

Perfil de resistencia de microorganismos identificados en una institución prestadora de servicios de salud en el Departamento de Boyacá, 2018

Resistance profile of circulating microorganisms in an institution of health services in Boyacá Department 2018

Perfil de resistência de microrganismos identificados em uma instituição prestadora de serviços de saúde no Departamento de Boyacá, 2018

Maritza Angarita-Merchán^{1*}, Giselle Di Filippo-Iriarte¹, Diana Patricia Mora-Moreno², Atilio Junior Ferrebuz Cardozo¹

¹ Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

² ESE Hospital San Rafael, Tunja, Colombia.

Correspondencia: Dirección: Carrera 2a Este N° 64-169 Tunja, Colombia.

Teléfono: 745-0000, extensión 4402.

Correo electrónico: mangarita@uniboyaca.edu.co

Fecha de recibido: 02-24-2019

Fecha de aceptación: 04-12 -2019

Citar este artículo así:

Maritza Angarita-Merchán M, Di Filippo-Iriarte G, Mora-Moreno DP, Ferrebuz Cardozo AJ. Perfil de resistencia de microorganismos identificados en una institución prestadora de servicios de salud en el Departamento de Boyacá, 2018. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2019;6 (1): 120-144. doi: <https://doi.org/10.24267/23897325.327>



RESUMEN

Introducción. La resistencia bacteriana ha tomado importancia en salud pública, requiriendo establecer las relaciones existentes entre las infecciones, el manejo terapéutico y la expresión de los mecanismos de resistencia en microorganismos aislados en muestras hospitalarias.

Objetivo. Reportar el perfil de resistencia de los microorganismos identificados en una institución prestadora de servicios de salud de tercer y cuarto nivel de atención en el Departamento de Boyacá durante un periodo de 6 meses en el año 2018.

Materiales y Métodos. Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal; los microorganismos fueron aislados de muestras clínicas de una institución prestadora de salud del departamento de Boyacá durante un periodo de 6 meses en el año 2018. Se realizó identificación, concentración mínima inhibitoria y pruebas confirmatorias de susceptibilidad según la Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S23.

Resultados. En los aislados evaluados predominaron los bacilos Gram negativos con un 86,4 % de estas 50% presentaron el fenotipo de resistencia Betalactamasas de espectro extendido, siendo *Escherichia coli* el microorganismo más frecuente. *Staphylococcus aureus* fue el único microorganismo Gram positivo aislado con 100% de cepas resistente a meticilina.

Conclusiones. El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Escherichia coli* y el mecanismo de resistencia más prevalente fue la producción de Betalactamasas de espectro extendido aisladas de muestras de orina.

Palabras clave: farmacorresistencia microbiana, fenotipo, beta-lactamasas, antibacterianos.

ABSTRACT

Introduction. Bacterial resistance has recently become important in public health, requiring to establish some existing relationships between infections, therapeutic management and the expression of resistance mechanisms in microorganisms isolated in clinical samples.

Objective. Report the resistance profile of circulating microorganisms isolated in a third and fourth level healthcare service provider institution in Boyacá Department.

Materials and methods. An observational, descriptive and cross-sectional study was carried out, strains were isolated from clinical samples from a health institution of department of Boyacá in a six-month period during 2018. Identification, minimum inhibitory concentration and confirmatory test were carried out according to Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S23.

Results. In all isolated strain, Gram negative bacilli were predominated (86.4%), these isolates had a 50 % of Extended-spectrum beta-lactamases resistance phenotype, where *Escherichia coli* was the most frequent isolated microorganism. *Staphylococcus aureus* was the unique Gram positive microorganism isolated with 100% of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* type strains.

Conclusions. *Escherichia coli* was the most prevalent microorganism and Extended-spectrum beta-lactamases was the most frequent resistance mechanism isolated from urinary infection samples.

Key words: drug resistance microbial, phenotype, beta-lactamases, anti-bacterial agents

RESUMO

Introdução. A resistência bacteriana tornou-se importante na saúde pública, exigindo o estabelecimento das relações existentes entre infecções, gestão terapêutica e a expressão de mecanismos de resistência em microrganismos isolados em amostras hospitalares.

Objetivo. Relatar o perfil de resistência dos microrganismos identificados em uma instituição de saúde de terceiro e quarto nível no Departamento de Boyacá por um período de 6 meses em 2018.

Materiais e métodos. Foi realizado um estudo observacional, descritivo e transversal; os microrganismos foram isolados de amostras clínicas de uma instituição prestadora de serviços de saúde no departamento de Boyacá por um período de 6 meses em 2018. A identificação, a concentração inibitória mínima e os testes de susceptibilidade confirmatória foram realizados de acordo com o Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais M100-S23b

Resultados. Nos isolados avaliados, predominou o bacilo Gram-negativo com 86,4%, destes 50% apresentaram o fenótipo de resistência a betalactamases de espectro estendido, sendo *Escherichia coli* o microrganismo mais frequente. *Staphylococcus aureus* foi o único microrganismo Gram positivo isolado com cepas 100% resistentes à metilina.

Conclusões. O organismo frequentemente isolado foi *Escherichia coli* e o mecanismo de resistência mais prevalente foi a produção de betalactamases de espectro estendido, isolada de amostras de urina.

Palavras-chave: resistência microbiana a medicamentos, fenótipo, beta-lactamases, antibacterianos

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es una amenaza creciente en la salud pública que ha tomado gran importancia para dirigir estudios que se enfoquen en el establecimiento de la relación existente entre las infecciones, el manejo terapéutico y la expresión de los mecanismos de resistencia; estos últimos pueden ser una característica propia del microorganismo o emerger como consecuencia de la selección durante la terapia antibiótica, además, inducen mutaciones a nivel genético o adquisición de genes por posible mecanismo de transferencia horizontal (1).

Dentro de los microorganismos reportados con mayor frecuencia como resistentes a los antibióticos, en el ámbito hospitalario se encuentran: cocos Gram positivos como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* y bacilos Gram negativos *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter sp*, *Enterobacter sp* y *Pseudomonas aeruginosa*; todos son muy importantes ya que el Centro de Control y Prevención de Enfermedades Infecciosas (CDC-Atlanta) ha descrito el grupo ESKAPE compuesto por *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella species*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp*, como el causante de las 2/3 partes de todas las sepsis asociadas a cuidados médicos (2).

Con el empleo de los betalactámicos y las cefalosporinas, en los años 40 y 60 respectivamente, se dio inicio a la aparición y desarrollo de diversos mecanismos de resistencia a estos antibióticos; algunos de estos se conocen hoy en día como las betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y, más recientemente, carbapenemasas y AmpC (3); la Enterobacteriaceae es la familia que ha revelado diferentes mecanismos de resistencia como las BLEE principalmente por el genotipo CTX-M. La producción de carbapenemasas en enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores como la *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter sp*, muestra multirresistencia a múltiples antibióticos, incluidos los de más amplio espectro como los carbapenémicos (2).

