

# Escherichia coli uropatogénica resistente a múltiples antibióticos: un problema de salud pública

## Uropathogenic escherichia coli resistant to multiple antibiotics: a public health problem

Yamile A. Celis B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Facultad de Medicina. Doctorado Interfacultades en Salud Pública 8ª cohorte. Correo electrónico: yacelisb@unal.edu.co

### Planteamiento del problema

La infección del tracto urinario (ITU) se ha clasificado como una de las principales causas de consulta médica a nivel comunitario y hospitalario. *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuente responsable del 75-85% de este tipo de enfermedades; estas bacterias presentan resistencia a diferentes tipos de antibióticos, especialmente a los de uso clínico, entre ellos a cefalosporinas de tercera generación, aminoglicósidos, sulfas y quinolonas, mostrando un fenotipo de multirresistencia; además posee varios genes de virulencia y patogenicidad, los cuales junto con una serie de características necesarias en el hospedero facilitan el desarrollo de esta patología [1,2].

Diferentes estudios realizados en *E. coli* uropatogénica han identificado varios genes de resistencia que producen enzimas capaces de inactivar diversos tipos de antibióticos. Las enzimas más frecuentes en estos aislamientos son  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, las cuales hidrolizan penicilinas y algunas cefalosporinas de tercera generación. Entre estas enzimas las CTX-M son las más frecuentes y se han identificado en diferentes tipos de Enterobacterias como: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium* y con mayor frecuencia en aislamientos de *E. coli* causantes de infecciones del tracto urinario. Este fenómeno se ha conocido como la pandemia de CTX-M, convirtiendo estas enzimas en el tipo más común de BLEE'S encontradas en la mayoría de áreas del mundo [3]. Las BLEE'S CTX-M son codificadas por genes que han sido capturados por elementos móviles y están localizados en plásmidos conjugativos, que se consideran de importancia clínica por su capacidad de transferencia de una bacteria a otra y almacenamiento de genes de resistencia a diferentes clases de antibióticos (aminoglicósidos y clotrimazoles entre otros). *E. coli* uropatogénica productora de CTX-M-15 se ha identificado como un patógeno importante causante

de infecciones adquiridas en la comunidad e infecciones asociadas al cuidado de la salud. Este microorganismo ha sido reportado en Europa, Asia, Norte América, Sur América y Australia. La amplia diseminación de este fenotipo de multirresistencia se ha asociado con la dispersión de cepas genéticamente idénticas (clones) y la transferencia de elementos genéticos como plásmidos, los cuales movilizan diferentes genes de resistencia. Por esta razón *E. coli* uropatogénica multirresistente se ha identificando como un patógeno de importancia en salud pública, por su alta tasa de resistencia, mayor virulencia y su amplia diseminación.

En Colombia, estudios realizados por el CIDEIM en Cali, identificaron genes de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y sulfas, los antibióticos de elección para el manejo de este tipo de infecciones, en aislamientos de *E. coli* causantes de ITU's de inicio en la comunidad, así como la circulación de la cepa ST131 que se ha reportado como la responsable de la amplia diseminación de este perfil de multirresistencia y patogenicidad.

A pesar de la información disponible sobre los principales genes y mecanismos de resistencia expresados por estas bacterias, no se ha estudiado la presencia de determinantes genéticos de resistencia en ambientes diferentes al hospitalario, teniendo en cuenta la importancia de la transferencia de información genética vertical (teoría darwiniana) y horizontal (teoría lamarckiana) en la expresión de multirresistencia en aislamientos de *E. coli* causantes de infecciones del tracto urinario, ni el papel de las actividades antropogénicas como fuente de multirresistencia.

### Hipótesis

La multirresistencia a antibióticos en aislamientos de *E. coli* causantes de ITU's provenientes de la comunidad, de origen hospitalario y ambiental es generada

por la presión ambiental ejercida por diferentes fuentes antropogénicas (agricultura, tratamiento de aguas residuales, medio ambiente, hospitales) que permite la expresión y movilización de determinantes genéticos de resistencia entre microorganismos de la misma y diferente especie.

## Preguntas de investigación

¿Microorganismos aislados de diferentes ecosistemas (comunitario, hospitalario y ambiental) presentan los mismos determinantes genéticos de resistencia a antibiótica?

¿Es posible identificar determinantes de resistencia en ecosistemas con baja presión antibiótica como el comunitario y ambiental?

