

Detección de los genes de β - lactamasas bla_{TEM} , bla_{SHV} y bla_{CTX-M} en aislamientos de *Escherichia coli* comunitarios

Mariana Herrera García Mariana; Carolina Arévalo Valdez; Tamara Velásquez Porta
Detección de los genes de β -lactamasas bla_{TEM} , bla_{SHV} y bla_{CTX-M} en aislamientos de
Escherichia coli comunitarios
Revista Científica, vol. 28, núm. 2, 2019
Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Detección de los genes de β -lactamasas bla_{TEM} , bla_{SHV} y bla_{CTX-M} en aislamientos de *Escherichia coli* comunitarios

Detection of β -lactamase genes bla_{TEM} , bla_{SHV} and bla_{CTX-M} in community isolates of *Escherichia coli*

Mariana Herrera García

Instituto para la Investigación Científica y Educación acerca de las Enfermedades Genéticas y Metabólicas Humanas (INVEGEM-Rozas Botrán), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala
marianaherreragarcia@gmail.com

Carolina Arévalo Valdez

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala
dra.arevalol@gmail.com

Tamara Velásquez Porta

Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala
tamyporta@gmail.com

Recepción: 13/02/19
Aprobación: 04 Julio 2019

Resumen:

A nivel mundial la resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública, tanto en el ámbito hospitalario como en el comunitario. La producción de β -lactamasas es el principal mecanismo de resistencia en enterobacterias y la mayoría de enzimas responsables pertenecen a las familias TEM, SHV y CTX-M. El objetivo de este estudio fue detectar los genes de β -lactamasas

bla_{TEM} , bla_{SHV} y bla_{CTX-M} en cepas comunitarias de *Escherichia coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos de pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico Popular de la Universidad de San Carlos de Guatemala en el año 2016. Se detectó la presencia de al menos uno de los genes en el 90% de los 79 aislamientos y un 53.2% presentó los tres genes. La frecuencia fue de 57% para bla_{CTX-M} , 84% para bla_{SHV} y 85% para bla_{TEM} . La detección de los genes codificadores de las enzimas TEM-1, SHV-11, CTX-M15 y CTX-M55 corresponde a la primera caracterización molecular de aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE en Guatemala y son importantes para entender su propagación en el ámbito comunitario. Los aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE mostraron alta resistencia a ciprofloxacina y trimetoprim sulfametoxazol (78%) y bajos niveles de resistencia para fosfomicina (2.5%) y nitrofurantoina (7.6%). El 11.39% de las cepas presentó resistencia a un grupo de antibióticos no betalactámicos. Es importante establecer una vigilancia activa para la resistencia de estos antibióticos en cepas comunitarias ya que son la primera opción de tratamiento para cepas productoras de BLEE.

Palabras clave: β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), aislamientos comunitarios, *Escherichia coli*, TEM, SHV, CTX - M.

Abstract:

Globally, resistance to antibiotics is a public health problem, both in the hospital and in the community environment. e production of β -lactamasas is the main mechanism of resistance in enterobacteria and usually the cause of resistance are the enzymes to the families TEM, SHV and CTX-M. e principal aim of this study was to detect - β -lactamase genes bla_{TEM} , bla_{SHV} and bla_{CTX-M} in community strains of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from urine cultures of patients attended in the Laboratorio Clínico Popular of the Universidad de San Carlos de Guatemala in 2016. At least, one of the genes was detected in 90% of the 79 isolates and in 53.2% of the isolates the three genes were detected. e frequency was 57% for bla_{CTX-M} , 84% for bla_{SHV} and 85% for bla_{TEM} . e detection of the genes coding for TEM-1, SHV-11, CTX-M15 and CTX-M55 represent the

first molecular characterization of ESBL-producing *E. coli* isolates in Guatemala and it is important to understand the spread of these strains at the community environment. e ESBL-producing *E. coli* isolates showed high resistance to ciprofloxacin and trimethoprim sulfamethoxazole (78%) and low resistance levels for fosfomicin (2.5%) and nitrofurantoin (7.6%). e 11.39% of the strains showed resistance to a group of non-beta-lactam antibiotics. It is important to establish an active surveillance for these antibiotics in community strains because they are the first line treatment for strains producing ESBL.

Keywords: extended spectrum β -lactamasas (ESBL), community isolates, *Escherichia coli*, TEM, SHV, CTX - M.

Introducción

La producción de β -lactamasas es el principal mecanismo por el cual se produce la resistencia en bacilos Gram negativo; sobre todo porque los genes que codifican estas enzimas se encuentran en plásmidos que se transmiten a otras bacterias y codifican de forma simultánea genes de resistencia para diversos antibióticos (Geser, Stephan, & Hächler, 2012; Mulvey et al., 2004; Paterson, et al, 2003).

Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan penicilinas, aztreonam y cefalosporinas que contienen una cadena lateral oximino (primera, segunda y tercera generación). Sin embargo, no actúan sobre las cefamicinas ni carbapenemes, y son inhibidas por el ácido clavulánico y otros inhibidores como el sulbactam o tazobactam (Jeong et al., 2004; Kiratisin, Apisarnthanarak, Laesripa, & Saifon, 2008; Tankhiwale, Jalgaonkar, Ahamad, & Hassani, 2004)

La primera BLEE fue aislada en Alemania en 1983 y desde entonces se han caracterizado más de 200 tipos diferentes en todo el mundo. Las BLEE más diseminadas son las derivadas de las β -lactamasas tipo TEM, SHV y CTX-M por mutaciones puntuales en los genes *bla*^{TEM}, *bla*^{SHV} y *bla*^{CTX-M} que alteran la secuencia de aminoácidos del sitio activo de la enzima y aumentan su capacidad de hidrólisis para ciertos sustratos, como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Mulvey et al., 2004; Paterson, et al., 2003).

Durante mucho tiempo, las infecciones por cepas productoras de BLEE fueron asociadas a diferentes factores de origen hospitalario que incrementaban la probabilidad de adquirir una infección, como estancias prolongadas en las unidades de cuidados críticos en los hospitales, procedimientos médicos invasivos de larga duración (catéter central, sonda urinaria, tubos orotraqueales y otros), hemodiálisis y malnutrición. Recientemente, diferentes estudios en aislamientos comunitarios de enterobacterias han demostrado que pacientes ambulatorios pueden actuar como reservorios de cepas productoras de BLEE, favoreciendo su diseminación, cuando han tenido infecciones urinarias recurrentes, ingresos previos a hospitales o poseen una afección renal crónica, pulmonar, hepática, cardiovascular o diabetes (Paterson & Bonomo, 2005; Ben-Ami et al., 2006)

Diversos estudios que han caracterizado molecularmente las BLEE de aislamientos hospitalarios y comunitarios, determinaron una alta frecuencia de β -lactamasas derivadas de TEM y SHV. Sin embargo, se ha producido un incremento en la frecuencia de cepas productoras de BLEE de la clase CTX-M, que se ha relacionado al aumento en el uso de ceftriaxona a nivel mundial. Estos hallazgos son motivo de preocupación por la tendencia mundial de aparición de infecciones adquiridas en la comunidad causadas por cepas productoras de BLEE del tipo CTX-M, cuya propagación es asociada a políticas ineficientes de antibióticos a nivel hospitalario y ambulatorio (Blanco et al., 2013; Mendonça, Leitão, Manageiro, Ferreira, & Caniça, 2007; Paterson & Bonomo, 2005).

En Guatemala se han realizado estudios para estimar la prevalencia de BLEE en varios centros de atención hospitalaria y aislamientos provenientes de la comunidad reportando prevalencias de 31.9% y 27%, respectivamente (Alvarado & Mejía, 2014; Gordillo, Mejía, & Matheu, 2014). Sin embargo, no existen datos respecto al tipo específico de BLEE producido por estas enterobacterias, sobre todo en los aislamientos comunitarios.

El presente estudio tuvo como finalidad detectar los genes de β -lactamasas *bla*^{TEM}, *bla*^{SHV} y *bla*^{CTX-M} en aislamientos comunitarios de *Escherichia coli* a partir de urocultivos de pacientes atendidos en el

Laboratorio Clínico Popular (LABOCLIP) de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante el primer cuatrimestre del año 2016. Para determinar los genes se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación de Sanger bidireccional. Los resultados obtenidos son los primeros datos a nivel nacional sobre la epidemiología molecular de las cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE que circulan a nivel comunitario en el país, lo cual es de importancia para el monitoreo y vigilancia de la resistencia antimicrobiana.

Materiales y métodos

Selección de las cepas

Durante los meses de enero a abril del año 2016 se recolectaron 94 aislamientos comunitarios de *E. coli* productores de BLEE a partir de urocultivos en el área de Microbiología del Laboratorio Clínico Popular (LABOCLIP). El mecanismo de resistencia fue detectado a través del método de Kirby-Bauer con discos de 30 µg de cefotaxime (OXOID, Hampshire UK), 30 µg de ce azidime (OXOID, Hampshire UK) y 20/10 µg de amoxicilina/ácido clavulánico (OXOID, Hampshire UK). Quince cultivos fueron descartados debido a que, no se obtuvo crecimiento bacteriano y la calidad o cantidad del DNA extraído no fue adecuada luego de dos repeticiones.

Enriquecimiento y extracción de DNA

Las cepas de *E. coli* fueron inoculadas en 5 mL de caldo LB (Luria Berthani) para su enriquecimiento por 48 h a 37 °C. Posteriormente se tomaron 400 µL del cultivo para realizar la extracción de DNA por medio del kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification según las instrucciones del fabricante (Promega, Madison USA).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los genes de β-lactamasas Secuenciación de Sanger

Los productos de PCR obtenidos para cinco cepas fueron secuenciados por el método de Sanger bidireccional en la empresa Macrogen, USA (Maryland, USA). Los resultados fueron analizados en el programa Geneious R8.8.1.8. Las secuencias fueron traducidas a proteínas y analizadas en el software CLC sequence viewer 8.0 Qiagen®.