Por su parte, la resistencia a la metilicina en cocos Gram positivos como *Staphylococcus aureus* (SARM), ha marcado la nueva era de resistencia bacteriana, debido a la codificación genética por el gen *mecA*; este tipo de bacterias expresan resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas y carbapenemasas (4); igualmente, en este grupo de microorganismos se ha descrito la resistencia a los betalactámicos, mediada por el gen *bla_Z*, responsable de la codificación para la producción de penicilinasas (β -lactamasas) que hidrolizan el anillo β -lactámico de la penicilina (5,6).

En diciembre de 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) declararon una alerta epidemiológica en Latinoamérica, debido a la aparición de cepas de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente del tipo New Delhi metalobetalactamasa (NDM) en servicios de salud, dejando de manifiesto la necesidad de incrementar esfuerzos para implementar medidas de prevención y control de las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) (7). Actualmente, la farmacorresistencia microbiana ha llevado a proponer diferentes líneas de contención de los patógenos multirresistentes, siendo una de ellas la realización de estudios que permitan la identificación microbiológica fenotípica y molecular de los diferentes mecanismos de resistencias expresados por los microorganismos de interés, vigilancia y control en el ámbito hospitalario (8); por tanto, el objetivo de este estudio es presentar el perfil de resistencia de los microorganismos circulantes en una institución prestadora de servicios de salud de tercer y cuarto nivel de atención en el departamento de Boyacá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal; las cepas fueron aisladas de muestras clínicas provenientes del servicio de microbiología de una institución prestadora de salud (IPS) del departamento de Boyacá, durante un período de seis meses, en el año 2018.

Identificación microbiológica: Los microorganismos fueron identificados utilizando el Equipo Phoenix 100, mediante un sistema de paneles para la identificación y las pruebas de susceptibilidad por concentración mínima inhibitoria (CMI), en el laboratorio de microbiología de la IPS.

Confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en enterobacterias: la confirmación de BLEE en enterobacterias se realizó por la técnica de microdilución en caldo según metodología del Clinical and Laboratory Standards Institute del 2017 (CLSI) M100-S23, utilizando la cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo, y la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 como control negativo. Este procedimiento se realizó en el equipo Phoenix 100, mediante un sistema de paneles para la identificación y pruebas de susceptibilidad que incluyen las concentraciones de antibióticos requeridos para realizar el test de confirmación de BLEE. La Clinical and Laboratory Standards Institute del 2017 (CLSI) M100-S23 establece como criterio para realizar la confirmación de BLEE en las enterobacterias (*Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) una CIM de 1 ug/mL en cualquiera de los antibióticos betalactámicos Ceftazidime, Aztreonam, Cefotaxime o Ceftrizona, además, establece una CIM de 4ug/mL para el antibiótico Cefpodoxime.

Para realizar esta confirmación de BLEE en enterobacterias como *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*, deben probarse los antibióticos cefalosporinas de tercera generación Ceftazidime y Cefotaxime solos, en microdiluciones seriadas que van de 0.25 a 128 ug/mL y de 0.25 a 64 ug/mL, respectivamente, así mismo, en combinación con clavulanato como inhibidor de betalactamasas, en concentraciones que van de 0.25/4 a 128/4 ug/mL para Ceftazidime/clavulanato y de 0.25/4 a 64/4 ug/mL para Cefotaxime/clavulanato. La disminución de la CIM mayor o igual a 3 para cada antibiótico probado en combinación con el clavulanato VS la CIM del antibiótico solo, es confirmatorio de presencia de BLEE (9,10).

Para la confirmación de producción de carbapenemasas en enterobacterias, se utilizó el test de Hodge modificado y el mCIM (Test de inactivación de carbapenemasas modificado), utilizando la cepa *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 (control positivo) y la cepa *Klebsiella pneumoniae* BAA-1706 (control negativo). La Clinical and Laboratory Standards Institute del 2017 (CLSI) M100-S23 establece que estas pruebas de confirmación deben realizarse en aquellas enterobacterias que son resistentes a uno o más carbapenémicos en los cuales se sospecha la posible producción de carbapenemasas.

Para el Test de Hodge modificado se preparó una suspensión de la cepa *E. coli* ATCC 25922 escala

McFarland 0.5 en solución salina, se diluyó 1:10 y se inoculó por siembra masiva en agar Mueller Hinton para luego colocar un disco de Meropenem o Ertapenem de 10 ug en el centro del agar. Una vez realizado este procedimiento, se tomaron de 3 a 5 colonias de la cepa control positivo, control negativo y de la cepa en estudio, se inocularon en línea recta desde el borde del disco y posteriormente se llevó a incubación a 35 °C por 18 – 20 horas de incubación. La cepa control *E. coli* ATCC 25922 es sensible a estos carbapenémicos, por lo tanto, el test de Hodge positivo se interpreta como el crecimiento de la cepa en estudio en la intersección de la línea de su crecimiento con el halo de inhibición al carbapenémico de la cepa *E. coli* ATCC 25922 visualizándose como un hundimiento.

Para el test de mCIM se realizó incubando la cepa problema en caldo BHI con el disco de meropenem 10 ug durante 3 horas. Posteriormente, se realizó siembra masiva en agar Mueller Hinton con la cepa *E. coli* ATCC 25922 donde se depositaron los antibióticos sometidos a previa incubación. Como controles se utilizaron la cepa *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 (control positivo) y la cepa *Klebsiella pneumoniae* BAA-1706 (control negativo) (9,10).

Detección metalobetalactamasas en *Pseudomonas aeruginosa*: se realizó la prueba de sinergia usando discos de imipenem (10 ug), inhibidores EDTA-SMA y meropenem (10ug), ubicando los

discos a una distancia de 15 mm entre centro y centro, empleando la cepa ATCC 27853 de *Pseudomonas aeruginosa* como control negativo (11).

Detección de serincarbapenemasas en enterobacterias: se realizó la prueba de sinergismo utilizando el sustrato ácido fenilborónico y los antibióticos indicadores imipenem (10 ug) y ceftazidime (30 ug), ubicando los discos a una distancia de 15 mm entre centro y centro, empleando la cepa ATCC 1705 de *Klebsiella pneumoniae* como control positivo (9,10).

Detección de betalactamasas tipo AmpC: a confirmación fenotípica del mecanismo de resistencia AmpC se realizó mediante el test de aproximación de discos utilizando ácido fenil borónico y cefalosporinas de tercera generación como inductores de la producción de enzimas AmpC. La técnica consiste en realizar un antibiograma convencional, para luego colocar un disco de ceftoxitina o cualquier otro antimicrobiano inductor a una distancia de 27 mm centro-centro de un disco de cefamandol, ceftazidima, ceftriazona o cefotaxima (antimicrobiano sustrato, revelador o testigo). El microorganismo producirá una betalactamasa inducible si se observa un halo de inhibición truncado del antimicrobiano sustrato, testigo o revelador (12).

