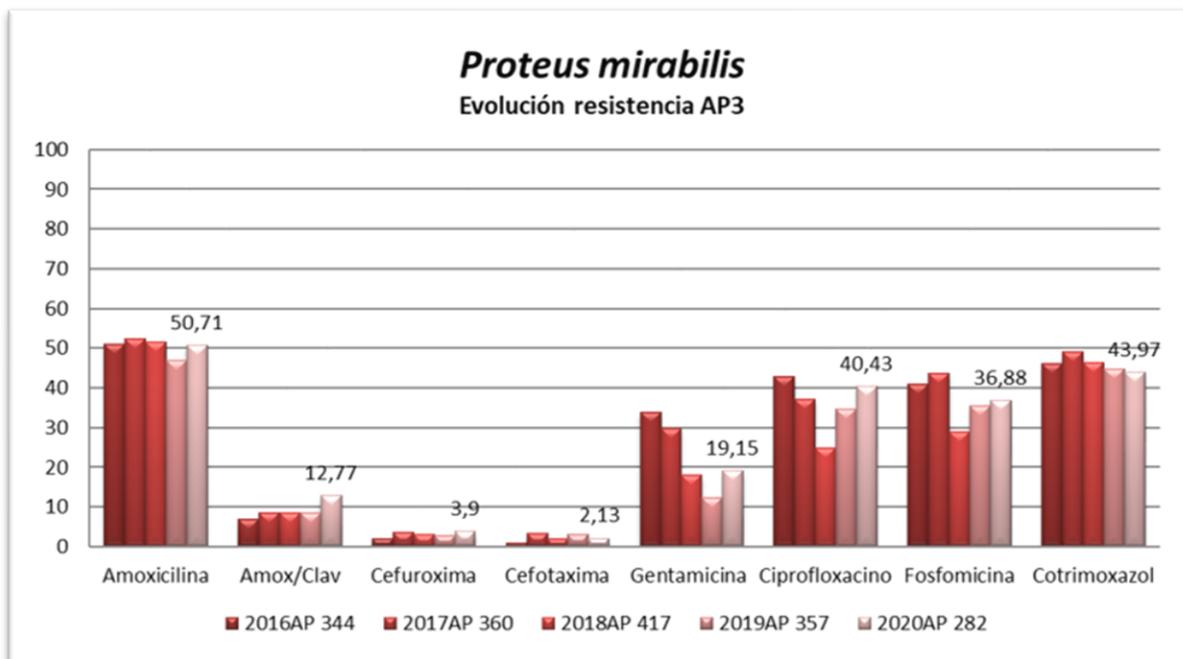


Figura 15. Evolución del porcentaje de resistencia antibiótica de *Proteus mirabilis* de origen ambulatorio en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa entre 2016 y 2020.

- Cefuroxima → **3,9%** de resistencia frente al **38,88%** de nuestro estudio
- Cefotaxima → **2,13%** de resistencia frente al **47,22%** de nuestro estudio.
- Ciprofloxacino → **40,43%** de resistencia frente al **97,22%** de nuestro estudio.
- Fosfomicina → **36,88%** de resistencia frente al **86,11%** de nuestro estudio.
- Gentamicina → **19,15%** de resistencia frente al **13,89%** de nuestro estudio.

Salvo en el caso de Gentamicina, las cepas productoras de cefamicinas plasmídicas son más resistentes, observando la misma tendencia descrita previamente en *Escherichia coli* de aumento del porcentaje de resistencia.

2- Sexo de los pacientes

Con respecto al sexo de los pacientes, tras comparar con los datos de España y observaciones del informe realizado conjuntamente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) podemos objetivar que la prevalencia en hombres y mujeres de las cepas estudiadas no sigue la norma mostrada en dicho documento. [9]

Mientras que en el informe “Antimicrobial resistance surveillance in Europe in 2022” se manifiesta que *Escherichia coli* es más prevalente en hombres (casi el 60% de los casos), en nuestro estudio, vemos que casi el 60% de los casos se han producido en mujeres. Este mismo hecho lo encontramos con la prevalencia de *Klebsiella pneumoniae*.

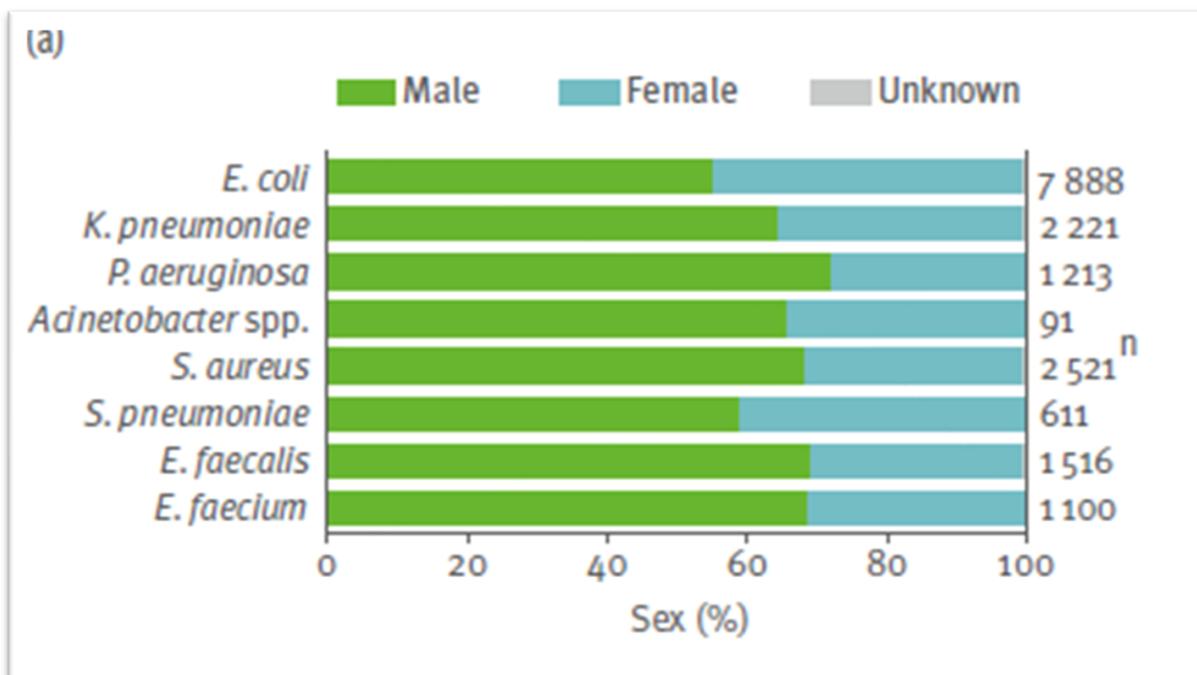


Figura 16. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 - 2020 data.

Hay que aclarar que, al igual que en el caso de los datos utilizados para la comparación del grado de resistencia, estos resultados hacen referencia a cepas “salvajes” de enterobacterias. Por lo tanto, podemos señalar que, aunque se asemejan, las cepas con cefamicinasas no siguen la distribución estudiada por estos organismos europeos.

3- Edad de los pacientes

En lo concerniente a la edad de los pacientes, también hemos utilizado la información de la publicación de la OMS/ECDC para comparar resultados.

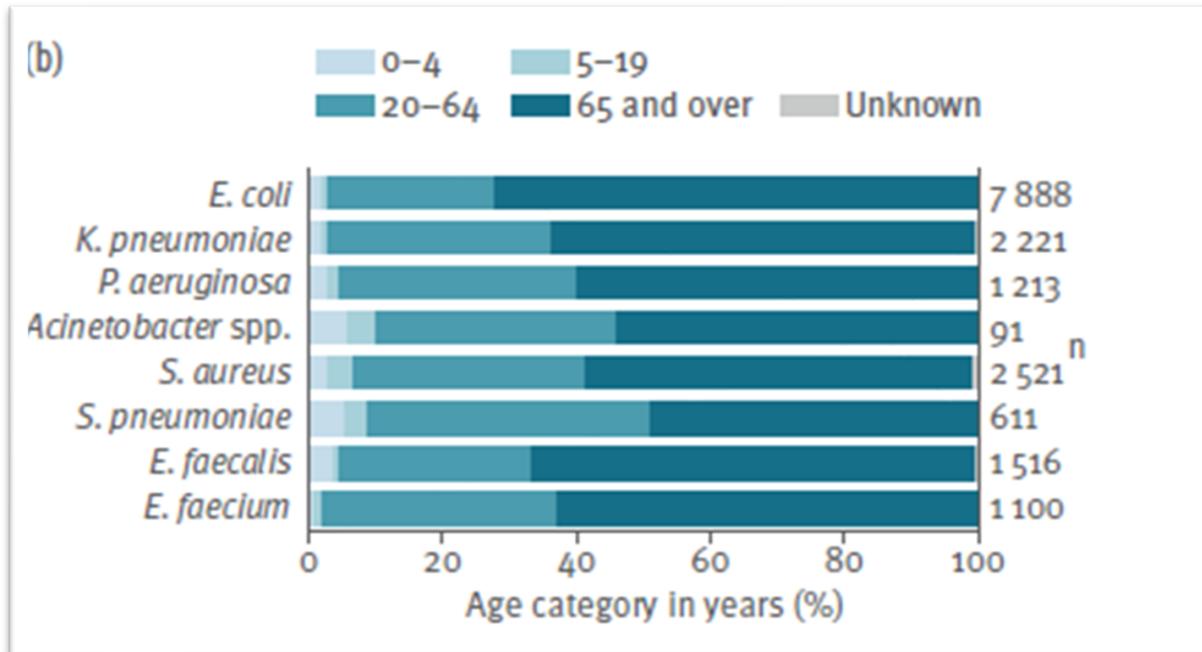


Figura 17. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 - 2020 data.

Podemos concluir que, en lo que respecta a la distribución por edades, los resultados de nuestro estudio son similares a los recogidos en el informe.

Por lo tanto, las cepas de enterobacterias se distribuyen de tal manera que alrededor del 70% (67,53%) de las infecciones por *Escherichia coli* las encontramos en mayores de 60 años, alrededor de un 30% (29,88%) en pacientes jóvenes y menos del 5% (2,59%) en menores de edad.

En el caso de *Klebsiella pneumoniae* la tendencia de distribución también es semejante a la del informe europeo.

4- Origen de la muestra

Finalmente, con respecto al origen de las muestras obtenidas, tras comparar con los resultados de varios estudios [9,13,14] relacionados con este tema en enterobacterias no seleccionadas por un mecanismo específico de resistencia, se ha observado que, por norma general:

- En torno al 50% (51,2%) de los aislados proceden del tracto urinario.
- En torno al 10% (11,4%) de los aislados tienen procedencia sanguínea.
- En torno al 15% (14,8%) de los aislados son de origen quirúrgico.
- En torno al 5% (5,3%) de los aislados son de origen respiratorio.
- En torno al 20% (17,3%) de los aislados se identifican como “otros” (piel, abscesos, bilis, etc....)

Si bien esa es la tónica normal de la distribución del global de las enterobacterias, vemos que en el caso de las cepas productoras de cefamicinasas, la distribución es diferente. Siendo de la misma forma mayoritario el origen urinario, en el caso de las cepas con pAmpC supone el 83,12% de las muestras frente al 50% comentado anteriormente. Lo mismo ocurre con la sangre, encontrándose enterobacterias en el 5,20% de nuestras muestras frente al 11,4% observado.

El apartado del origen quirúrgico, que corresponde a la agrupación de varios de los grupos en los que hemos dividido el origen (L. peritoneal y H. quirúrgica) encontramos que supone un 5,18% de los casos. La tercera parte de los que se observan en los estudios reseñados.

Finalmente, en “otros”, en este estudio hemos encontrado que sólo un 6,5% de las muestras procedían de la piel o la bilis, quedando lejos del 17,3% constatado.

En estas discrepancias influye decisivamente que la variedad de especies implicadas cuando nos referimos al conjunto de las enterobacterias es muy superior al de las especies que pueden ser portadoras de pAmpC.

No obstante, se puede afirmar que las cepas productoras de cefamicinasas plasmídicas son más prevalentes como agentes de infecciones urinarias.

El perfil de los pacientes que padecen infecciones producidas por enterobacterias productoras de cefamicinasas plasmídicas, en nuestro medio, es el de pacientes de edad avanzada aquejados de infección urinaria y con un ligero predominio de mujeres sobre los hombres. Estas infecciones son, además, de más difícil tratamiento, no solo por la mayor resistencia a algunos betalactámicos, sino por la frecuente co-resistencia a otras familias y grupos de antimicrobianos potencialmente adecuados para su uso en terapéutica.

Conclusiones

- 1- Se observa un aumento de los porcentajes de resistencia en las cepas de *Escherichia coli* productoras de pAmpC para la mayoría de los antibióticos seleccionados, respecto al observado en el conjunto de las cepas de la misma especie.
- 2- Las cepas productoras de cefamicinasas plasmídicas son más prevalentes como agentes de infecciones urinarias.
- 3- Las infecciones por enterobacterias productoras de cefamicinasas plasmídicas se observan con mayor frecuencia en las mujeres que en los hombres.
- 4- La distribución por grupos etarios observada es muy similar para las enterobacterias productoras de pAmpC que para las que no presentan este mecanismo de resistencia.
- 5- El perfil prevalente en los pacientes que padecen infecciones causadas por enterobacterias productoras de cefamicinasas plasmídicas, en nuestro medio, es el de personas de edad avanzada, aquejados de infección urinaria y con un ligero predominio de mujeres sobre los hombres.
- 6- Estas infecciones son de más difícil tratamiento, no solo por la mayor resistencia a algunos betalactámicos, sino por la frecuente corresponsencia a otras familias y grupos de antimicrobianos.

Bibliografía

- 1- Shakil, S., Ali, H. M., Zarrilli, R., & Khan, A. U. (2012). Extended spectrum beta lactamases: A critical update. *Multidrug Resistance A Global Concern*, 18(4), 115–129. <https://doi.org/10.2174/978160805292911201010115>
- 2- Meini, S., Tascini, C., Cei, M., Sozio, E., & Rossolini, G. M. (2019). AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. *Infection*, 47(3), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01291-9>
- 3- Logan, L. K., & Weinstein, R. A. (2017). The epidemiology of Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace. *Journal of Infectious Diseases*, 215(Suppl 1), S28–S36. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw282>
- 4- Seral, C., Gude, M. J. and Castillo, F.J. (2012). Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25(2), 89–99.
- 5- Meini, S., Tascini, C., Cei, M., Sozio, E., & Rossolini, G. M. (2019). AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. *Infection*, 47(3), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01291-9>
- 6- A. Oliver, R. C. (1990). Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido. *Control Calidad SEIMC*, 1–10.
- 7- Philippon, A., R, Labia and G.A Jacoby. Extended-spectrum beta lactamaeses. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:1131-6.

- 8- Rodríguez-Guerrero, E., Callejas-Rodelas, J. C., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2022). Systematic Review of Plasmid AmpC Type Resistances in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and Preliminary Proposal of a Simplified Screening Method for AmpC. *Microorganisms*, 10(3), 1–24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030611>
- 9- WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 – 2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022.
- 10- Asensio, A., Alvarez-Espejo, T., Fernandez-Crehuet, J., Ramos, A., Vaque-Rafart, J., Bishopberger, C., Hernández Navarrete, M. J., Calbo-Torrecillas, F., Campayo, J., & Canton, R. (2011). Trends in yearly prevalence of third-generation cephalosporin and fluoroquinolone resistant Enterobacteriaceae infections and antimicrobial use in Spanish hospitals, Spain, 1999 to 2010. *Eurosurveillance*, 16(40), 1–9. <https://doi.org/10.2807/ese.16.40.19983-en>
- 11- Zhao, F., Yang, H., Bi, D., Khaledi, A., & Qiao, M. (2020). A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections. *Microbial Pathogenesis*, 144(February), 104196. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104196>
- 12- Ejrnæs, K., Stegger, M., Reisner, A., Ferry, S., Monsen, T., Holm, S. E., Lundgren, B., & Frimodt-Møller, N. (2011). Characteristics of *Escherichia coli* causing persistence or relapse of urinary tract infections: Phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. *Virulence*, 2(6), 528–537. <https://doi.org/10.4161/viru.2.6.18189>
- 13- Martínez-Martínez, L. and J. Calvo. Development of resistances to antibiotic drugs: causes, consequences and importance to the public health system. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28 Suppl 4:4-9

- 14-** Prim, N., Turbau, M., Rivera, A., Rodríguez-Navarro, J., Coll, P., & Mirelis, B. (2017). Prevalence of colistin resistance in clinical isolates of Enterobacteriaceae: A four-year cross-sectional study. *Journal of Infection*, 75(6), 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.09.008>
- 15-** Erb, A., Stürmer, T., Marre, R., & Brenner, H. (2007). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: Overview of geographical, temporal, and methodological variations. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(2), 83–90. <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0248-2>
- 16-** Sabaté, M., Miró, E., Navarro, F., Vergés, C., Aliaga, R., Mirelis, B., & Prats, G. (2002). Betalactamases involved in resistance to broad-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates collected between 1994 and 1996, in Barcelona (Spain). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(6), 989–997. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf057>