Análisis de resultados

Se utilizaron frecuencias, mediana y proporciones para describir el sexo y edad de los pacientes de quienes provenían los aislamientos, presencia o ausencia de los genes de β-lactamasas y la resistencia o susceptibilidad a antibióticos. Se buscaron diferencias entre la resistencia a los antibióticos no β-lactámicos de los aislamientos provenientes de pacientes con y sin historia de enfermedades del tracto urinario. La estadística descriptiva de los aislamientos y los perfiles de resistencia fueron analizados en el programa Microso Excel. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba Ji^2 a través de la herramienta informática OpenEpi versión 3.01, y un valor de $p \leq .05$.

Resultados

El 84.0% (66/79) de los aislamientos procedían de urocultivos de mujeres. La mediana de la edad fue de 57 años, rangos intercuartilico (RIC= 26 - 67 años) para todos los pacientes, y 31.6% (25/79) presentaba historia de infecciones del tracto urinario (ITU) recurrentes.

Por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se analizaron 79 cepas productoras de BLEE y se determinó la presencia de los genes bla_{TEM} , bla_{SHV} y bla_{CTX-M} (Figura 1). En 71 (90%) aislamientos se detectó la presencia de, al menos, uno de los genes analizados.

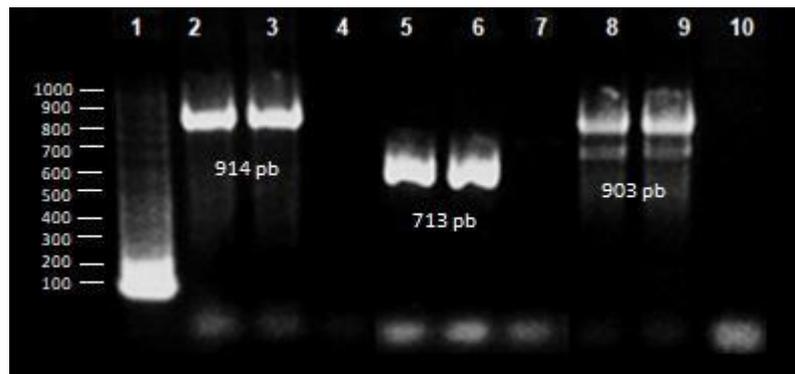


FIGURA 1.

Productos de PCR en gel de agarosa 2 %. Filas 2 y 3 *bla*^{TEM}, filas 5 y 6 *bla*^{SHV}, filas 8 y 9 *bla*^{CTX-M}, filas 4,7 y 10 blanco de reactivo de PCR. Fila 1 Marcador de peso molecular 100 pb.

El 82.3% (65/79) de las cepas presentó más de uno de los tipos de β -lactamasas, y en más de la mitad se detectó la presencia de los tres genes. (53.2%). Las genes codificantes para las enzimas de tipo TEM y SHV fueron detectados de forma única en 3.8% de los aislamientos. Por el contrario, los genes codificantes de las enzimas de tipo CTX-M fueron detectados siempre de forma conjunta con los de las enzimas TEM y/o SHV. En 10.1% de los aislamientos no se detectó la presencia de ninguno de los genes de interés (Tabla 1).

TABLA 1.

Frecuencia de los genes de β -lactamasas detectados

Genes de β -lactamasas	Aislamientos (N=79)	% de aislamientos
<i>bla</i> ^{TEM} , <i>bla</i> ^{SHV} y <i>bla</i> ^{CTX-M}	42	53.2
<i>bla</i> ^{SHV} , <i>bla</i> ^{CTX-M}	2	2.5
<i>bla</i> ^{TEM} , <i>bla</i> ^{CTX-M}	1	1.3
<i>bla</i> ^{TEM} , <i>bla</i> ^{SHV}	20	25.3
<i>bla</i> ^{TEM}	3	3.8
<i>bla</i> ^{SHV}	3	3.8
Negativo (otra BLEE)	8	10.1

La secuenciación de los genes *bla*^{TEM}, *bla*^{SHV} y *bla*^{CTX-M} detectados en cinco de las cepas analizadas previamente permitió determinar la enzima específica que causa el mecanismo de resistencia (Figuras 2,3 y 4). Los tipos específicos de β -lactamasas obtenidos se observan en la Tabla 2.

TABLA 2.

Tipo de β -lactamasa determinado por secuenciación de Sanger bidireccional de productos de PCR

Cepa analizada	Tipo de β -lactamasa
ECO-57	CTX-M15, SHV-11
ECO-96	CTX-M55
ECO-97	TEM-1
ECO-109	CTX-M15, SHV-11 y TEM-1
ECO-112	SHV-11 y TEM-1



FIGURA 2.

Electroferograma del producto de PCR para *bla*_{TEM}. Puede observarse el alineamiento entre la secuencia obtenida para la muestra ECO-109 por medio de secuenciación de Sanger bidireccional y la secuencia consenso para la enzima TEM-1 (KR632746). (A=adenina/rojo, C=citosina/azul, T=timina/verde y G=guanina/amarillo) So ware: Geneious R8 8.1.8



FIGURA 3.