Detección de la resistencia a la meticilina (oxacilina) en *Staphylococcus aureus*: Se realizó por

la técnica de microdilución en caldo, según las recomendaciones del CLSI 2017, utilizando como marcador de la resistencia al antimicrobiano ceftoxitina (4ug/mL). Todas las cepas de *S. aureus* con resultados MIC mayor a 4 μ g/mL se consideraron positivos para el gen mecA (9,13).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó mediante promedios, distribución y frecuencias utilizando el programa IBM SPSS Versión 25, New York, Estados Unidos.

RESULTADOS

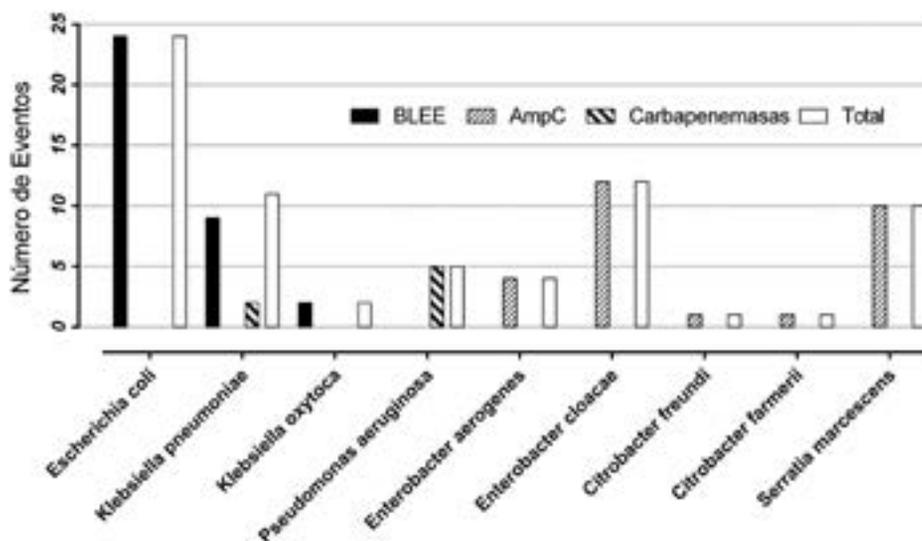
De los 81 aislamientos seleccionados para el estudio, el 86,4% (n=70) fueron bacilos Gram negativos y el 13,6% (n=11) correspondieron a cocos Gram positivos. Los fenotipos de resistencia de los bacilos Gram negativos identificados se distribuyeron de la siguiente manera: 50% (n=35) betalactamasas de espectro extendido (BLEES), el 40% (n=25) de las cepas BLEES tipo AmpC y 8 carbapenemasas que corresponden al 10% (Figura 1).

Caracterización de microorganismos según fenotipo de resistencia

Se identificaron 10 géneros bacterianos siendo el microorganismo más prevalente *Escherichia coli* con un 29,6%, seguido de *Klebsiella pneumoniae*

13,6%, *Klebsiella oxytoca* 2,5%, *Enterobacter aerogenes* 4,9%, *Enterobacter cloacae* 14,8%, *Citrobacter freundii* y *Citrobacter farmerii* 1,23% *Serratia marcescens* 12,3%, *Pseudomonas aeruginosa* 6,2%, y *Staphylococcus aureus* 13,6%.

Figura 1. Caracterización de microorganismos según fenotipo de resistencia. BLEE, betalactamasas de espectro extendido. Fuente: Autores



Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo BLEE

Las características de las cepas Gram negativas con fenotipo BLEE, según el sitio de infección de donde fueron aisladas y el servicio de procedencia de la Institución. De los 35 microorganismos que evidenciaron este fenotipo de resistencia, el microorganismo más prevalente fue *Escherichia coli* con 24 aislamientos en diferentes tipos de muestras,

siendo la orina el origen más frecuente (70,8%; 24/35) y el servicio de urgencias 45,8%, (n=11), el área de la institución con mayor frecuencia de aislamiento de este microorganismo. El 55,5% (n=5) de las cepas de *K. pneumoniae* se obtuvieron de infecciones urinarias, donde la UCI fue el servicio con mayor número de aislamientos de este microorganismo, 44,4% (n=4). *Klebsiella oxytoca* fue el microorganismo con menor frecuencia de fenotipo BLEE con tan solo 2 aislamientos (Tabla 1).

Tabla 1. Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo BLEE. TOT, Tubo oro traqueal. UCI, Unidad de Cuidados intensivos. Fuente: Autores

Microorganismo	Fuente anatómica	n (%)	Servicio de aislamiento	n (%)
<i>Escherichia coli</i>	TOT	2 (8,3)	UCI Adultos	3(12,5)
	Secreción	1(4,16)	Medicina interna	4(16.6)
	Hemocultivo	3(12,5)	Cirugía general	1(4,1)
	Orina	17 (70,8)	UCI neonatal	1(4,1)
	Espudo	1 (4,16)	Ginecología	1(4,1)
				Urgencias
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TOT	1(11,1)	UCI adultos	4 (44,4)
	Líquido peritoneal	1(11,1)	Medicina interna	1 (11,1)
	Hemocultivo	1(11,1)	Cirugía general	1 (11,1)
	Orina	5 (55,5)	Unidad recién nacidos	1(11,1)
	Absceso pancreático	1(11,1)	Urgencias	2 (22,2)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Secreción quirúrgica	1 (50)	Cirugía general	1 (50)
	Orina	1(50)	Urgencias	1 (50)

Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo Ampc.

El 35,7% (n=10) de los aislamientos de bacilos Gram negativos con fenotipo de resistencia AmpC provenían de orina y esputo. Así mismo, las cepas de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* con fenotipo de resistencia a carbapenémicos fueron aisladas de urocultivo, tubos oro traqueales, secreciones y esputo. En cuanto al área de procedencia de estos aislamientos se observó que los servicios de medicina interna, UCI adultos y urgencias fueron los de

mayor prevalencia para los microorganismos con fenotipo AmpC, mientras que los bacilos Gram negativos con fenotipo carbapenemasas se encontraron principalmente en medicina interna (Tablas 2 y 3).

Tabla 2. Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo AmpC. TOT, Tubo oro traqueal. UCI A, Unidad de Cuidados intensivos adultos, UCI P, Unidad de Cuidados intensivos pediátrica.

Microorganismo	Fuente anatómica	n (%)	Servicio de aislamiento	n (%)
<i>E.aerogenes</i>	Orina	2 (50)	UCI A	1 (25)
			UCI P	1 (25)
	TOT	1 (25)	Cirugía general	1 (25)
	Espuito	1 (25)	Medicina interna	1 (25)
<i>E. cloacae</i>	Orina	4 (33,3)	UCI A	1 (8,3)
			Cirugía general	2 (16,6)
	Espuito	4 (33,3)	Medicina interna	2 (16,6)
	Punta de catéter	1 (8,3)	Urgencias	5 (41,6)
	Secreciones piel y tejidos blandos	3 (25)	Consulta externa	1 (8,3)
			Neurocirugía	1 (8,3)
<i>C.freundi</i>	Orina	1 (100)	Medicina interna	1 (100)
<i>C.famari</i>	Líquido bronquial	1 (100)	UCI A	1 (100)
<i>S.marcescens</i>	TOT	2 (20)	Medicina interna	3 (30)
	Espuito	1 (10)		
	Sangre	1 (10)	Urgencias	5 (10)
	Orina	1 (10)	Ortopedia	2 (20)
	Punta de catéter	2 (20)		
	Secreciones	3 (30)		

Fuente: Autores

Tabla 3. Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo de resistencia carbapenemasas. TOT, Tubo oro traqueal. UCI P, Unidad de Cuidados intensivos pediátrica.