## Estado del arte

La resistencia a antibióticos se define como la capacidad que han adquirido algunos microorganismos de soportar exposiciones a concentraciones clínicamente relevantes de antibióticos, los cuales destruyen microorganismos sensibles de la misma especie. El desarrollo de esta característica es inevitable ya que representa un aspecto particular de la evolución bacteriana, puede resultar de mutaciones en genes reguladores o estructurales o por la adquisición horizontal de información genética foránea. El acelerado crecimiento y la expansión global de resistencia a antimicrobianos, es una demostración de evolución bacteriana, en respuesta a la presión selectiva ejercida en diferentes ambientes, por el uso, mal uso y uso excesivo de antimicrobianos [4-6].

La resistencia empieza a ser un problema clínico cuando las variantes de resistencia amenazan la efectividad de la terapia antibiótica utilizada. El nivel de exposición del patógeno al antibiótico influye en la selección de microorganismos resistentes. Este depende de la farmacocinética y la farmacodinamia del antibiótico, parámetros que afectan la eliminación del patógeno o la selección de variantes resistentes. La diseminación de bacterias resistentes depende de las medidas de higiene y control de la transmisión de estos microorganismos a nivel hospitalario, con la cantidad y distribución de antibióticos que son liberados al medio ambiente donde pueden seleccionar determinantes de resistencia y diseminarlos a otros microorganismos por transferencia genética horizontal. La amenaza causada por antibióticos que son liberados al medio ambiente, lleva a la existencia de un gran reservorio de genes de resistencia en la microbiota normal humana que pueden potencialmente servir como donantes para la transferencia de resistencia a patógenos humanos.

Las bacterias tienen diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos, entre ellos están: modificación

enzimática, expulsión mediante bombas de eflujo, cambios en la permeabilidad de las proteínas de membrana y la modificación del sitio de acción del antibiótico [7]. La expresión de estos mecanismos de resistencia genera un gasto energético adicional a la bacteria, el cual depende del tipo de resistencia expresada; este gasto puede disminuir la capacidad del microorganismo para sobrevivir y reproducirse. La magnitud del gasto energético es el principal parámetro biológico que influye en la tasa de desarrollo de resistencia, en su estabilidad y reversibilidad. Se han planteado una serie de hipótesis alrededor de esta teoría, algunos estudios reportan que la reducción en el uso de un antibiótico determinado puede llevar a la pérdida de los genes de resistencia hacia dicho antibiótico, esto se ha demostrado en genes de resistencia localizados a nivel cromosomal, los cuales generan un mayor gasto energético; sin embargo, genes de resistencia localizados a nivel plasmídico, adquiridos por transferencia horizontal, generan un menor gasto energético en la bacteria, favoreciendo su permanencia y expresión por largo tiempo [1, 8].

La presión selectiva que favorece la expresión y estabilidad de genes de resistencia a antibióticos es diferente según el entorno en el cual esté presente el microorganismo. Davies presenta un modelo de tres ecosistemas interconectados: 1) el medioambiente natural, donde los microorganismos se enfrentan a bajas concentraciones de antimicrobianos producidos por otros microorganismos, llevando a una baja expresión de resistencia; 2) el medioambiente no clínico, donde la presencia de antimicrobianos hechos por el hombre aumenta la presión selectiva; y el ambiente clínico, donde la concentración relativa de antibióticos es alta y hay mayor resistencia [9, 10]. Algunos autores han refutado esta descripción de ecosistemas, resaltando la necesidad de evaluar el ambiente natural, donde se cree que la presión antibiótica es alta, por el uso de antimicrobianos en la agricultura, sistemas de alimentación animal, desinfección de superficies y alcantarillado [11].

Hay diferentes enfoques teóricos para explicar la variación, la evolución y la expresión de resistencia a antibióticos. Se han identificado dos teorías a partir de las cuales a lo largo de la historia se ha explicado la evolución de especies; estas teorías buscan determinar cómo los organismos adquieren nuevas características, las cuales les permitirán sobrevivir y mantenerse en un ambiente determinado.

Una de ellas, la teoría de adaptación de Lamarck, se basa en la premisa de la evolución dada por cambios fenotípicos y genotípicos benéficos a lo largo del tiempo, generados por variaciones en el medioambiente, que le permiten al organismo adaptarse al medio modificado, los cuales no eran adquiridos al azar y se transmitían de una generación a otra. Por otro lado, está la teoría de selección natural de Darwin, quien le da una mayor importancia a los cambios al azar (mutaciones) que le

proporcionan característica de ventaja a ciertos organismos, permitiendo que sobreviva quien presenta cierta característica, dándole peso a la selección natural donde perdura el más apto [12, 13]. Alrededor de estas dos grandes teorías se han creado diferentes propuestas para explicar con mayor detalle el proceso de evolución. Bacteriólogos de la época que apoyaban la teoría propuesta por Lamarck, explicaron su punto de vista mediante una serie de experimentos bioquímicos que mostraban la capacidad de las bacterias para sobrevivir en un ambiente determinado. Por otro lado, genetistas bacterianos quienes apoyaban la teoría darwiniana, “neodarwinianos”, identificaron genes de resistencia en pequeños segmentos de DNA extracromosomal denominados plásmidos, los cuales pueden ser transferidos horizontalmente entre bacterias de la misma o diferente especie.

La teoría de la evolución darwinista describe la vida como un árbol, en el cual todos los organismos vivos tienen un mismo ancestro y donde cada nodo representa un ancestro común. En el siglo XXI la revolución genómica trajo cambios en la forma de pensar sobre la evolución, demostrando que ésta proviene de múltiples orígenes, con herencia de información genética tanto vertical como horizontal. La evolución representada como un árbol en el cual todo proviene de un ancestro en común muestra una representación incorrecta de la estabilidad y herencia de evolución; el análisis de diferentes genomas y la comparación de estos ha identificado la relación genética entre los diferentes organismos, eucariotas, procariontes, arqueas y virus. Por esta razón, se ha propuesto un nuevo concepto de evolución que integra la teoría de la multiplicidad y de la nueva creación. Raoult plantea que la evolución de las especies se asemeja a un rizoma o micelio, en el cual la evolución se da por el reensamblaje de un grupo de raíces (genes) que muestran la multiplicidad y la relación inter e intra especies. Emergiendo especies que crecen en el rizoma con un repertorio de genes que provienen de varios orígenes que permitirán bajo condiciones ambientales favorables la multiplicación y conservación de las especies, donde nuevas especies y nuevos genes están continuamente apareciendo, el éxito de las especies y su evolución depende principalmente del *fitness* de los organismos dentro de un medioambiente y un tiempo específicos [14, 15].

Por esta razón, este proyecto analizará desde la teoría de la complejidad (teniendo en cuenta tanto la teoría darwiniana como la lamarckiana) las causas de resistencia a antibióticos en *E. coli* uropatógena, evaluando la importancia de la transferencia de información genética vertical (teoría darwiniana) y horizontal (teoría lamarckiana) en la expresión de multiresistencia en aislamientos de *E. coli* causantes de infecciones del tracto urinario y la presencia de estos genes en tres ambientes con diferentes niveles de presión selectiva, en un modelo de tres ecosistemas interconectados: 1) el ambiente no clí-

nico identificado a nivel comunitario, donde actividades diarias (actividades antropogénicas) generan microambientes contaminados con presión antibiótica constante, seleccionando bacterias resistentes; 2) el medio ambiente clínico identificado a nivel hospitalario, donde se cree hay una mayor presión antibiótica y por tanto un mayor nivel de resistencia; y 3) el medio ambiente natural donde se pretende demostrar la presencia de estos determinantes de resistencia mostrando la amplia diseminación y contaminación del medioambiente con estos determinantes. A partir de este análisis se pretende explicar la extensa diseminación de estos determinantes de resistencia, la importancia del manejo y restricción del uso indiscriminado de antibióticos y la presencia de estos determinantes en ambientes que se cree no generan una alta presión y selección antibiótica; además, identificar cuáles son las medidas necesarias para disminuir este gran problema de salud pública.

## Objetivo general

Caracterización epidemiológica y molecular de *E. coli* resistente a antibióticos de origen hospitalario, comunitario y ambiental.

## Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de bacterias gram negativas causantes de ITU's de inicio en la comunidad y asociadas a enfermedades del cuidado de la salud en un hospital de tercer nivel de Bogotá durante un periodo de 6 meses.
- Determinar la prevalencia de bacterias gram negativas en plantas de tratamiento de agua residuales en Bogotá.
- Caracterizar fenotípica y molecularmente los microorganismos aislados de muestras clínicas de origen comunitario y hospitalario (causantes de ITU's y microbiota normal), e identificados en plantas de tratamiento de agua residual.
- Establecer la relación genética y principales determinantes de resistencia a antibióticos en los microorganismos de *E. coli* recolectados de los diferentes ambientes analizados.
- Determinar la tendencia del uso de antibióticos para el tratamiento de infecciones del tracto urinario en el hospital en estudio.
- Establecer una posible asociación de la resistencia a antibióticos identificada con los datos clínicos proporcionados por los pacientes (antecedentes epidemiológicos, farmacológicos, clínicos) y los datos moleculares identificados.

## Metodología

Estudio descriptivo-prospectivo de corte transversal, el cual se desarrollará en un periodo de seis meses en un

hospital de tercer nivel y en tres plantas de tratamiento de aguas residuales de Bogotá.

### Población de estudio

A nivel comunitario: la población de estudio estará constituida por pacientes de ambos géneros y cualquier grupo de edad que consulte el servicio de urgencias y consulta externa de la institución en estudio, quienes a su ingreso se haga una presunción diagnóstica de ITU.

A nivel hospitalario: la población de estudio estará constituida por pacientes de ambos géneros y cualquier grupo de edad que estén hospitalizados, quienes a su ingreso se haga una presunción diagnóstica de ITU asociadas a catéter.

A nivel ambiental: la población de estudio estará constituida por 3 plantas de tratamiento de agua residual situadas en Bogotá.

### Aproximación

A partir de un análisis descriptivo se determinará la frecuencia de microorganismos causantes de ITU's a nivel comunitario y hospitalario, además se establecerá la frecuencia de microorganismos parte de la microbiota normal de los pacientes en estudio con resistencia a antibióticos de importancia clínica. Asimismo, se determinará la frecuencia de bacterias gram negativas aisladas de muestras de agua obtenidas de tres plantas de tratamiento de aguas residuales situadas en Bogotá.

Las bacterias gram negativas identificadas en las diferentes poblaciones en estudio, serán caracterizadas fenotípicamente, determinando el perfil de susceptibilidad a antibióticos según los parámetros establecidos por el CLSI en el 2012.

Se identificarán los principales genes de resistencia a antibióticos presentes en los microorganismos en estudio, según el perfil de resistencia expresado, mediante una técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple (PCR). Se caracterizarán mediante técnicas de biología molecular aislamientos de *E. coli* recolectados, determinando el tipo de cepa circulante mediante la técnica de MLST y la relación genotípica entre los microorganismos identificados en los ecosistemas analizados; esta información se comparará con lo reportado en la literatura para determinar la relación de estos hallazgos con los identificados en diferentes ambientes, donde se cree hay una fuerte presión antibiótica ejercida por las antes mencionadas actividades antropogénicas. Mediante un análisis multinivel se determinará la asociación de los hallazgos antes mencionados con datos relevantes del paciente como: antecedentes epidemiológicos, farmacológicos y clínicos para determinar si estos factores están relacionados con la multiresistencia expresada por los aislamientos en estudio.

## Resultados esperados

Determinar cuál es el microorganismo más frecuente causante de infecciones del tracto urinario de origen comunitario y hospitalario; establecer la presencia de microorganismos en las plantas de tratamiento de agua e identificar el perfil de susceptibilidad expresado por estos microorganismos; además, determinar si existe alguna relación entre los microorganismos identificados en los diferentes ambientes estudiados. Por último, establecer la frecuencia de determinantes genéticos en ambientes diferentes al hospitalario, mostrando la presencia de estos en sitios con baja presión antibiótica.

## Referencias

- 1 Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology* 2010; 8(4):260-271.
- 2 Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon* 2003; 49 (2): 53-70.
- 3 Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int J Antimicrob Agents*. 2010; 35 (4): 316-321.
- 4 Eileen R. Choffnes DAR, and Alison Mack, Rapporteurs. Antibiotic Resistance: Implications for Global Health and Novel Intervention Strategies. Washington DC: National Academies Press; 2010.
- 5 Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000; 288 (5464): 287-293.
- 6 Courvalin P. Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. *J Intern Med* 2008; 264 (1): 4-16.
- 7 Tafur J, Villegas M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias gram negativas. *Asociación Colombiana de Infectología* 2008; 12(3): 217-226.
- 8 Marciano DC, Karkouti OY, Palzkill T. A fitness cost associated with the antibiotic resistance enzyme SME-1 beta-lactamase. *Genetics* 2007; 176 (4): 2381-2392.
- 9 Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74 (3): 417-433.
- 10 Davies J, Spiegelman GB, Yim G. The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9 (5): 445-453.
- 11 Kohanski MA, DePristo MA, Collins JJ. Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis. *Molecular cell* 2010; 37 (3): 311-320.
- 12 Creager AN. Adaptation or selection? Old issues and new stakes in the postwar debates over bacterial drug resistance. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 2007; 38 (1): 159-190.
- 13 Koonin EV, Wolf YI. Is evolution Darwinian or/and Lamarckian? *Biol Direct* 2009; 4: 42.
- 14 Doolittle WF, Baptiste E. Pattern pluralism and the Tree of Life hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104 (7): 2043-2049.
- 15 Raoult D. The post-Darwinist rhizome of life. *Lancet* 2010; 375 (9709): 104-105.