



CIENCIAS BIOMÉDICAS

Artículo original de investigación

Escherichia coli extraintestinal, un desafío actual: aportes para suprevención y control en Cuba

Dianelys Quiñones Pérez^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-4506-6890>
Yenisel Carmona Cartaya¹ <https://orcid.org/0000-0003-1241-5302>
Mercedes Hidalgo Benito² <https://orcid.org/0000-0002-1907-1947>
Yulaisky Betancourt González³ <https://orcid.org/0000-0002-4641-1804>
María Karla González Molina¹ <https://orcid.org/0000-0001-8424-689X>
Niurka Pereda Novales¹ <https://orcid.org/0000-0002-4408-7721>

¹Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba

²Hospital General Héroes de Baire. Isla de la Juventud, Cuba

³Hospital General Docente Leopoldito Martínez. Mayabeque, Cuba

*Autor para la correspondencia: dia@ikp.sld.cu

RESUMEN

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba. La
Habana, Cuba

Traductor

Yoan Karel Acosta González
Academia de Ciencias de Cuba. La
Habana, Cuba

Introducción: *Escherichia coli* extraintestinal (ECEI) multidrogorresistente constituye un desafío en salud por la mortalidad asociada. Para conocer su comportamiento clínico, microbiológico y epidemiológico en Cuba se da inicio en el IPK a su vigilancia nacional. **Métodos:** Se realizó la caracterización microbiológica de 1001 aislados de ECEI recibidos entre enero 2014 a diciembre de 2019 procedentes de 15 provincias del país y el Municipio Especial Isla de La Juventud. De forma aleatoria se seleccionaron 306 aislados para su caracterización molecular mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa y la técnica de secuencia multilocus para la detección de linajes clonales circulantes en Cuba. **Resultados:** Se evidencia el impacto clínico de ECEI recuperándose con mayor frecuencia de herida quirúrgica (27,2 %), sangre (25,7 %) y secreción respiratoria (11,1 %). Se constatan tasas elevadas de resistencia a la mayoría de los antibióticos con un 47,6 % multidrogorresistencia y 6 aislados extremadrogorresistentes. Los genes de betalactamasas predominantes fueron: *bla*_{CTX-M} (61 %) y *bla*_{TEM} (31,7 %). Por primera vez, se notifica la resistencia emergente plasmídica a fluoroquinolonas mediada por los genes *qnrB*, *qnrD*, *qnrS* y *oqxAB* y de la carbapenemasa NDM-1 en ECEI. No se detectó el gen *mcr-1* en los aislados resistentes a colistina. Se reporta la circulación en Cuba del clon pandémico ST131, del clon emergente ST1193 y de 3 secuencias tipo nuevas a nivel mundial (ST5716, ST5717 y ST5718). Conclusiones, Se inicia la vigilancia nacional de ECEI causantes de infecciones en Cuba que aborda de manera integral su caracterización y lo muestra como un desafiante patógeno en salud pública, lo que permitió el fortalecimiento del programa nacional para su prevención y control.

Palabras clave: *Escherichia coli* extraintestinal (ECEI); betalactamasas de espectro extendido (BLEE); carbapenemasas; NDM-1; Cuba



Extraintestinal *Escherichia coli*, a current challenge: contributions for its prevention and control in Cuba

ABSTRACT

Introduction. Multi-drug-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) poses a health challenge given the mortality rate linked to it. National monitoring of it begins at IPK, aiming to learn its clinical, microbiological, and epidemiological behavior in Cuba. **Methods.** A conventional microbiological characterization was carried out on 1001 isolated patients of ExPEC. They were hospitalized from January, 2014 to December, 2019, as a result of national monitoring. They came from 40 hospitals of the 15 provinces of the country and the Special Municipality Isle of Youth. Randomly, 306 isolated patients were selected for molecular characterization by means of polymerase chain reaction tests and the technique of multilocus sequence for detecting cloning lineages of ExPEC circulating in Cuba. **Results and Discussion.** The isolated patients of ExPEC recovered at a higher frequency in samples of surgical wound (14.5%), blood (13.7%) and urine (13.4%). In them, resistance to Ciprofloxacin prevailed (50.5%), to Trimetoprim/sulfametoxazol (49.4%), and to cephalosporin (40%). The predominant genes of betalactamases were bla CTX-M (61%) and bla TEM (31.7%), CMY-2 and NDM-1. Plasmid resistance to fluoroquinolones was evidenced in this species, mediated by the genes qnrB, qnrD, qnrS y oqxAB. Gene mcr-1 was not detected in the isolated patients resistant to colistin. The study of multilocus sequence permitted the detection of the pandemic clone ST131, as well as three new sequence types worldwide (ST5716, ST5717 y ST5718) and the emerging clone ST1193. It was concluded that the characterization of Cuban isolated patients of ExPEC represented an important contribution to the knowledge of its epidemiology in both the country and the region.