Microorganismo	Fuente anatómica	n (%)	Servicio de aislamiento	n (%)
<i>K. pneumoniae</i>	Orina	1 (50)	Medicina Interna	1 (50)
	Secreciones	1 (50)	Neurocirugía	1 (50)
<i>P. aeruginosa</i>	Orina	2 (40)	UCI P	1 (20)
	TOT	2 (40)	Neumología	1 (20)
	Espudo	1 (20)	Medicina interna	2 (40)
			Urgencias	1 (20)

Fuente: Autores

PERFIL DE RESISTENCIA

Distribución de los aislamientos por edades

El rango de edad donde se presentó el mayor número de fenotipos de resistencia fue en mayores de 50 años, donde se evidenció el fenotipo BLEE, Ampc y SAMR como los más frecuentes. Los rangos etarios estuvieron distribuidos como se muestra en la tabla 4.

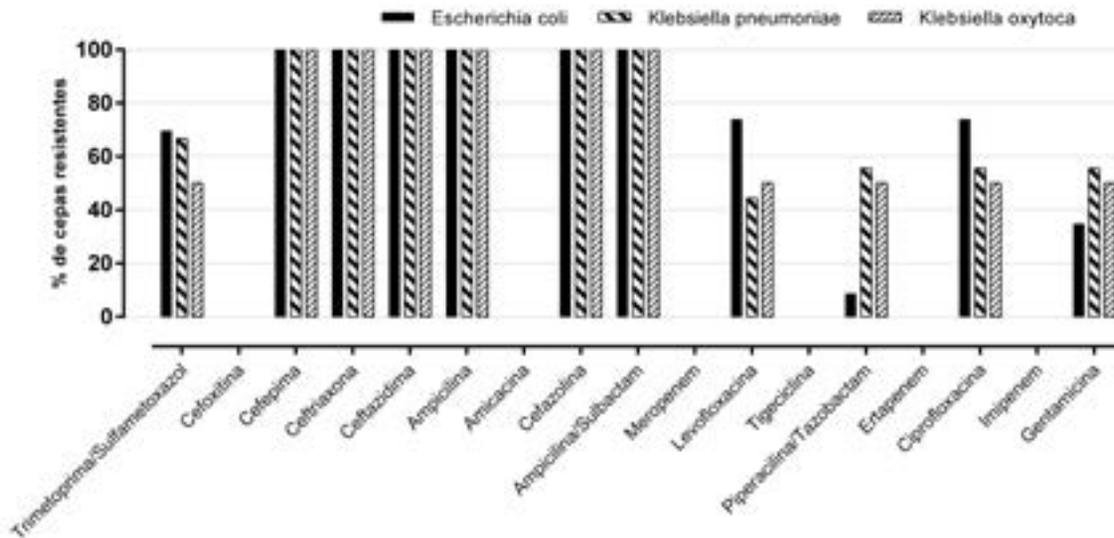
Tabla 4. Distribución de los aislamientos por edades. n, número de aislamientos.

EDAD	n	(%)
0 - 14 años	10	12,3
15 - 24 años	6	7,4
25 - 49 años	18	22,2
Mayor de 50 años	47	58

Perfil de resistencia con fenotipo Betalactamasas de espectro extendido

Los aislamientos con fenotipo de resistencia BLEE se confirmaron basándose en el principio de la respuesta diferencial entre el efecto inhibitorio de cefalosporinas seleccionadas de segunda o tercera generación en la presencia o ausencia de un inhibidor de las betalactamasas. Los datos mostraron que las cepas evaluadas para BLEE se caracterizaron por presentar resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y ampicilina sulbactam en un 100%, y adicionalmente se observó resistencia particular a otros antibióticos como piperacilina tazobactam entre un 8,7 y 50%, fluoroquinolonas entre un 50% y 74%, a gentamicina entre 35% y 50% y trimetropin sulfametoxazol entre un 50 y 69% (Figura 2).

Figura 2. Perfil de resistencia con fenotipo betalactamasas de espectro extendido. Fuente: autores.

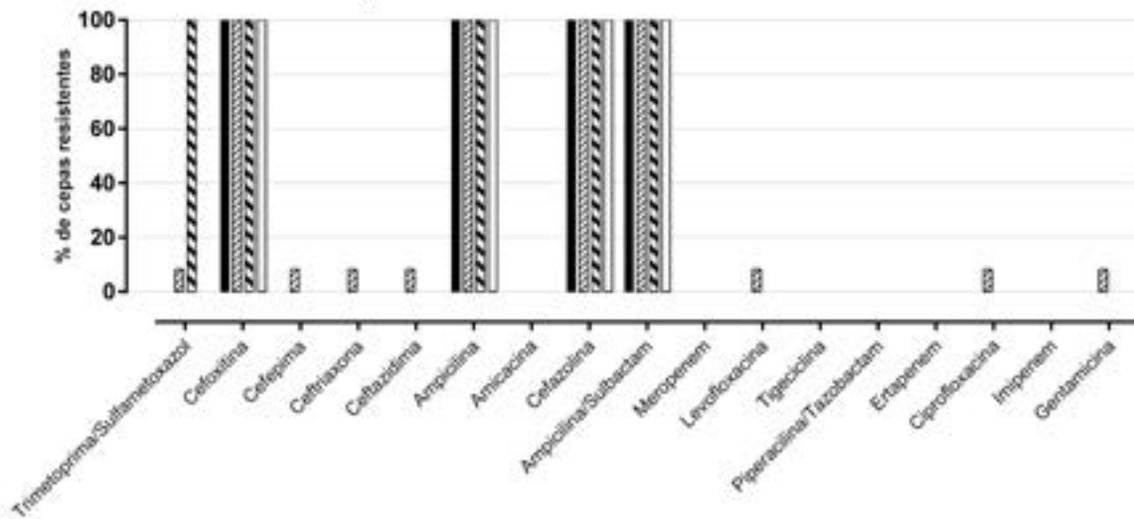


Perfil de resistencia de cepas con fenotipo AmpC

En relación con el perfil de los aislamientos con fenotipo AmpC se pudo evidenciar un alto porcentaje de resistencia a las cefalosporinas de primera generación (cefazolina) y cefamicinas (cefoxitina), pero con una menor capacidad de hidrolizar cefalosporinas de tercera (ceftriaxona y ceftazidima) y cuarta generación (cefepime). Así mismo, se evidenció resistencia a otros antibióticos betalactámicos como la ampicilina y a la combinación ampicilina/sulbactam, demostrando que la capacidad de este último inhibidor se

encuentra reducida frente a la acción de las betalactamasas tipo AmpC, a diferencia de las cepas productoras de BLEES (Figura 3).