Electroferograma del producto de PCR para *bla*_{SHV}. Puede observarse el alineamiento entre la secuencia obtenida para la muestra ECO-109 por medio de secuenciación de Sanger bidireccional y la secuencia consenso para la enzima SHV-11 (KR632750). (A=adenina/rojo, C=citosina/azul, T=timina/verde y G=guanina/amarillo) So ware: Geneious R8 8.1.8 Importar tabla

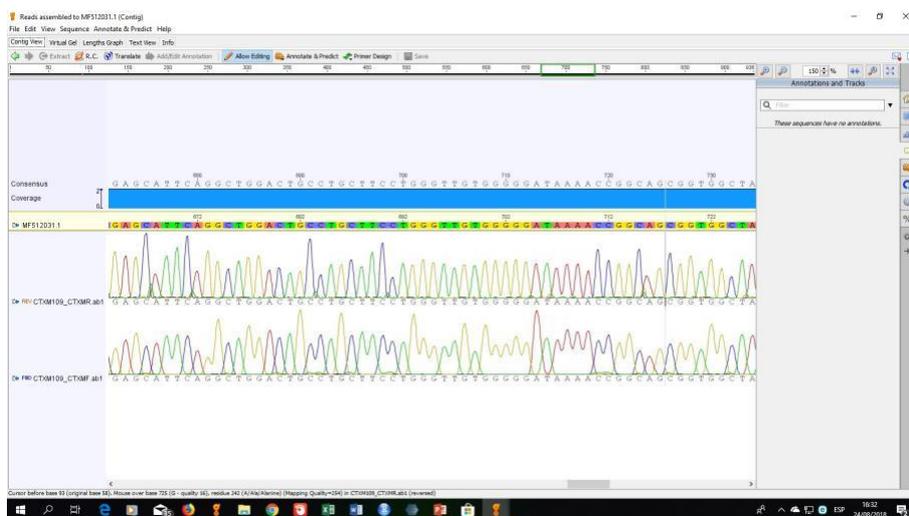


FIGURA 4.

Electroferograma del producto de PCR para *bla*_{CTX-M}. Puede observarse el alineamiento entre la secuencia obtenida para la muestra ECO-M109 por medio de secuenciación de Sanger bidireccional y la secuencia consenso para la enzima CTX-M15 (MF512031.1). (A=adenina/rojo, C=citosina/azul, T=timina/verde y G=guanina/amarillo) So ware: Geneious R8 8.1.8

La Tabla 3 muestra el perfil de resistencia de las cepas evaluadas frente a los antibióticos no betalactámicos, incluidos en el antibiograma de forma rutinaria en el LABOCLIP. Los porcentajes más altos de resistencia corresponden a ciprofloxacina y trimetoprim sulfametoxazol (ambos 62/79). Por el contrario, la resistencia fue baja para fosfomicina (2/79) y nitrofurantoina (6/79).

TABLA 3.

Perfil de resistencia a antimicrobianos no betalactámicos de los aislamientos de *E. coli* analizados

Antibiótico	Resistente α	Susceptible
Fosfomicina β	2 2.5%	68 86.1%
Nitrofurantoina	6 7.6%	73 92.4%
Ciprofloxacina	62 78.5%	17 21.5%
Amoxicilina/Ácido clavulánico	34 43.0%	45 57.0%
Trimetoprim sulfametoxazol	62 78.5%	17 21.5%

α Incluye resultados resistente e intermedio del antibiograma β Nueve de los aislamientos no fueron evaluados para fosfomicina

El 11.39% (9/79) de las cepas estudiadas presentó resistencia a un antibiótico no betalactámico, y en la mayoría la resistencia fue múltiple. El 59.49 % (47/79) fue resistente a ciprofloxacina y trimetoprim sulfametoxazol de forma combinada, siendo este perfil de resistencia el más común. Además, 29.11% de las cepas con resistencia a ambos antibióticos presentó también resistencia a la combinación de amoxicilina/ ácido clavulánico.

No se encontró diferencia significativa entre la resistencia a ciprofloxacina, trimetoprim sulfametoxazol y amoxicilina/ácido clavulánico cuando se compararon a los pacientes con historia de ITU recurrentes y los que no tenían este antecedente ($p = .84$, $p = .17$ y $p = .55$, respectivamente).

Discusión

El LABOCLIP es un laboratorio escuela que atiende diariamente aproximadamente 300 pacientes ambulatorios y la mayoría ellos tienen recursos limitados. Según el registro del área de Microbiología Clínica, en el año 2016 en el 36% de los urocultivos se aisló *E. coli* BLEE positivo y esta bacteria fue el patógeno más frecuente asociado a infecciones del tracto urinario con 93%.

A nivel mundial se ha reportado un incremento alarmante en las cepas productoras de BLEE de aislamientos comunitarios; sobre todo en patógenos de la familia Enterobacteriaceae (Fan et al., 2014; Pitout, Nordmann, Laupland & Poirel, 2005; Shaikh, Fatima, Shakil, & Rizvi, 2015; Tumbarello et al., 2006). La detección y caracterización de estos aislamientos es de vital importancia para la selección de terapia, control y prevención de los mismos. Por ello, se planteó la detección de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX-M} en aislamientos comunitarios de *E. coli* productores de BLEE aislados de urocultivos.