Keywords: extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC); extended-spectrum beta-lactamase (ESBL); carbapenemase; NDM-1; Cuba

INTRODUCCIÓN

El incremento de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) y el escaso desarrollo de antibióticos nuevos despertan gran preocupación en la comunidad médica internacional por la alta mortalidad asociada y los costos elevados en términos de salud. *Escherichia coli* extraintestinal (ECEI) por su capacidad para adquirir y propagar mecanismos implicados en la RAM es uno de los paradigmas a nivel mundial.^(1,2)

Escherichia coli extraintestinal se reconoce como la primera causa de infección del tracto urinario (ITU) tanto en las de origen comunitario como en las adquiridas en el hospital (patotipo *E. coli* uropatógena). Además se destaca como uno de los principales patógenos oportunistas responsables de septicemias, meningitis neonatal e infección del sitio quirúrgico.⁽³⁾

Se describen 4 grupos filogenéticos principales (A, B1, B2, D) en los que se agrupa ECEI, el más frecuente es el B2 que está relacionado con una mayor virulencia. Además, en su linaje clonal la secuencia tipo ST 131 es responsable de la mayoría de las infecciones en el humano que se considera un clon pandémico de multidrogorresistencia (MDR).⁽⁴⁾

En *E. coli* la producción de betalactamasas es el mecanismo más común de resistencia a esta familia de antimicro-

bianos. Las mismas se clasifican en 4 grupos fundamentales: penicilinasas, cefalosporinasas, betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas.⁽⁵⁾ Por su espectro de actividad, las 2 últimas son las de mayor importancia clínica.

Las BLEE inactivan a casi la totalidad de los betalactámicos excepto los carbapenémicos y las cefamicinas, también son sensibles a los inhibidores de betalactamasas como el ácido clavulánico. Su distribución mundial es amplia con predominio del tipo CTX-M, específicamente CTX-M-14 y CTX-M-15.^(5,6) En cuanto a las carbapenemasas su actividad hidrolítica incluye, además, a los carbapenémicos y las cefamicinas. Las carbapenemasas KPC (*Klebsiella* Productora de Carbapenemasa) y NDM (New Delhi metalobetalactamasa) son las de mayor relevancia clínica y se asocian con una rápida diseminación de clones hiperepidémicos.⁽⁷⁾

Por la gran diseminación de carbapenemasas en enterobacterias la Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha emitido varias alertas epidemiológicas. En adición, el incremento de cepas de ECEI productoras de carbapenemasas motivó su inclusión en la lista de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de "patógenos prioritarios" para el perfeccionamiento de la vigilancia mundial de su resistencia y

la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos. ^(8,9,10)

Por otra parte, el aumento de ECEI productora de BLEE (en particular del patotipo uropatógena) proporcionó un incremento en el uso de las fluoroquinolonas. Esto favoreció la aparición de aislados resistentes, principalmente por mutaciones en los genes *GyrA* y *ParC*, de la ADN girasa y la topoisomera IV, respectivamente. No obstante, los determinantes de resistencia plasmídica a quinolonas (*PMQR*, por sus siglas en inglés) representados por los genes *Qnr*, *aac* (*6'*)-*Ib-cr* y *QepA*, tienen una gran facilidad de propagación lo cual potencia el incremento de la resistencia a esta familia de antimicrobianos. ^(11,12)

En Cuba, la Dirección Nacional de Epidemiología del Ministerio de Salud Pública reporta a ECEI como el patógeno gramnegativo como la causa principal de infecciones hospitalarias en Cuba, una de las principales bacterias gramnegativas causantes de infecciones hospitalarias. Además, en varias investigaciones se resalta la resistencia significativa de *E. coli* uropatógena a los antimicrobianos con frecuentes fracasos terapéuticos. Asimismo, un estudio puntual en La Habana evidenció una amplia diversidad genética de BLEE en *E. coli*. Sin embargo, no existía una vigilancia nacional para ECEI causante de infecciones en el hospital y la comunidad. Todo esto motivó a que el Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria del IPK (LNR-IAAS/IPK), iniciara la vigilancia nacional de ECEI con el objetivo de monitorear su comportamiento clínico, microbiológico y epidemiológico en hospitales cubanos.

MÉTODOS

Durante el período de Enero/2014-Diciembre/2019 se creó una colección de cultivos de ECEI de 1001 aislados que se recibieron en el LNR-IAAS/IPK como parte de su vigilancia nacional. Estos aislados procedieron de muestras clínicas de 38 hospitales distribuidos en 15 provincias del país y el municipio especial Isla de La Juventud.

La caracterización convencional se inició con la confirmación de especie por el método convencional de pruebas bioquímicas. Aquellos que presentaron resultados dudosos se confirmaron mediante el sistema semiautomatizado de API rapid-32 E y el sistema automatizado Vitek 2 compact (BioMérieux, Francia), acorde con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente se determinó la susceptibilidad acorde a las normas internacionales del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios y del Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (*CLSI* y *EUCAST*, siglas en inglés), ^(13,14) Se evaluaron los siguientes antibióticos: ceftazidima (30 µg), cefepima (30 µg), cefotaxima (30 µg), cefoxitin (30 µg), aztreonam (30 µg), imipenem (10 µg),

meropenem (0,002-32 µg/L), ampicilina/sulbactam (0,016-256 µg/L) y piperacilina/tazobactam (100/10 µg), amikacina (30 µg), gentamicina (0,064-1024 mg/L), ciprofloxacina (0,002-32 mg/L), trimetoprim/sulfametoxazol (1,25 µg/23,75 µg), fosfomicina (200 µg). El método de difusión en agar, se aplicó para estudiar la susceptibilidad a todos los antibióticos excepto meropenem, ampicilina/sulbactam, gentamicina, ciprofloxacina para las que se usó el método epsilométrico de E-Test y para la colistina el método de microdilución en caldo ⁽¹³⁾ y el método de elución de discos de colistina. ⁽¹⁵⁾

Para la detección fenotípica de BLEE y de betalactamasas de tipo AmpC se utilizó el estuche comercial de tabletas combinadas, (ESBL + AmpC Screen Kit, ROSCO, Dinamarca) mientras que para la determinación de carbapenemasas en todos los aislados resistentes a los carbapenémicos se empleó el método comercial KPC-MBL Confirm ID Pack, ROSCO, Dinamarca. En ambos casos se siguieron las instrucciones del fabricante.