Figura 3. Perfil de resistencia de cepas con fenotipo AmpC.

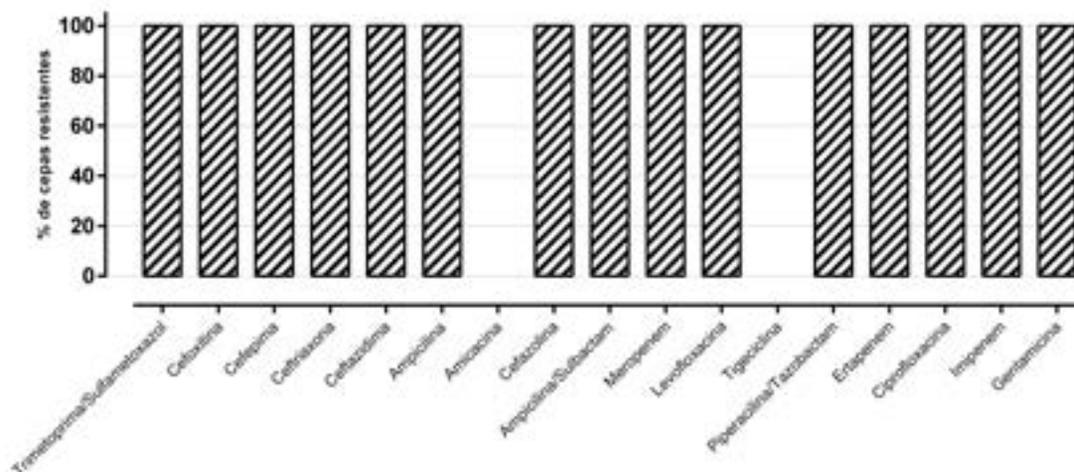


Fuente: autores.

Perfil de resistencia de cepas con fenotipo carbapenemasas de *K. pneumoniae*

El perfil de resistencia de *K. pneumoniae* con fenotipo de resistencia carbapenemasas evidencia que todas las cepas aisladas hidrolizan cefalosporinas de primera a cuarta generación, fluoroquinolonas, inhibidores de betalactamasas, carbapenémicos, y Trimetropin-sulfametoxazol, excepto tigeciclina y Amikacina, para los que no se aisló ninguna cepa resistente (Figura 4).

Figura 4. Perfil de resistencia de cepas con fenotipo carbapenemasas, de *K. pneumoniae*.

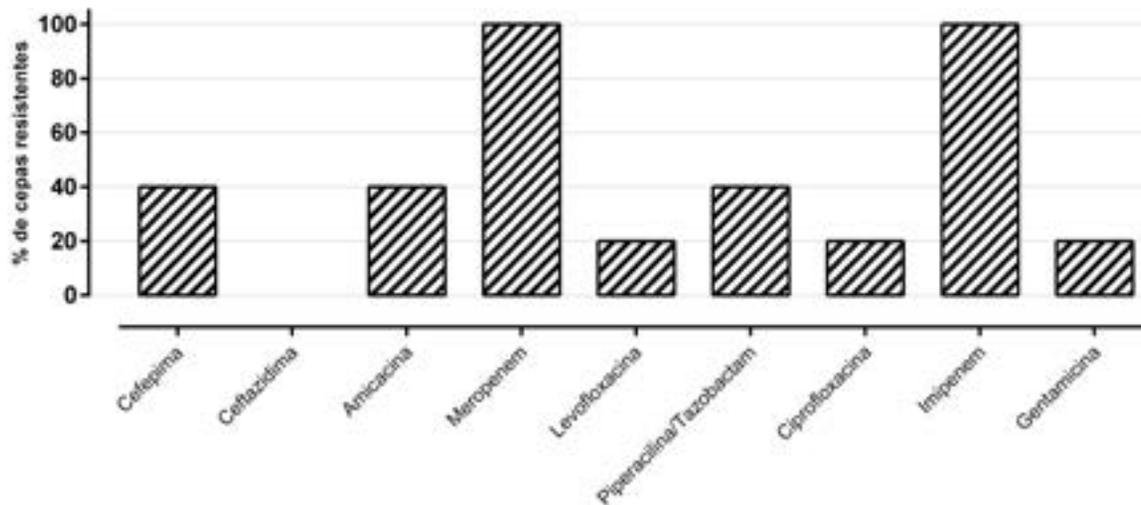


Fuente: autores.

Perfil de resistencia de cepas con fenotipo carbapenemasas, de *P. aeruginosa*

Los aislamientos de *P. aeruginosa* mostraron resistencia a carbapenémicos y buena susceptibilidad a inhibidores de betalactamasas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Figura 4). De los 5 aislamientos de *P. aeruginosa* se encontró que el 40% (n= 2) fue resistente a cefepime y amikacina, el 20% (n=1) fue resistente a cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos, el 40% resistente a piperacilina/tazobactam y el 100% (n=5) fue resistente a carbapenémicos como meropenem e imipenem (Figura 5).

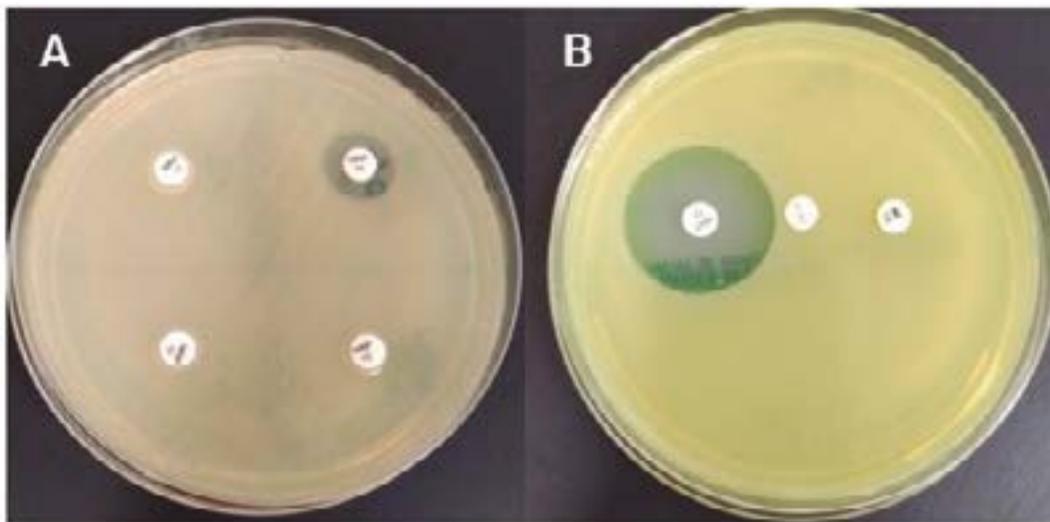
Figura 5. Perfil de resistencia de cepas con fenotipo carbapenemasas, de *P. aeruginosa*.