Se detectó la presencia de, al menos, uno de los genes analizados en 89.8% de los aislamientos (71/79). Los genes *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV} fueron los más frecuentes con un 84 y 85%, respectivamente. Sin embargo, uno de los principales problemas de la caracterización de las BLEE es que frecuentemente se asocian a β-lactamasas de amplio espectro (BLEA), sobre todo de los tipos TEM y SHV de las cuales se originan, lo cual hace necesario, la identificación del tipo específico de enzima para poder discriminar entre unas y otras (Bradford, 2001; Jacoby & Munoz-Prince, 2005; Paterson & Bonomo, 2005).

Por el contrario, la detección del gen *bla*_{CTX-M} en aislamientos productores de BLEE es evidencia suficiente para explicar el fenotipo resistente. Es decir que, en el 57% de los aislamientos analizados, la enzima CTX-M es responsable del patrón de resistencia mostrado, independientemente de la presencia de las enzimas del tipo TEM y SHV, cuyos genes también fueron detectados. Este porcentaje concuerda con estudios realizados en cepas *E. coli* comunitarias a nivel mundial, en donde se reportan entre 40 y 70% de BLEE tipo CTX-M (Brigante et al., 2005; Rodríguez-Villalobos et al., 2011; Shaikh et al., 2015).

En el 10.1 % de los aislamientos en los que no se detectó la presencia de los genes analizados, es indispensable evaluar la presencia de genes que codifican para otros tipos de enzimas como GES, BES, TLA, SFO e IBC que presentan un espectro extendido y han sido descritas en enterobacterias (Bradford, 2001; Paterson & Bonomo, 2005; Shaikh et al., 2015).

Para determinar el tipo específico de enzimas presentes, se seleccionaron cinco cepas para la secuenciación de los productos de PCR. La cepa codificada como ECO-109 fue seleccionada debido a que mostró un perfil de multiresistencia (resistente a todos los antibióticos no betalactámicos evaluados), las cepas ECO-57, ECO-96, ECO-97 y ECO-112 fueron seleccionadas aleatoriamente. Los resultados de secuenciación obtenidos mostraron que los genes presentes, corresponden a las enzimas TEM-1, SHV-11, CTX-M15 y CTX-M55.

La enzima TEM-1 es una β-lactamasa de espectro ampliado identificada por primera vez en 1965 y es responsable de, aproximadamente, el 90% de la resistencia a ampicilina mediada por plásmidos en *E. coli* (Bradford, 2001; Paterson & Bonomo, 2005). Esta enzima fue detectada en las cepas ECO-97, ECO-109 y ECO-112, por lo que en estos tres aislamientos se tiene la certeza de que el fenotipo BLEE mostrado no se debe a enzimas del tipo TEM.

La enzima SHV-11, cuyo gen fue detectado en las tres cepas secuenciadas (ECO-57, ECO-109 y ECO-112) fue descrita en 1997 y se diferencia de la enzima SHV-1 (la primera enzima de este grupo descrita) solamente por el cambio de una leucina por una glutamina en la posición 35. Este cambio es distante del sitio activo de la enzima, por lo que el espectro de hidrólisis de SHV-11 es igual a SHV-1 (Nüesch-Inderbinnen, Kayser, & Hächler, 1997). Por tanto, la presencia de esta enzima, al igual que la presencia de TEM-1, nos indica que el fenotipo BLEE determinado en las cepas es causado por otra enzima.

La enzima CTX-M15, cuyo gen fue detectado en dos aislamientos de este estudio, fue aislada por primera vez en India y es la enzima del tipo CTX-M más diseminada a nivel mundial. Forma parte de la denominada “pandemia CTX-M” asociada a infecciones del tracto urinario (ITU) y bacteremias adquiridas en la comunidad (Coque et al., 2008; Hijazi, Fawzi, Ali, & Abd El Galil, 2016; Moubareck et al., 2005). El gen *bla*_{CTX-M15} se ha encontrado en elementos móviles altamente eficaces como los plásmidos IncFI, IncFII, IncHI2, IncI, IncN, IncP-1-a, IncL/M e IncA/C; y las secuencias ISEcp1 e ISCR1 (Brigante et al., 2005; Peirano & Pitout, 2010). Recientes estudios de vigilancia informan altos porcentajes de aislamientos de *E. coli* productores de CTX-M15 en Europa, Asia y América del Sur (Hijazi et al., 2016; Lau et al., 2008; Shi et al., 2015).

Estudios de epidemiología molecular con la técnica de MLST (multilocus sequencing typing) sugieren que la rápida propagación de *E. coli* productora de CTX-M15 a nivel mundial se debe al clon ST131. Este clon altamente virulento contiene además múltiples genes de resistencia como *bla*_{TEM-1}, *bla*_{OXA-1}, *aaa(6')-Ib-cr*, *tetA* y *aaa(3)-II*, contenidos en integrones de clase 1 o asociados al plásmido IncFII (Machado et al., 2006; Peirano, Costello, & Pitout, 2010; Shi et al., 2015). Estudios futuros de clonalidad en cepas de *E. coli* productoras de BLEE, podrían explicar la alta frecuencia de cepas co-productoras de enzimas del tipo TEM-1 y CTX-M-15 (54%) obtenidas en este estudio, así como, la resistencia combinada a fluoroquinolonas.

Las enzimas *aaa(3)-II* y *aaa(6')-Ib-cr* se han asociado a *E. coli* productoras de CTX-M15 (Peirano & Pitout, 2010; Xiao & Hu, 2012). Estas enzimas modifican los aminoglucósidos y los inactivan. En este estudio no fue posible determinar la resistencia a este grupo de antibióticos, debido a que no son evaluados de forma rutinaria en el antibiograma utilizado para Gram negativos en el LABOCLIP. La cepa ECO-109 fue resistente a los antibióticos de rutina evaluados, por lo que se enfrentó a dos aminoglucósidos, y mostró resistencia frente a gentamicina y susceptibilidad a amikacina. En esta cepa particular, podría analizarse la presencia de estos dos genes de resistencia para confirmar el fenotipo mostrado.

La enzima *aaa(6')-Ib-cr* tiene también la capacidad de acetilar, y con ello inactivar, fluoroquinolonas que presentan el nitrógeno amino libre en el anillo de piperazina (norfloxacin y ciprofloxacina) (Park, Robicsek, Jacoby, Sahm, & Hooper, 2006; Peirano & Pitout, 2010). La presencia combinada de esta enzima con *bla*_{CTX-M15} explicaría la elevada resistencia a fluoroquinolonas (ciprofloxacina) que mostraron las cepas analizadas (78.5%), aunque debe evaluarse la presencia de otros genes como *gyrA*, *parC* (cromosómicos), *qnrA*, *qnrB* y *qnrS* (plasmídicos) que también se asocian a resistencia en estos antibióticos (Hernández, 2010; Jacoby et al., 2006; Peirano et al., 2010; Peirano & Pitout, 2010). La elevada tasa de resistencia a fluoroquinolonas en cepas productoras de BLEE encontrada, concuerda con prevalencias reportadas en otros estudios como el de Rodríguez-Baño y colaboradores que encontraron 77% de resistencia a fluoroquinolonas en cepas productoras de BLEE (Coque et al., 2008; García-Gómez, Guio, Hernández, Vilar & Pijoán, 2015; Rodríguez-Baño et al., 2004; Rodríguez-Villalobos et al., 2011).

La enzima CTX-M55 pertenece al subgrupo CTX-M1 al igual que la enzima CTX-M15, de la cual se diferencia simplemente por tener una valina en vez de alanina en la posición 77, por lo que se cree que se ha derivado de esta enzima. Fue descrita por primera vez en Tailandia y estudios estructurales han mostrado que al igual que CTX-M15 se asocia a la presencia de ISEcp1 (Kiratisin, et al., 2007). En China, esta es la segunda enzima del tipo CTX-M más frecuente y ha sido aislada en humanos y animales (Kim et al., 2017). La cepa ECO-96 que mostró la presencia de esta enzima fue resistente a fosfomicina, un dato de interés, sobre todo porque se ha descrito la producción conjunta de la enzima CTX-M55 y el gen fosA3 en aislamientos de *E. coli* en Brasil y Francia (Cunha, Lincopan, Cerdeira, & Esposito, 2017; Fernandes, Sellera, Moura, Souza, & Lincopan, 2018; Lupo, Saras, Madec, & Haenni, 2018).

La nitrofurantoína y la fosfomicina fueron los antibióticos que presentaron menor tasa de resistencia (7.6 y 2.5 % respectivamente). Sin embargo, éstas son elevadas en comparación con reportes internacionales previos de 0.3 % de cepas resistentes a fosfomicina y 1.5 % a nitrofurantoína en aislamientos comunitarios. Los niveles elevados de resistencia a antibióticos se asocian políticas ineficientes para el manejo de antibióticos a nivel

hospitalario y ambulatorio, déficit sanitario, presencia y propagación conjunta de genes de resistencia a varios tipos de antibióticos y la colonización de reservorios animales y humanos no identificados. (Dash, Al-zarouni, Al-kous, & Shehhi, 2008; Zhanel et al., 2006).

El elevado número de organismos multirresistentes en pacientes ambulatorios es una amenaza emergente para la salud pública en el país, pues evidencia la circulación de cepas bacterianas resistentes a nivel comunitario. La resistencia mostrada a fluoroquinolonas, trimetoprim sulfametoxazole y amoxicilina/ácido clavulánico en cepas productoras de BLEE limita la terapia al uso de carbapenemes, nitrofurantoína y fosfomicina como la primera opción para el tratamiento de infecciones del tracto urinario que se originan en la comunidad. Ello es alarmante, ya que en ámbitos hospitalarios se ha reportado una frecuencia de 91% de cepas portadoras de genes de resistencia a carbapenemes (Velásquez Porta, 2016).

Agradecimientos

En especial al área de Microbiología del Laboratorio Clínico Popular por su valiosa colaboración para la realización de esta investigación. A INVEGEM/Rozas Botrán por la formación profesional y el apoyo brindado, en especial su directora científica y al personal del laboratorio de Biología Molecular.

Referencias

- Alvarado, J., & Mejía, C. (2014). Resistencia Bacteriana en Infecciones del Tracto Urinario de Origen Comunitario. *Revista de Medicina Interna de Guatemala*, 20, 24-30.
- Ben-Ami, R., Schwaber, M. J., Navon-Venezia, S., Schwartz, D., Giladi, M., Chmelnitsky, I., ... & Carmeli, Y. (2006). Influx of Extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae into the Hospital. *Clinical Infectious Diseases*, 42(7), 925-934.
- Blanco, J., Mora, A., Mamani, R., López, C., Blanco, M., Dahbi, G. & Rodríguez-Baño, J. (2013). Four main virotypes among extended-spectrum- β -lactamase-producing isolates of *Escherichia coli* O25b:H4-B2-ST131: Bacterial, epidemiological, and clinical characteristics. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(10), 3358–3367.
- Bradford, P. A. (2001). Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century#: Characterization, Epidemiology, and Detection of is Important Resistance reat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933-951.
- Brigante, G., Luzzaro, F., Perilli, M., Lombardi, G., Coli, A., Rossolini, G. M., ... Toniolo, A. (2005). Evolution of CTX-M-type β -lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(2), 157-162.
- Coque, T. M., Novais, Â., Carattoli, A., Poirel, L., Pitout, J., Peixe, L., ... Nordmann, P. (2008). Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15. *Emerging Infectious Diseases*, 14(2), 195-200.
- Cunha, M. P. V., Lincopan, N., Cerdeira, L., & Esposito, F. (2017). Coexistence of CTX-M-2, CTX-M-55, CMY-2, FosA3, and QnrB19 in Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* from Poultry in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy Downloaded*, 61(4), 1-3.
- Dash, N., Al-zarouni, M., Al-kous, N., & Shehhi, F. A. (2008). Distribution and Resistance Trends of Community Associated Urinary Tract Pathogens in Sharjah, UAE. *Microbiology Insights*, 3, 41-45.
- Fan, N. C., Chen, H. H., Chen, C. L., Ou, L. S., Lin, T. Y., Tsai, M. H., & Chiu, C. H. (2014). Rise of community-onset urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in children. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 47(5), 399-405.
- Fernandes, M. R., Sellera, F. P., Moura, Q., Souza, T. A., & Lincopan, N. (2018). Dra genome sequence of a CTX-M-8, CTX-M-55 and FosA3 co-producing *Escherichia coli* ST117/B2 isolated from an asymptomatic carrier. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 183-184.

- García-Gómez, M., Guío, L., Hernández, J. L., Vilar, B., & Pijoán, J. I. (2015). Original Bacteriemias por enterobacterias productoras de beta-lactamasas (BLEE, AmpC y carbapenemasas): asociación con los cuidados sanitarios y los pacientes oncológicos. *Revista Española de Quimioterapia*, 28(5), 256-262.
- Geser, N., Stephan, R., & Hächler, H. (2012). Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Veterinary Research*, 8(1), 21.
- Gordillo, M. R., Mejia, C. R., & Matheu, J. (2014). Presencia de β -lactamasas de espectro extendido, BLEE, y enterobacterias portadoras de carbapenemasas KPC, en enterobacterias en el Hospital Roosevelt, 2011 Y 2012. *Revista de Medicina Interna de Guatemala*, 17(9), 8-22.
- Hernández, E. (2010). *Escherichia coli* productores de BLEE aislados de urocultivo: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Hijazi, S. M., Fawzi, M. A., Ali, F. M., & Abd El Galil, K. H. (2016). Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamasas producing Enterobacteriaceae in healthy children and associated risk factors. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15(1), 1-9.
- Jacoby, G. A., & Munoz-Prince, L. S. (2005). Mechanisms of Disease: *e* new β -Lactamasas. *Journal of Medicine*, 352(4), 380-391.
- Jacoby, G. A., Walsh, K. E., Mills, D. M., Walker, J., Oh, H., Robicsek, A. & Hooper, D. C. (2006). qnrB, Another Plasmid-Mediated Gene for Quinolone Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), 1178-1182.
- Jeong, S. H., Bae, I. K., Lee, J. H., Sohn, S. G., Kang, G. H., Jeon, G. J. & Lee, S. H. (2004). Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamasas Produced by Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean Nationwide Survey. *Journal of clinical microbiology*, 42(7), 2902-2906.
- Kim, J. S., Kim, S., Park, J., Shin, E., Yun, Y. S., Lee, D. Y., ... Kim, J. (2017). Plasmid-mediated transfer of CTX-M-55 extended-spectrum beta-lactamase among different strains of Salmonella and Shigella spp. in the Republic of Korea. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 89(1), 86-88.
- Kiratisin, P., Apisarnthanarak, A., Laesripa, C., & Saifon, P. (2008). Molecular characterization and epidemiology of extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection inailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(8), 2818-2824.
- Kiratisin, P., Apisarnthanarak, A., Saifon, P., Laesripa, C., Kitphati, R., & Mundy, L. M. (2007). *e* emergence of a novel ce azidime-resistant CTX-M extended-spectrum β -lactamase, CTX-M-55, in both community-onset and hospital-acquired infections inailand. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58(3), 349-355.
- Lau, S. H., Kaufmann, M. E., Livermore, D. M., Woodford, N., Willshaw, G. A., Cheasty, T., ... Upton, M. (2008). UK epidemic *Escherichia coli* strains A-E, with CTX-M-15 β -lactamase, all belong to the international O25:H4-ST131 clone. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(6), 1241-1244.
- Lupo, A., Saras, E., Madec, J. Y., & Haenni, M. (2018). Emergence of *bla*^{CTX-M-55} associated with *fosA*, *rmtB* and *mcr* gene variants in *Escherichia coli* from various animal species in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(4), 867-872.
- Machado, E., Coque, T. M., Cantón, R., Baquero, F., Sousa, J. C., & Peixe, L. (2006). Dissemination in Portugal of CTX-M15, OXA-1-, and TEM-1-producing Enterobacteriaceae strains containing the *aac(6#)-Ib-cr* gene, which encodes an aminoglycoside- and fluoroquinolone-modifying enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(9), 3220-3221.
- Mendonça, N., Leitão, J., Manageiro, V., Ferreira, E., & Caniça, M. (2007). Spread of extended-spectrum β -lactamase CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in community and nosocomial environments in Portugal. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6), 1946-1955.
- Moubareck, C., Daoud, Z., Hakimé, N. I., Hamzé, M., Mangeney, N., Matta, H., ... Doucet-Populaire, F. (2005). Countrywide spread of community and hospital acquired extended-spectrum β -lactamase CTX-M15 producing Enterobacteriaceae in Lebanon. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(7), 3309-3313.

- Mulvey, M. R., Bryce, E., Boyd, D., Ofner-agostini, M., Christianson, S., Simor, A. E., ... Program, I. S. (2004). Ambler Class A Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing. *Society*, 48(4), 1204–1214.
- Nüesch-Inderbinen, M. T., Kayser, F. H., & Hächler, H. (1997). Survey and molecular genetics of SHV beta-lactamases in Enterobacteriaceae in Switzerland: Two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(5), 943–949.
- Park, C. H., Robicsek, A., Jacoby, G. A., Sahm, D., & Hooper, D. C. (2006). Prevalence in the United States of aac(6#)-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(11), 3953–3955.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases#: a Clinical Update. *Society*, 18(4), 657–686.
- Paterson, D. L., Hujer, K. M., Hujer, A. M., Yeiser, B., Bonomo, M. D., Rice, L. B., & Bonomo, R. (2003). Extended-Spectrum Beta-Lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Isolates from Seven Countries: Dominance and Widespread Prevalence of SHV- and CTX-M-Type# β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(11), 3554–3560.
- Peirano, G., Costello, M., & Pitout, J. D. D. (2010). Molecular characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from the Chicago area: High prevalence of ST131 producing CTX-M15 in community hospitals. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(1), 19–23.
- Peirano, G., & Pitout, J. D. (2010). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 316–321.
- Pitout, J. D., Nordmann, P., Laupland, K. B., & Poirel, L. (2005). Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 5, 52–59.
- Rodríguez-Baño, J., Navarro, M. D., Romero, L., Martínez-Martínez, L., Muniain, M. A., Perea, E. J., ... Pascual, A. (2004). Epidemiology and Clinical Features of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Nonhospitalized Patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1089–1094.
- Rodríguez-Villalobos, H., Bogaerts, P., Berhin, C., Bauraing, C., Deplano, A., Montesinos, I., ... Glupczynski, Y. (2011). Trends in production of extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae of clinical interest: Results of a nationwide survey in Belgian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(1), 37–47.
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., & Rizvi, S. M. D. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), 90–101.
- Shi, H., Sun, F., Chen, J., Ou, Q., Feng, W., Yong, X., & Xia, P. (2015). Epidemiology of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing nosocomial *Escherichia coli* infection in China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1), 1–5.
- Tankhiwale, S. S., Jalgaonkar, S. V., Ahamad, S., & Hassani, U. (2004). Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian Journal of Medical Research*, 120(6), 553–556.
- Tumbarello, M., Spanu, T., Sanguinetti, M., Citton, R., Montuori, E., Leone, F., ... Cauda, R. (2006). Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum-Betalactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors, Molecular Epidemiology, and Clinical Outcome. *American Society for Microbiology*, 50(2), 498–504.
- Velásquez Porta, T. (2016). *Detección de los genes de carbapenemasas blaKPC y blaNDM en aislamientos de Klebsiella pneumoniae del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala*. (Tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Xiao, Y., & Hu, Y. (2012). e Major Aminoglycoside-Modifying Enzyme AAC(3)-II Found in *Escherichia coli* Determines a Significant Disparity in Its Resistance to Gentamicin and Amikacin in China. *Microbial Drug Resistance*, 18(1), 42–46.
- Zhanel, G. G., Hisanaga, T. L., Laing, N. M., DeCorby, M. R., Nichol, K. A., Palatnik, L. P., ... Hoban, D. J. (2006). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* outpatient urinary isolates: final results from the North American Urinary Tract Infection Collaborative Alliance (Nautica). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(6), 468–475.