Para la caracterización molecular se seleccionaron de forma aleatoria con un muestreo sistemático 306 aislados, representativos de las 3 regiones del país (oriente, centro y occidente). En estos se determinaron los grupos filogenéticos, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). ⁽¹⁶⁾

Para la detección de betalactamasas se aplicó la PCR múltiple. Para las BLEE se estudiaron los genes (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}) y posteriormente se discriminaron los subgrupos *bla*_{CTX-M} (grupo 1, 2, 9 y 8/25/26); ⁽¹⁷⁾ para la AmpC se estudiaron los genes *bla*_{MOX-1}, *bla*_{LAT-1}, *bla*_{DHA-1}, *bla*_{ACC}, *bla*_{ACIT-1} y *bla*_{FOX}. ⁽¹⁸⁾ En todos los aislados resistentes a carbapenémicos se buscaron los genes (genes *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{KPC} y *bla*_{OXA-48}). ⁽¹⁹⁾ Se determinaron las secuencias nucleotídicas de *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, gen *bla*_{NDM} y gen *bla*_{CMY} de AmpC con cebadores específicos usando BigDye Terminator version 3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) en un secuenciador de ADN (ABI PRISM 3100). Subtipos de genes de betalactamasas fueron analizados por BLAST disponible en el sitio web <http://blast.ncbi.nih.gov/Blast.cgi>.

Se aplicó la PCR múltiple para la detección de los determinantes genéticos de resistencia plasmídica a fluoroquinolonas: genes (*aac* (*6'*)-*Ib-cr*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *oqxAB* y *qepA*). ⁽²⁰⁾ Además, se determinó por PCR y secuenciación directa el mecanismo cromosomal (mutaciones en genes *gyrA* y *parC*). También se investigó la presencia del gen MCR-1 y sus variantes en aislados resistentes a colistina. ^(21,22)

El estudio de la estructura poblacional se realizó en 71 aislados representativos de cada uno de los 4 filogrupos

mediante la técnica de secuencias multilocus (*MLST*, siglas en inglés) (<http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>).⁽¹⁶⁾ Las ST se agruparon en complejos clonales (CC) mediante el programa Phyloviz (<http://www.phyloviz.net/>) y se correlacionaron según la distribución geográfica y la producción de mecanismos de resistencia.

Por último, se realizó un estudio particularizado de *E. coli* uropatógena de la comunidad que incluyó 281 aislados causantes de ITU procedentes de La Habana y el Municipio especial Isla de la Juventud. A estos aislados se les determinó la susceptibilidad a la cefazolina (30 µg) como predictor de BLEE en la comunidad y a la colistina (10 µg) para la pesquisa del gen *mcr-1*, como parte del protocolo internacional para la vigilancia mundial de la emergencia de resistencia plasmídica.^(23,24)

RESULTADOS

La implementación de la Vigilancia Nacional de ECEI en Cuba permitió caracterizar 1001 aislados recuperados de diferentes muestras clínicas. De ellos, 532 (53,1 %) procedieron de pacientes hospitalizados principalmente de muestras de secreción de herida quirúrgica (27,2 %), sangre (25,7 %), secreción respiratoria (11,1 %) y secreción del tubo endotraqueal (9,8 %). Al correlacionar la procedencia de los aislamientos con el diagnóstico clínico del paciente se pudo conocer las infecciones de herida quirúrgica, del torrente sanguíneo y respiratorias bajas fueron las más frecuentes. Asimismo, los servicios de mayor incidencia fueron las unidades de cuidados intensivos (34 %), medicina (12,2 %), neonatología (10,9 %), cirugía (11,3 %), urología (10 %), ginecobstetricia (8,8 %) y nefrología (6,2 %).

Por otra parte, 469 (46,9 %) aislados se recuperaron de infecciones comunitarias. De ellos 412 (87,8 %) fueron de muestras de orina y el resto se distribuyó en secreción de piel (8,3 %), exudado uretral (2,1 %) y vaginal (1,7 %). De esta forma se ratifica el rol de *E. coli* como un importante patógeno urinario, en particular en la comunidad.

En la figura 1 se aprecia que ECEI presentó una resistencia elevada a la mayoría de las familias de antimicrobianos evaluados. En relación con los betalactámicos, las cefalosporinas resultaron las más afectadas por la resistencia (40 %) a excepción de la cefoxitina con 13,9 % de aislados resistentes. Los carbapenémicos presentaron la mejor actividad *in vitro*; sin embargo, un 1,6 % de los aislados fue resistente.

En cuanto a los antimicrobianos no betalactámicos prevaleció la resistencia frente a la ciprofloxacina y al trimetoprim/sulfametoxazol (50,5 % y 49,4 % respectivamente). La gentamicina resultó el aminoglucósido más afectado

por la resistencia (30,4 %); mientras que un 10,5 % resultó resistente a la amikacina. La colistina mostró ser efectiva contra la mayoría de los aislados de ECEI solo el 2 % de ellos fue resistente. Sin embargo, se necesita mantener una vigilancia estrecha de este comportamiento en aras de evitar el incremento de la resistencia a este antimicrobiano. Aunque la actividad *in vitro* de la fosfomicina frente a ECEI fue efectiva es importante el uso prudente de la misma y el monitoreo de la susceptibilidad para evitar el incremento de la resistencia.

La determinación fenotípica de betalactamasas permitió detectar un 47,1 % (471/1001) de aislados BLEE positivo. Estos representaron un 48,3 % de los aislados hospitalarios y un 45,6 % de los comunitarios, la similitud en la procedencia reafirma la necesidad de su pesquisa en la comunidad. Además se detectó un 0,9 % (10/1001) productor de AmpC entre los aislados resistentes al cefoxitin y entre los resistentes a carbapenémicos un 1,2 % (16/1001) fueron fenotípicamente metalobetalactamasas positivos.

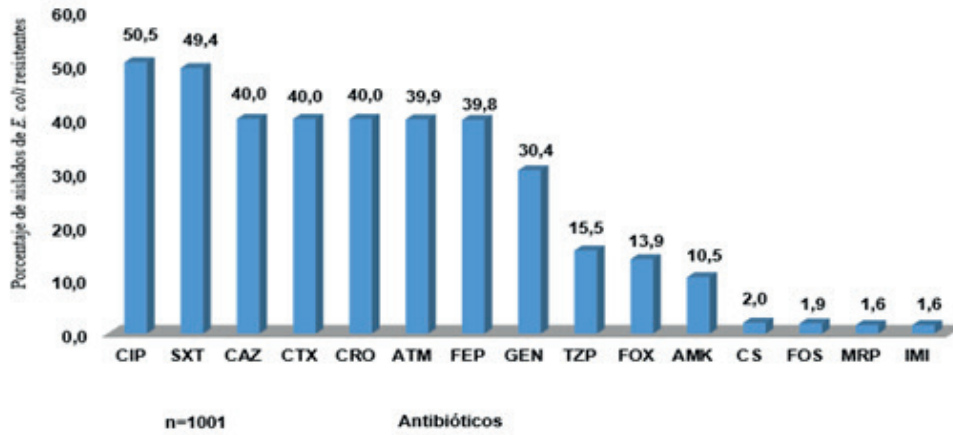
En los 306 aislados caracterizados los determinantes genéticos codificantes de BLEE fueron, el gen *bla*_{CTX-M} (61%) y el gen *bla*_{TEM} (31,7 %); con un 17,3 % de producción simultánea. El subtipo CTX-M-15 resultó el subtipo prevalente. También se detectó la circulación de genotipos inusuales como la CTX-M-32 y CTX-M-55, esta última emergente entre los seres humanos, los animales y el medio ambiente.

La caracterización molecular de los aislados resistentes a la cefoxitina permitió la detección, por vez primera en el país, del subtipo CMY-2 de AmpC en 4 aislados de ECEI. Por otra se confirmaron, de forma molecular, 16 aislados productores de carbapenemasa tipo NDM constituyendo el primer hallazgo en Cuba de esta enzima en el género *E. coli*. La secuenciación del ADN de los 2 primeros aislados detectados reveló la variante genética NDM-1.

La resistencia cromosómica a quinolonas se debió a mutaciones en las topoisomerasas *gyrA* (S83L, D87N) y *parC* (S80I, E84V). La resistencia plasmídica estuvo dominada por el gen *aac-6'-Ib-cr* (40 %) y en menor medida los genes *qnrB*, *qnrD*, *qnrS* y *oqxAB*. En cuanto al mecanismo de resistencia transferible a colistina mediada por el gen *mcr-1* y sus variantes en ninguno en los aislados cubanos de ECEI resistentes a colistina se detectó este mecanismo.

En relación con los filogrupos se encontró que el B2 y el D prevalecieron en los aislados cubanos de ECEI. Un hallazgo relevante fue la detección de infecciones invasivas por aislados correspondiente al filogrupo A (figura 2).

El estudio de secuencias multilocus de los 71 aislados seleccionados permitió identificar 32 secuencias tipo. De ellas 24 pertenecieron al clon pandémico de alto riesgo *E. coli*



Legenda: ATM, aztreonam; FOX, ceftoxitin; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; FEP, cefepime; TZP, piperacilina-tazobactam; MPM, meropenem; IMI, imipenem; AMK, amikacina; GEN, gentamicina; CIP, ciprofloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; CS colistina.

Fig. 1. Susceptibilidad a diferentes antimicrobianos de ECEI (n=1001) causantes de infecciones en Cuba. LNR-IAAS/IPK, 2014- 2019.

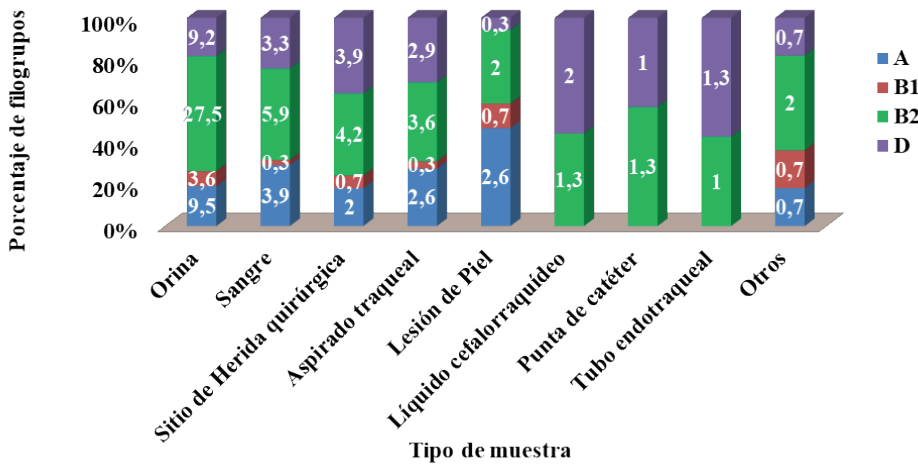


Fig. 2. Distribución de filogrupos genéticos de ECEI según muestras biológicas, n=306. IPK 2014-2018.

ST131 y 3 constituyeron nuevas secuencias tipo a nivel mundial (ST5716, ST5717 y ST5718). Se detectó el clon ST448 que alberga el gen bla NDM-1 en 3 provincias y el clon emergente a nivel mundial ST1193.

En los 281 aislados de *E. coli* uropatógena estudiados se detectó elevados porcentajes de resistencia a: ampicilina 68 % (192/281), ciprofloxacina 55 % (154/281), trimetoprim/sulfametoxazol 49,6 % (139/281), cefazolina 35 % (97/281 y ampicilina con sulbactam 28 % (79/281). La fosfomicina y la nitrofurantoina presentaron la mejor actividad in vitro con solo 0,4 % (1/281) y 1,1 % (3/281), respectivamente de resis-

tencia. No se encontró resistencia a la colistina, aunque solo se evaluó con el fin de iniciar la pesquisa del gen mcr-1 en *E. coli* causante de infección en la comunidad.

El 34,5 % de los aislados fueron productores de BLEE, donde el 100 % de ellos mostró resistencia a la cefazolina y a la ampicilina. Mientras que el 44,4 % resultó resistente a la combinación ampicilina/sulbactam, 30 (47,6 %) a la ciprofloxacina y 27 (42,8 %) al trimetoprim/sulfametoxazol. La fosfomicina y la nitrofurantoina tuvieron la mejor actividad in vitro frente a los aislados de *E. coli* uropatógena BLEE positivos con 1 (1,6 %) y 2 (3,2 %) aislados resistentes, respectivamente.

DISCUSIÓN

Con los resultados de la vigilancia nacional de ECEI en Cuba se evidencia la capacidad que tiene para causar infecciones invasivas, en su mayoría asociadas a los cuidados de salud, esto reafirma su impacto clínico eminente en hospitales cubanos. Aunque *E. coli* no es un patógeno respiratorio típico, por el comportamiento clínico de los aislados hospitalarios se alerta a los médicos de asistencia a pensar en este microorganismo como agente etiológico de infecciones respiratorias bajas. ⁽²⁵⁾ En contraste, el comportamiento de los aislados comunitarios, lo ratifica como patógeno urinario por excelencia. ^(23,24,26,27)

El análisis del perfil de susceptibilidad de los aislados caracterizados mostró porcentajes elevados de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos, lo que reduce drásticamente el arsenal terapéutico eficaz frente a este microorganismo. Los betalactámicos resultaron la familia más afectada por el fenómeno de la resistencia, en particular las cefalosporinas y el monobactámico aztreonam, antibióticos de elección en las infecciones severas por enterobacterias. Esto refuerza el resultado de estudios puntuales en algunos hospitales cubanos que reportan la disminución marcada de la efectividad clínica de las cefalosporinas. ^(28,29)

Ante la emergencia de las BLEE y las betalactamasas AmpC, los carbapenémicos se convierten en la primera línea de tratamiento de las infecciones por las bacterias que las producen. Por tanto, la detección de resistencia a los mismos es una alerta epidemiológica por la ausencia de tratamientos efectivos contra estas cepas lo que refuerza la necesidad de mantener una vigilancia sistemática. ⁽³⁰⁾ No obstante, como los porcentajes de resistencia fueron bajos se recomienda mantener su uso en el tratamiento de las infecciones graves por ECEI resistente a las cefalosporinas.

La ciprofloxacina y el trimetoprim/sulfametoxazol (sul-faprim) fueron los antimicrobianos más afectados por la resistencia bacteriana durante estos 6 años de vigilancia. ^(23,28,29,30,31) Ambos constituyen una alternativa importante de tratamiento para las infecciones por enterobacterias productoras de betalactamasas, pero por el porcentaje elevado de aislados resistentes no se recomienda el uso empírico de estos antibióticos. En adición, los plásmidos que codifican para la producción de las BLEE con frecuencia portan genes de resistencia para las quinolonas y el sulfaprim, lo que puede desencadenar en fracasos terapéuticos. ⁽²⁷⁾

El uso frecuente de los aminoglucósidos produce una presión selectiva que favorece la aparición de resistencia. No obstante, el mecanismo de resistencia más frecuente es la modificación enzimática del antibiótico que se codifica en elementos genéticos móviles, lo que facilita su disemina-

ción. Esta a su vez, puede anular el sinergismo bactericida entre aminoglucósidos y betalactámicos, de aquí su trascendencia clínica y la importancia de monitorear la resistencia de forma continua. ^(24,27)

La emergencia de enterobacterias resistentes a los carbapenémicos y el desarrollo escaso de antimicrobianos nuevos, generó la necesidad de retomar el uso de antibióticos antiguos como la colistina y la fosfomicina. Recientemente se reportó la emergencia de resistencia plasmídica a la colistina mediada por el gen *mcr-1* y sus variantes; además su uso, aunque sea racional, lleva al desarrollo de subpoblaciones resistentes. ⁽³²⁾ En cuanto a la fosfomicina, tradicionalmente se utilizó en el tratamiento de ITU no complicadas pero por su efectividad clínica en asociación con meropenem, colistina, amikacina y tigeciclina resurgió como parte del tratamiento de las infecciones graves por bacterias MDR. ^(23,24) A pesar de que estos antibióticos tuvieron una buena actividad *in vitro* frente a *E. coli*, es imprescindible el monitoreo continuo de la resistencia y así evitar su uso innecesario ya que son los antibióticos con mayor valor terapéutico hoy día en el país. ^(10,31)

Las pruebas fenotípicas para la detección de los mecanismos enzimáticos implicados en la resistencia a betalactámicos son muy útiles, en especial en aquellos laboratorios que no disponen de técnicas moleculares. La implementación de estas en el LNR-IAAS permitió la detección de los aislados de *E. coli* productores de betalactamasas para su posterior confirmación molecular. ^(10,29,30,31)

La implementación de la biología molecular para la caracterización de los aislados de *E. coli* resistente a los betalactámicos permitió identificar las bases moleculares de esta resistencia en los aislados cubanos. Un estudio previo en un hospital de La Habana evidenció la circulación de *E. coli* productores de BLEE tipo TEM, CTX-M y SHV. En décadas anteriores los tipos TEM y SHV fueron los más frecuentes en enterobacterias; sin embargo, la CTX-M los reemplazó y la en la actualidad es la de mayor prevalencia a nivel mundial. ^(29,30) Los resultados de la vigilancia de ECEI ratifican este fenómeno en los aislados cubanos donde se evidencia el predominio de CTX-M, específicamente CTX-M-15. Esta tiene una amplia difusión mundial y en la práctica clínica se relaciona con mayor riesgo de fracaso terapéutico con el uso de la cefotaxima. ⁽⁵⁾ En adición, los genes *bla* que codifican para la producción de BLEE se encuentran en casetes genéticos móviles que portan además determinantes de la resistencia a otros antibióticos como: aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol; esto propicia el fenómeno de corresponsión. ⁽³⁰⁾

Por otra parte, la CTX-M-55 es un tipo emergente en el hombre, los animales y el medio ambiente; mientras que

la CTX-M-32 se asocia a menudo con ganado y productos cárnicos. Esta última, se identificó recientemente en Cuba, una cepa de *E. coli* aislada de un cerdo sano. ⁽³²⁾ Por tanto, existe la posibilidad de que el origen de los genes CTX-M-32 y -55 que se detectaron en los aislados cubanos de ECEI sea animal o ambiental.

La detección de la AmpC plasmídica CMY-2 es el primer reporte de su tipo en aislados cubanos de *E. coli*. Esto es un hallazgo relevante por su connotación epidemiológica ya que una parte importante de las enzimas CMY adquieren actividad hidrolítica extendida a las cefalosporinas como un mecanismo de evolución genética que reduce aún más la eficacia clínica de las mismas. ⁽³⁰⁾

El primer reporte de la metalobetalactamasa NDM en Cuba fue en una cepa de *Acinetobacter soli*. Esta carbapenemasa confiere resistencia a todos los betalactámicos con excepción del aztreonam. La Vigilancia Nacional de ECEI permitió la detección por vez primera de esta enzima en el género *Escherichia*. La KPC es la carbapenemasa más frecuente en Latinoamérica por lo que la detección de NDM difiere de la situación en la región y es un aporte importante a la epidemiología de regional. ⁽¹⁰⁾

La caracterización molecular de los mecanismos de resistencia a las fluoroquinolonas evidenció por primera vez en Cuba la resistencia plasmídica a las mismas. Esto propició la comunicación a las autoridades de salud y a los médicos de asistencia en aras de lograr un uso racional de las quinolonas, en respuesta al llamado de la OMS de rescatar la eficacia clínica de estas. ⁽³³⁾

No se detectó el gen *mcr-1* en ninguno de los aislados resistentes a la colistina a pesar de que cuatro aislados presentaron CIM elevadas (16 µg/mL). No obstante, este gen también se reporta en aislados sensibles (CIM ≤ 2 µg/mL) lo que resalta la importancia de su vigilancia activa. ⁽³⁴⁾ La implementación de la PCR en el LNR-IAAS/IPK para la vigilancia del gen *mcr-1* permitirá su detección precoz y alertar oportunamente a las autoridades de salud. ⁽³⁵⁾

En relación con los grupos filogenéticos más frecuentes de los aislados cubanos de ECEI (B2 y D), se citan en la literatura internacional como los más virulentos. Esto se ratifica al correlacionar los filogrupos genéticos con las muestras biológicas (figura 2), ya que todos los aislados de ambos grupos genéticos se recuperaron de muestras biológicas invasivas. Por otra parte, el filogrupo A se corresponden con aislados comensales de *E. coli*, por tanto, su detección en muestras invasivas demanda realizar estudios genéticos dirigidos a este filogrupo para comprender mejor su patogenicidad y epidemiología. ⁽³⁰⁾

El estudio de secuencias multilocus evidenció la circulación en Cuba clon el ST131 el que se asocia con la producción

de BLEE tipo CTX-M y la resistencia a fluoroquinolonas por lo que se reconoce como un clon pandémico asociado a multidrogorresistencia. ^(30,31) Además, el hallazgo de tres secuencias tipos a nivel mundial representa un aporte a la epidemiología molecular de ECEI. En adición, la detección del clon emergente ST1193 constituye el primer reporte en Latinoamérica. ⁽³⁰⁾

En relación con el estudio de *E. coli* uropatógena las guías para el tratamiento de la ITU desaconsejan el uso empírico de un antimicrobiano si la tasa de resistencia es mayor de 20 %. Por tanto, los resultados de este estudio evidencian las pocas opciones terapéuticas disponibles para el manejo de estas infecciones. Solo quedan disponibles la nitrofurantoína y la fosfomicina pero esta última en su presentación de fosfomicina trometamol que no está disponible en Cuba. Este estudio permitió recomendar a las autoridades de salud la introducción de esta formulación en el país. ^(23,24)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008;52:813-21. [PubMed] Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.01169-07>
2. Pitout JD, Laupland, KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. *Lancet Infect. Dis.* 2008;8:159-66. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70041-0)
3. Riley LW. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014;20:380-90. [PubMed]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12646>
4. Manges AR, Geum HM, Guo A, Edens TJ, Fibke CD, Pitout JDD. Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) Lineages. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019;32:e00135-18. [PubMed]. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/CMR.00135-18>
5. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M-Beta-lactamases: Temporal and geographical shifts in genotype. *J. Antimicrob. Chemother.* 2017;72:2145-55. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx146>
6. Thomson, K.S. Extended spectrum beta lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. *Clin J. Microbiol.* 2010;48:1019-25. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00219-10>
7. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: Here is the storm! *Trends Mol. Med.* 2012;18:263-72. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
8. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta epidemiológica: Diseminación de carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae* en Latinoamérica. [Internet]. 2010 [citado 25 de mayo 2019]. Disponible en: www.paho.org.
9. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta epidemiológica: Primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. [Internet]. 2011 [citado 25 de mayo 2019]. Disponible en: www.paho.org.
10. Ortis Jonnathan Gerardo. Enterobacterias productoras de carbapenemasas en Cuba, tipos, evaluación de métodos para su

- detección y antibiótipos. IPK, 2015-2018. [Máster]. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri; 2018.
11. Dalhoff A. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. *Interdiscip Perspect Infect* 2012;2012:976273. Epub 2012 Oct 14. PMID: 23097666; PMCID: PMC3477668. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/976273>
 12. Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kier N, Nordmann, P. et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol. Spectr.* 2018;6. [PubMed]. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
 13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Pennsylvania, USA 2018. Available from: www.clsi.org.
 14. EUCAST 2018. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters v 8.0.
 15. Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Método de elución de discos de colistín. Protocolo adaptado por el Laboratorio Nacional de Referencia [Internet]. 2017 [citado 3 de octubre 2018];2(Agosto):1-4. Disponible en: <https://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Met-deEluci%C3%B3n-de-Discos-de-COL-version2-Agosto2017.pdf>.
 16. Wirth T, Falush D, Lan R, Colles F, Mensa P, Wieler LH, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: An evolutionary perspective. *Mol. Microbiol.* 2006;60:1136-51. [PubMed]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05172.x>
 17. Monstein H, Ostholm-Balkhed A, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch, K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of bla_{SHV}, bla_{TEM} and bla_{CTX-M} genes in Enterobacteriaceae. *APMIS* 2007;115:1400-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.00722.x>
 18. Pérez Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2002;40:2153-62. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2153-2162.2002>
 19. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011;70:119-23. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>
 20. Ciesielczuk M, Hornsey V, Choi N, Woodford and Wareham DW. Development and evaluation of a multiplex PCR for eight plasmid-mediated quinolone-resistance determinants. *J of Med Microbiol.* 2013;62:1823-26. Disponible en: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.064428-0>
 21. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas. [Internet]. 2016 [citado 22 Feb 2018]. Disponible en: www.paho.org
 22. Li J, Shi X, Yin W, Wang Y, Shen Z, Ding S, Wang S. A Multiplex SYBR Green Real Time PCR Assay for the Detection of Three Colistin Resistance Genes from Cultured Bacteria, Feces, and Environment Samples. *Front. Microbiol.* 2017;8:2078. [PubMed]. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02078>
 23. Hidalgo M. Resistencia antimicrobiana y mecanismos relacionados en *Escherichia coli* causantes de infecciones urinarias. Isla de la Juventud. Mayo 2017-diciembre 2018. [Especialista de Primer Grado en Microbiología]. IPK; 2018.
 24. Vorges LM. Resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de Infección del Tracto Urinario en hospitales y la comunidad en La Habana. [Licenciado]. Universidad de La Habana; 2017.
 25. Cepero MC, González Y, Madruga MC. Caracterización microbiológica de patógenos bacterianos aislados en aspirados endotraqueales de pacientes con neumonía nosocomial. *Panorama Cuba y Salud* 2014;9(2):2-9.
 26. Argües A, Chávez AR y Hernández NR. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. *Rev Cub Med Int Emerg.* 2015;14:16-29.
 27. Quiñones Pérez D, Betancourt González Y, Carmona Cartaya Y, Pereda Novales N, Álvarez- Valdivia S, Soe aung M, Kobayashi N. *Escherichia coli* extraintestinal causante de infecciones en hospitales cubanos, susceptibilidad antimicrobiana y detección de betalactamasas. *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2020 [citado 8 Jul 2022]; 72(3) Disponible en: <http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/605>
 28. Ramírez Y, Zayas A, Infante S, Ramírez Y, Mesa I, Montoto V. Infección del sitio quirúrgico en púerperas con cesárea. *Rev Cubana Obstet Ginecol* [Internet]. 2016;42(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-600X2016000100005&script=sci_arttext&tlng=en
 29. Betancourt Y. Susceptibilidad antimicrobiana y detección de betalactamasas en *Escherichia coli* extraintestinal causantes de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2018 [Especialista de Primer Grado en Microbiología]. IPK; 2018.
 30. Quiñones D, Soe Aung M, Carmona Y, González MK, Pereda N, Hidalgo M, et al. High Prevalence of CTX-M Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes and Detection of NDM-1 Carbapenemase Gene in Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in Cuba. *Pathogens*, 2020. Jan 16;9(1):65. PMID: 31963265; PMCID: PMC7168674. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens9010065>
 31. Quiñones D, Carmona Y, Rivero M, Pereda N, Zallas A, Marrero D et al. *Escherichia coli* multidrogoresistente en Cuba: emergencia del clon pandémico ST 131. Convención Internacional de Salud, Cuba Salud, 2018. [Internet]. Disponible en: <http://convencion-salud2018.sld.cu/index.php/convencionsalud/2018/paper/view/1909/2399>
 32. Hernández Fillor RE, Brillhante M, Espinosa I, Perreten V. Complete Circular Genome Sequence of a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Strain from Cuba Obtained with Nanopore and Illumina Hybrid Assembly. *Microbiol. Resour. Announc.* 2019 Nov 27;8(48):e01269-19. PMID: 31776226; PMCID: PMC6883113. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/MRA.01269-19>
 33. World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine: Ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. World Health Organization; 2017. [20 de enero de 2019]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s22251en/s22251en.pdf>.
 34. Quiroga C, Nastro M, & Di Conza, J. Current scenario of plasmid-mediated colistin resistance in Latin America. *Rev Argent Mi-*

crobiol. 2019;51(1):93-100. Disponible en: <https://doi.org/10.16/j.ram.2018.05.001>

35. Pacheco Cárdenas KE. Evaluación del desempeño de métodos para la determinación de la susceptibilidad a colistina en enterobacterias y antibiotipos. IPK, 2015-2018 [Máster]. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri; 2018.

Recibido: 30/10/2021

Aprobado: 06/06/2022

Agradecimientos

A todo el personal de Laboratorios de Microbiología de la Red Nacional y Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología que contribuyeron a la vigilancia de *Escherichia coli* extraintestinal, en especial a Lic. Arnaldo Zallas, Dra. Sussel Álvarez, Lic. Mayrelis Rivero. Al MINSAP por la coordinación y apoyo (Dr. Andres Zambrano) y a la Dra. Meiji Soe Aung y Dr. Nobumichi Kobayashi de la Universidad Médica de Sapporo Japón por el intercambio científico.

Conflictos de interés

Los autores del presente estudio declaran no tener conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Dianelys Quiñones Pérez
- Curación de datos: Yenisel Carmona Cartaya Mercedes Hidalgo Benito, Yulaisky Betancourt González

- Adquisición de fondos: Dianelys Quiñones Pérez
- Investigación: Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya
- Metodología: Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya Mercedes Hidalgo Benito, Yulaisky Betancourt González, María Karla González Molina, Niurka Pereda Novales
- Administración del proyecto: Dianelys Quiñones Pérez
- Recursos: Dianelys Quiñones Pérez
- Supervisión: Dianelys Quiñones Pérez
- Validación: Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya, Mercedes Hidalgo Benito, Yulaisky Betancourt González, María Karla González Molina, Niurka Pereda Novales
- Visualización: Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya, Mercedes Hidalgo Benito, Yulaisky Betancourt González
- Redacción-borrador original: Dianelys Quiñones Pérez, Yenisel Carmona Cartaya
- Redacción-revisión y edición: Dianelys Quiñones Pérez

Financiamiento

Parte de las investigaciones se desarrollaron con fondos de la Sociedad Japonesa para la Promoción de la Ciencia) Beca KAKENHI No. 17H04664.

Cómo citar este artículo

Quiñones Pérez D, Carmona Cartaya Y, Hidalgo Benito M, Betancourt González Y et al. *Escherichia coli* extraintestinal, un desafío actual: aportes para suplevención y control en Cuba. An Acad Cienc Cuba [internet] 2023 [citado en día, mes y año];13(1):e1155. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1155>