Fuente: autores.

El 100% de las cepas de *K. pneumoniae* fueron positivas para ambas pruebas. Para diferenciar el tipo de carbapenemasas se utilizó el test de sinergia con dos sustratos quelantes, encontrándose que todos los aislamientos resultaron positivos al ser probados con ácido borónico y negativos con EDTA, evidenciándose el fenotipo serincarbapenemasas. Todas las cepas de *P. aeruginosa* resultaron negativas para la prueba de sinergia con EDTA interpretándose como ausencia de metaloenzimas (Figura 6ab).

Figura 6. a) Test de inactivación de carbapenémicos en enterobacterias. b) Prueba de sinergia con EDTA en *P. aeruginosa*.



Fuente: autores.

Perfil de resistencia en cocos Gram positivos

En relación con los aislamientos de cocos Gram positivos, se identificó que el 13,6% (n=11) de las cepas seleccionadas corresponde a *Staphylococcus aureus* provenientes de muestras como hemocultivos, secreciones tejido, orina, líquido pleural, entre otras, aisladas en los diferentes servicios de UCI adultos, medicina interna, pediatría, UCI pediátrica y urgencias (Tabla 5). Así mismo, en la figura 6 se evidencia la resistencia del 100% de los aislamientos a la oxacilina (SAMR), fenotipo que fue confirmado mediante el test de cefoxitin por microdilución en caldo, considerando

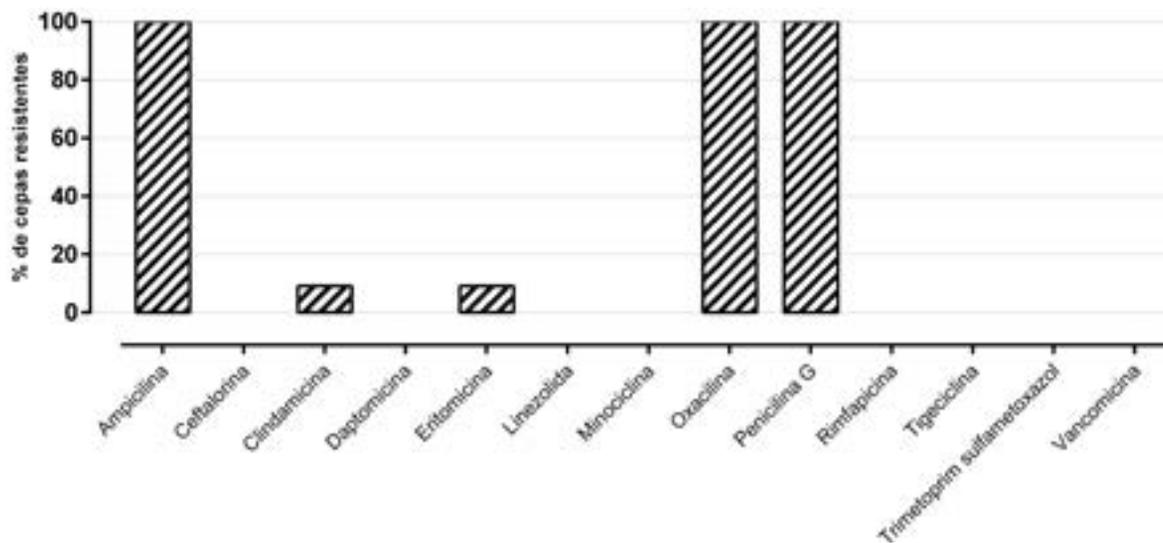
que todos los aislamientos tuvieron MIC >4ug/ml interpretándose como resistentes a la oxacilina mediada por el gen *mecA*. El 9,09% de las cepas de *S.aureus* presentaron resistencia a clindamicina y eritromicina, evidenciando fenotipo cMLSB (Figura 7).

Tabla 5. Origen de las muestras y servicio de aislamiento con cepas de fenotipo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. UCI, Unidad de Cuidados Intensivos.

Microorganismo	Fuente anatómica	n (%)	Servicio de aislamiento n (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hemocultivos	3 (27,2)	UCI adultos 2 (18,2)
	Tejido	1(9,09)	Medicina interna 2 (18,2)
	Secreciones	3(27,2)	Pediatría 1 (9,09)
	Drenaje pared abdominal	1(9,09)	UCI pediátrica 1 (9,09)
	Líquido pleural	1(9,09)	Urgencias 5 (45,4)
	Espuito	1(9,09)	
	Orina	1(9,09)	

Fuente: autores

Figura 7. Perfil de resistencia de cepas con fenotipo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.



Fuente: Autores

DISCUSIÓN

En el estudio realizado existe un alto predominio de los aislados Gram negativos (86,4%) sobre los microorganismos Gram positivos, lo cual se corresponde con otros estudios de aislados clínicos realizados, donde se reporta una predominancia de 78.9% de Gram negativos en muestras de orina provenientes de un centro asistencial en México (14), 81% en muestras de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de un centro asistencial en Cuba (15); en estudios realizados en Colombia los aislados Gram negativos representan un 80% en muestras de UCI adultos (16), lo cual deja ver la prevalencia de estos microorganismos independientemente del lugar del estudio.

Al realizar un análisis de los microorganismos aislados, se encontró que *Escherichia coli* fue el más prevalente (29,6%) en muestras de diferentes fuentes anatómicas y (17) servicio de aislamiento; similar a lo reportado en un estudio donde se evaluó la prevalencia de microorganismos y sus perfiles de resistencia, en 79 hospitales de Colombia entre 2007 y 2009, en los cuales se refirió que en la distribución de aislamientos bacterianos, excluyendo los provenientes de unidad de cuidados intensivos, *E. coli* se aisló con mayor frecuencia en los tres años de estudio (18). Otro estudio prospectivo realizado en hospitales de alta complejidad de Antioquia, Valle del Cauca y Bogotá, reportó que *E. coli* era el microorganismos más

frecuente en aislados, tanto en el servicio de UCI como en los otros servicios (17). En un estudio más reciente realizado en Villavicencio - Colombia por Gutiérrez (19), de 485 aislados evaluados un 22% resultó positivo para *E. coli*. Tomando en consideración lo anterior, se puede indicar que en el presente estudio, aunque la muestra evaluada fue menor, se puede observar que en diferentes departamentos de Colombia se mantiene la prevalencia de este microorganismo; sin embargo, en un estudio realizado en una UCI en Cuba, los Gram negativos prevalecientes fueron enterobacterias en general, entre las cuales incluyen a *E. coli* (15) sin aportar prevalencia particular para este microorganismo.

Un análisis fenotípico realizado para evaluar mecanismos de resistencia, arrojó que las 24 cepas de *E. coli* aisladas presentaban el mecanismo de resistencia BLEES, sin ningún otro tipo de resistencia; igualmente, los aislados de *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *C. freundii* y *C. farmerii* y *S. marcescens*, presentaron el mecanismo de resistencia Ampc en el 100% de los aislados, y en las cepas aisladas de *K. pneumoniae* se identificaron dos mecanismos de resistencia (BLEE y Ampc) (17). Similar a lo descrito por Martínez et al. (15), en nuestro estudio los mecanismos de resistencia BLEES y Ampc son los predominantes en los aislados clínicos. En un estudio realizado en un centro hospitalario de segundo nivel del departamento de Boyacá en el año 2015, con 458 aislados clínicos, Castro y

colaboradores (20) identificaron que el mecanismo BLEE estaba presente en todos los aislados Gram negativos evaluados, lo cual confirma que en Boyacá este es el mecanismo más frecuente en los aislados hospitalarios.

Las cepas de *K. pneumoniae* fueron aisladas de muestras provenientes de medicina interna y neurocirugía con 50% para cada servicio, en comparación con una investigación realizada en un hospital de tercer nivel de la Habana, Cuba, donde *K. pneumoniae* fue aislada en mayor frecuencia en muestras provenientes de la UCI adultos 41%, servicios quirúrgicos 32%, otros servicios 20% y hematología 6% (21); lo anterior evidencia que la frecuencia de aislamientos puede depender de diversos factores que condicionan su aparición. En este estudio se aislaron un total de 7 cepas productoras de carbapenemasas conformadas por 2 Cepas de *K. pneumoniae* y 5 cepas de *P. aeruginosa*; en cuanto a la fuente anatómica de aislamiento, el 43% fue de muestras de orina, 43% en muestras respiratorias y 14% de otras secreciones. Las cepas de *K. pneumoniae* mostraron resistencia a carbapenémicos en la totalidad de los aislados, identificándose enzimas del tipo serincarbapenemasas; todas las cepas de *P. aeruginosa* mostraron ser resistentes a Meropenem e imipenem. Al respecto, se puede citar un estudio realizado en el Hospital San Lorenzo de Paraguay, donde reportan un 80% de cepas con resistencia completa y 7% de resistencia intermedia a meropenem e imipenem

(22), lo cual confirma que este es el mecanismo más frecuente en estas cepas bacterianas. Analizando el perfil de resistencia es posible inferir que las cepas aisladas pueden presentar un mecanismo no enzimático que involucra la presencia de bombas de expulsión o cierre de porinas según se reporta Gómez y Col (23), lo cual será evaluado en un estudio posterior para establecer molecularmente el mecanismo involucrado.

Los aislados de cocos Gram positivos correspondieron a *Staphylococcus aureus*, provenientes en su mayoría de muestras de hemocultivos y otras secreciones con 27% de los aislados en cada una. En un trabajo publicado recientemente, donde se evalúan aislados clínicos provenientes en una institución de salud localizada en otro municipio del Departamento de Boyacá, Sánchez y Col (24) reportaron que la mayor proporción de aislados provenían de muestras varias con 72,5 de los casos seguido de muestras de hemocultivos con un 25%. Los datos anteriores permiten indicar que de las muestras biológicas analizadas, el hemocultivo presenta mayor prevalencia de este microorganismo por sus características, las cuales le permiten una gran supervivencia en la sangre humana (25).

Un estudio latinoamericano donde evaluaron muestras provenientes de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, establece que los hemocultivos representan la principal fuente de aislamiento con

27%, indicando que en Latinoamérica las cepas de *Staphylococcus aureus* se comportan en forma similar. El estudio realizado en Colombia por Villalobos Rodríguez reporta que después de los Gram negativos, *S. aureus* fue el Gram positivo más prevalente en las muestras, excluyendo el servicio de UCI entre 2007 y 2009 (18), y a nivel global es el más prevalente en aislados de UCI y no UCI (17).

Un estudio realizado en Corea del Sur muestra que en la institución de salud evaluada, *S. aureus* fue el microorganismo más frecuente en muestras de esputo, con 32% de los aislados, mientras que en hemocultivos se aisló en el 7.82%, ocupando el 4 lugar en este tipo de muestra (26); asimismo, un estudio en una institución de salud de la India reporta los hemocultivos como la segunda fuente de aislamiento con 15% (27).

Considerando el servicio de aislamiento de las cepas, estas se aislaron predominantemente de muestras del servicio de urgencia, al igual que en el trabajo de Sánchez y Col (24), indicando que en Boyacá las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden estar asociadas a transmisión en la comunidad.

Según el perfil de resistencia de las cepas aisladas, el 100% presenta resistencia a ampicilina, oxacilina y penicilina G, lo cual confirma el fenotipo meticilino resistente (SAMR), y el 20% tiene perfil de resistencia a clindamicina y eritromicina,

evidenciando un perfil de resistencia a macrólidos y lincosamidas (MLBs); ambos perfiles también fueron descritos por Sánchez y col (24), con 100% de cepas SAMR y menos porcentaje de cepas MLBs que este estudio. En un estudio realizado en la ciudad de Valledupar, Colombia, se reporta menor proporción de cepas con estos perfiles de resistencia, con 50% de SAMR y 16% del fenotipo MLBs descrito en este estudio (28). Durante la ejecución de esta investigación la mayor limitación se presenta en el número de aislados disponibles para evaluación limitando el impacto de los resultados en el ámbito clínico.

CONCLUSIONES

En este estudio el mecanismo de resistencia más prevalente fue la producción de BLEE, siendo la *E. coli* y la infección urinaria, el microorganismo y el sitio anatómico predominantes en este caso, respectivamente.

Referente a los cocos Gram positivos, se observó que todos fueron meticilino resistentes, obtenidos en su mayoría de hemocultivos y secreciones, aislados con mayor frecuencia en el servicio de urgencias. Así mismo, los mecanismos de resistencia bacteriana fueron más predominantes en las personas mayores de 50 años.

En este estudio se evaluaron un total de 81 muestras aisladas en 6 meses, si bien estos análisis per-

mitieron tener una aproximación a los perfiles de resistencia circulantes, se hace necesario ampliar los periodos de muestreo para obtener datos con mayor peso estadístico y que representen adecuadamente la población estudiada.

La identificación de los diferentes mecanismos de resistencia de los microorganismos que circulan a nivel hospitalario permite emitir conceptos epidemiológicos para realizar control y vigilancia con el fin de evitar la transmisibilidad entre diferentes clones, principalmente en aquellos susceptibles; así mismo, reconocer el perfil de resistencia a antibióticos de las cepas aisladas es un punto clave para modificar guías de tratamiento antimicrobiano y evitar el uso de antibióticos que induzcan otros mecanismos de resistencia.

CONFLICTOS DE INTERESES

Se manifiesta que el artículo de investigación no presenta conflictos de interés entre investigadores para su elaboración y publicación.

FINANCIACIÓN

La financiación de este proyecto contó con el aporte de la Universidad de Boyacá y un Hospital de Tunja, Boyacá.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Microbiología y Epidemiología Molecular de la Universidad de Boyacá.

REFERENCIAS

1. Reich F, Atanassova V, Klein G. Extended-spectrum β -lactamase- and ampc-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(8):1253–9. <https://dx.doi.org/10.3201%2F1908.120879>
2. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
3. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27(1):44–52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
4. Martins A, Cunha MDL. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: Epidemiological and molecular aspects. *Microbiol Immunol.* 2007;51(9):787–95. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2007.tb03968.x>
5. Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M, Mobasbery S. Penicillin-binding protein 2a of methi-

- cillin-resistant *Staphylococcus aureus*. IUBMB Life. 2014;66(8):572-7. <https://doi.org/10.1002/iub.1289>
6. Bagcigil AF, Taponen S, Koort J, Bengtsson B, Myllyniemi AL, Pyörälä S. Genetic basis of penicillin resistance of *S. aureus* isolated in bovine mastitis. Acta Vet Scand. 2012;54(1):69. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-69>
7. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Alerta epidemiológica: Transmisión de bacterias multirresistentes tipo NDM en servicios de atención de salud 19 de diciembre de 2012 [Internet]. 2012 [cited 2017 Sep 16]. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=2402&Itemid=270&lang=en.
8. Instituto Nacional de Salud. Caracterización fenotípica y genotípica de perfiles de resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos recuperados en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) septiembre 2012 - diciembre 2014 [Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 16]. Available from: http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/examenes-de-interés-en-salud-publica/Microbiologia/Caracterización_fenotípica_y_genotípica_de_perfiles_de_resistencia_antimicrobiana_asociadas_a_IAAS_2015.pdf
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. Approved standards-Second edition, CLSI documents M100, 27th ed 2017.
10. Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. In: Cercenado E, Cantón R, editors. Procedimientos en Microbiología Clínica [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2011. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientosmicrobiologia38.pdf>
11. Perozo M, Armindo J, Castellano González MJ, Ling Toledo E, Arraiz N. Detección fenotípica de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. Kasmera. 2012;40:113-21.
12. Martínez Rojas DDV. Betalactamasas tipo AmpC: Generalidades y métodos para detección fenotípica. Rev la Soc Venez Microbiol [Internet]. 2009;29:78-83. Available from: <https://doi.org/10.24267/issn.2389-7325>
13. Nodarse Hernández R. Detección de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina me-

- diente disco de cefoxitina. *Rev Cuba Med Mil.* 2009;38:3-4.
14. Velázquez-Acosta C, Cornejo-Juárez P, Volkow-Fernández P. Bacterial resistance from urine cultures at an oncological center: Follow-up to 10 years. *Salud Publica Mex.* 2016;58(4):446–52.
 15. Pacheco M, Oliva J, Ordóñez L, González M. Caracterización de la resistencia antimicrobiana en las unidades de cuidados intensivos. *Rev Univ Médica Pinareña.* 2016;12(1):14–24.
 16. Alexandra N, Donoso A. Resistencia Bacteriana en Unidad de Cuidados Intensivos Adultos de la Clínica Medilaser, Neiva-Colombia, entre enero y diciembre de 2008 Bacterial resistance in adult intensive care Unit in Medilaser. *Rev Fac Salud.* 2009;1(2):31–7. <https://doi.org/10.25054/rfs.v1i2.44>
 17. Villalobos AP, Barrero LI, Rivera SM, Ovalle MV, Valera D. [Surveillance of healthcare associated infections, bacterial resistance and antibiotic consumption in high-complexity hospitals in Colombia, 2011]. *Biomedica [Internet].* 2014;34 Suppl 1:67–80. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0120-41572014000500009>
 18. Villalobos Rodríguez AP, Díaz Ortega MH, Barrero Garzón LI, Rivera Vargas SM, Henríquez Iguarán DE, Villegas Botero MV, et al. Trends of bacterial resistance phenotypes in high-complexity public and private hospitals in Colombia. *Rev Panam Salud Publica.* 2011;30(6):627–33.
 19. Gutiérrez OA. Resistencia y susceptibilidad de microorganismos aislados en pacientes atendidos en una institución hospitalaria de tercer nivel, Villavicencio-Colombia, 2012. *Rev Cuid.* 2015;6(1):947–54. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.v6i1.148>
 20. Castro Gutiérrez LT, Torres Caycedo MI, Castañeda Orduz LMA, López DP, Quiroga CFP. Caracterización fenotípica de bacilos Gram negativos con betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Rev Investig en Salud Univ Boyacá.* 2015;2(2):116–30. <https://doi.org/10.24267/23897325.132>
 21. Suárez Trueba B, Bustamante Pérez Y, Hart Casares M, Romero García MM, González Maestrey A, Martínez Batista ML. Caracterización de aislamientos intrahospitalarios de *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario. *Rev Cubana Med.* 2015;54(4):323–36.
 22. Molin Q, Ophelie C, Queste MM. Detección Fenotípica de Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en Pacientes que acudieron al Hospital de Clínicas San Lorenzo de febrero a julio 2013. *Investig Cienc Salud Mem Inst Investig*

- Cienc Salud [Internet]. 2016;14(1):26–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2016.014>
23. Andrés Gómez Álvarez C, Lucía A, Castro L, De Jesús Pérez De González M, Lucía M, Jiménez N. MECANISMOS DE RESISTENCIA EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA: ENTENDIENDO A UN PELIGROSO ENEMIGO. Rev Fac Med Univ Nac Colomb. 2005;53(1).
24. Sánchez, Y., Urbano, E., González, F., Ferrebuz A. Caracterización fenotípica de cepas de Staphylococcus aureus productoras de β -lactamasas y resistente a la meticilina. Rev Investig En Salud Univ Boyacá. 2018;5(1):127–45. <https://doi.org/10.24267/23897325.302>
25. Malachowa N, DeLeo FR. Staphylococcus aureus survival in human blood. Virulence. 2011;2(6):567–9. <https://doi.org/10.4161/viru.2.6.17732>
26. Hong S-N, Kim J, Sung H-H. Differences in the Antibiotic Resistance Pattern of Staphylococcus aureus Isolated by Clinical Specimens in a University Hospital in South Korea. Korean J Clin Lab Sci. 2018;50(2):85–92. <https://doi.org/10.15324/kjcls.2018.50.2.85>
27. Trivedi M, Vegad M, Soni S. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in various clinical samples in a tertiary-care hospital. Int J Med Sci Public Heal. 2015;4(12):1735. <https://dx.doi.org/10.4103%2F0974-2727.72154>
28. Morales Parra GI GI, Yaneth-Giovanetti MC, Zuleta-Hernández A A. Fenotipos de resistencia a meticilina, macrólidos y lincosamidas en Staphylococcus aureus aislados de un hospital de Valledupar, Colombia. Ciencias la Salud. 2016 Jul;14(2):223–31. <http://dx.doi.org/10.12804/rev-salud14.02.2016.07>



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional