

β -lactamasas AmpC en bacilos gramnegativos de aislados clínicos en un centro hospitalario de tercer nivel en Colombia

AmpC β -lactamases in Gram-negative bacilli from clinical isolates in a Colombian tertiary hospital

Diana Patricia Mora Moreno^{1,2*} <https://orcid.org/0000-0003-1710-743X>

María Inés Torres Caycedo¹ <https://orcid.org/0000-0003-0690-3182>

Otto Alberto Sussman Peña² <https://orcid.org/0000-0002-4110-3706>

¹Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia.

²ESE Hospital Universitario San Rafael Tunja. Colombia.

*Autor para la correspondencia: diana.mora04@uptc.edu.co

RESUMEN

Introducción: Las β -lactamasas AmpC son enzimas con capacidad hidrolítica, pueden ser de tipo constitutivo o inducible. No existe un método estandarizado para su determinación fenotípica por normas internacionales; la detección de estas mediante el uso de la biología molecular podría ser una alternativa útil para vigilancia y control de la diseminación de clones circulantes en el entorno hospitalario.

Objetivo: Determinar el fenotipo de resistencia y genes expresados en la producción de β -lactamasas AmpC en bacilos gramnegativos de aislados clínicos en un centro hospitalario.

Métodos: Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. Se seleccionaron 78 cepas bacterianas como portadoras de β -lactamasas AmpC. Se les realizó prueba de aproximación de disco; a las cepas con resultado positivo se seleccionaron para extracción de ADN y PCR multiplex para detección de 6 familias genes AmpC. Se determinó la frecuencia por tipo de muestra, servicio y comparación con el perfil de susceptibilidad.

Resultados: De las cepas seleccionadas con fenotipo AmpC, el 57,6 % (45/78) se consideró caso confirmado β -lactamasas AmpC por su positividad para la prueba confirmatoria. La técnica molecular utilizada confirmó en el 40 % (18/45) la presencia de genes AmpC. Se obtuvo con mayor frecuencia el gen MIR n= 9 (20 %), seguido de DHA n= 7 (15 %).

Conclusiones: La detección oportuna de genes que codifican para β -lactamasas AmpC permite establecer estrategias para evitar la circulación mediada por plásmidos en hospitales, así como utilizar mejores opciones terapéuticas que no induzcan a otros mecanismos de resistencia.

Palabras clave: resistencia a antibióticos; β -lactamasas AmpC; genes.

ABSTRACT

Introduction: AmpC β -lactamases are enzymes with hydrolytic activity. They may be either constitutive or inducible. No standardized method is available for their phenotypical determination by international standards. Their detection by molecular biology could be a useful alternative for the surveillance and control of the spread of clones circulating in hospital environments.

Objective: Determine the resistance phenotype and genes expressed in the production of AmpC β -lactamases in Gram-negative bacilli from clinical isolates in a hospital.

Methods: An observational descriptive cross-sectional study was conducted. A total 78 bacterial strains were selected as carriers of AmpC β -lactamases. Disc approximation tests were performed. The strains testing positive were selected for DNA extraction and multiplex PCR for detection of six AmpC gene families. Determination was made of the frequency per sample type, service and comparison with the susceptibility profile.

Results: Of the strains selected with AmpC phenotype, 57.6% (45/78) were considered to be AmpC β -lactamase confirmed cases, due to their positive confirmatory test. The molecular technique used confirmed the presence of AmpC genes in 40% (18/45) of the cases. The gene most commonly obtained was MIR n= 9 (20%), followed by DHA n= 7 (15%).

Conclusions: Timely detection of genes encoding for AmpC β -lactamases makes it possible to set up strategies to prevent plasmid-mediated circulation in

hospitals, as well as apply better therapeutic options that do not induce other resistance mechanisms.

Keywords: antibiotic resistance; AmpC β -lactamases; genes.

Recibido: 03/10/2019

Aceptado: 24/06/2020

Introducción

La resistencia bacteriana es un evento de interés en salud pública que genera desafío en el desarrollo de estrategias de control de enfermedades infecciosas, por lo que constituye un reto lograr controlar la expresión de mecanismos de resistencia a los antibióticos de elección terapéutica y por ende del proceso infeccioso causados por bacilos gramnegativos.

Existen mecanismos de expresión de resistencia bacteriana los cuales se generan de forma natural o adquirida,⁽¹⁾ La producción de β -lactamasas es uno de los principales mecanismos de resistencia en bacilos gramnegativos, entre estos mecanismos esta la producción de enzimas de tipo β -lactamasas AmpC serin- β -lactamasas pertenecientes al grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros, que se presentan de forma natural o inducible en este grupo bacteriano.⁽²⁾

En el hospital donde se realizó la investigación circulan bacilos gramnegativos de la familia Enterobacteriaceae entre los que están *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* *Klebsiella aerogenes*, *Serratia marcescens* entre otros; seguido por cocos grampositivos y bacilos gramnegativos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa*, los cuales presentan β -lactamasas de espectro extendido en un 20 % confirmados por rutina con el test de doble disco.

Las cepas portadoras de AmpC aisladas de muestras clínicas en el 13 % se informan sin pruebas confirmatorias, dada la inexistencia de métodos fenotípicos estandarizados; la detección específica de β -lactamasa tipo AmpC mediadas por plásmidos en los laboratorios clínicos requiere de adecuaciones e inversión económica considerable, el acceso a la identificación de estas en la rutina de la

microbiología clínica se hace necesario para el reconocimiento de cepas circulantes, consolidación de la epidemiología local de la institución y estrategias terapéuticas.⁽³⁾

Con el estudio se realizó identificación fenotípica y genotípica de los mecanismos de resistencia relacionados con la expresión de β -lactamasas AmpC en bacilos gramnegativos aislados en un periodo de seis meses en un centro hospitalario de tercer nivel en Colombia.

Métodos

Estudio observacional descriptivo de corte transversal. En una colección de cepas bacterianas aisladas de muestras clínicas tomadas en un periodo de 6 meses (enero a junio 2018) en un hospital universitario de tercer nivel, se caracterizó fenotípicamente los bacilos portadores de β -lactamasas AmpC y se identificaron los genes relacionados.

De 1 145 bacilos gramnegativos aislados, el 6,81 % (n= 78) mostró posible mecanismo de resistencia de β -lactamasas tipo AmpC, siendo sensibles a carbapenémicos y resistentes a cefamicinas, ampicilina-sulbactam, mecanismo confirmado con la prueba de aproximación de disco.

Se excluyeron las 1 067 cepas, dado que no presentaron hidrólisis de cefalosporinas de tercera generación cefamicinas e inhibidores de β -lactamasas y el test de aproximación de discos negativo.

La identificación microbiológica y perfil de susceptibilidad se realizó con el sistema Phoenix 100 (BD Diagnostics).

Confirmación prueba sinergia de aproximación de discos

Las cepas bacterianas se repicaron en medio de cultivo sólido selectivo y diferencial con incubación de 24 h. Se realizó método convencional de Kirby Bauer a una escala de 0,5 Mc Farland, se utilizó sensidiscos de ácido fenil borónico (300 mg) a 18 mm de distancia centro a centro con las cefalosporinas de tercera generación y cefoxitina a 27 mm de distancia centro a centro con ceftazidima (30 mg) ceftriaxona (30 mg) y cefotaxime (30 mg) como antibióticos reveladores o sustratos.⁽⁴⁾

Se realizó la lectura después de 24 h de incubación en la que se interpretó como positiva una prueba al observar una expansión (distorsión) o achatamiento del halo de inhibición del antibiótico sustrato de una o ambas cefalosporinas en las proximidades al disco de ácido fenil borónico o cefoxitina. Como cepas control se utilizaron *E. coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Detección de genes

Para la extracción de ADN se aplicó protocolo No. 003 del Laboratorio Epidemiología molecular Universidad de Boyacá⁽⁵⁾ kit de extracción de Promega “Wizard” Genomic DNA Purification, se determinó la concentración de ácidos nucleicos en el equipo Nanodrop Maestrogen® absorbancia de 260 nm. La relación de ADN-proteínas a 260/280 fue óptima y se conservó a -20 °C.

Detección genotípica por PCR multiplex

La detección de las seis familias de genes AmpC (*CIT*, *DHA*, *MOX*, *FOX*, *ACC*, *EBC*) se realizó mediante PCR multiplex, por el método descrito por Pérez y otros.⁽⁴⁾ El programa de PCR multiplex fue: desnaturalización inicial 94 °C durante 3 min, seguido de 30 ciclos de desnaturalización del ADN a 94 °C durante 30 s, hibridación del cebador a 64 °C durante 30 s, y extensión del cebador a 72 °C durante 1 min. Después del último ciclo, una etapa de extensión final a 72 °C durante 7 min un ciclo. Los primers del estudio se describen en la tabla 1.

Tabla 1- Primers usados para la amplificación

Gen	Secuencia 5' - 3'	Primers	Pares de bases	Posición nucleótido	Gen bank
<i>MOX-1</i> , <i>MOX-2</i> , <i>CMY-1</i> , <i>CMY-8 to</i> <i>CMY-11</i>	GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG C	MOXMF MOXMR	520	358-378 877-856	D13304
<i>LAT-1 to</i> <i>LAT-4</i> , <i>CMY-2 to</i> <i>CMY-7</i> , <i>BIL-1</i>	TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC 939-919	CITMF CITMR	462	478-498 939-919	X78117
<i>DHA-1</i> , <i>DHA-2</i>	AAC TTT CAC AGG TGT GCT GGG T CCG TAC GCA TAC TGG CTT TGC	DHAMF DHAMR	405	1244-1265 1648-1628	Y16410
<i>ACC</i>	AAC AGC CTC AGC AGC CGG TTA TTC GCC GCA ATC ATC CCT AGC	ACCMF ACCMR	346	861-881 1206-1186	AJ133121
<i>MIR-1T</i> <i>ACT-1</i>	TCG GTA AAG CCG ATG TTG CGG CTT CCA CTG CGG CTG CCA GTT	EBCMF EBCMR	302	1115-1135 1416-1396	M37839
<i>FOX-1 to</i> <i>FOX-5b</i>	AAC ATG GGG TAT CAG GGA GAT G CAA AGC GCG TAA CCG GAT TGG	FOXMF FOXMR	190	1475-1496 1664-1644	X77455

Liu X, Liu Y. Detection of plasmid-mediated AmpC B-lactamase in *Escherichia coli*. Biomed Rep. 2016;4(6):687-90.

Disponible en: <http://10.3892 / br.2016.661>.

La visualización de los amplicones se realizó con electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % con TAE al 1 %, observando la presencia de las bandas en transiluminador UltraSlim Led Illuminator (ABM). Se utilizó marcador de peso molecular (MPM100 pb) de 100 pb y como control positivo cepa ECL031 (cepa de *Enterobacter cloacae* caracterizada en el Laboratorio de investigación de Epidemiología Molecular U de Boyacá), como control negativo (CNeg) ATCC *Escherichia coli* 25922.

Análisis y distribución de frecuencias

A partir de la base de datos Whonet 5.6 se tabularon en el programa SPSS versión 22 los datos para análisis descriptivo de distribución de frecuencias de cepas portadoras de B-lactamasas AmpC por servicio y tipo de muestras, genes detectados y expresión del perfil fenotípico.

Resultados

De 1 145 cepas de bacilos gramnegativos evaluados durante seis meses el 6,81 % (n= 78) de cepas fueron seleccionadas como casos sospechosos de β -lactamasas tipo AmpC, las 1 067 cepas restantes no fueron evaluadas porque no cumplían criterios de inclusión. A las 78 cepas evaluadas se les realizó lectura interpretada de antibiograma (expresión del perfil fenotípico), indicadores del mecanismo de resistencia en estudio y prueba fenotípica confirmatoria de aproximación de discos.

Los géneros bacterianos identificados corresponden a los listados en la tabla 2.

Tabla 2 - Géneros y especies bacterianas identificadas

Genero y especie	No.	%
<i>E. cloacae</i>	27	34,61
<i>K. aerogenes</i>	16	20,51
<i>P. aeruginosa</i>	5	6,41
<i>S. marcescens</i>	18	23,07
<i>K. pneumoniae</i>	3	3,84
<i>E. coli</i>	5	6,41
<i>S. liquefaciens</i>	2	2,56
<i>C. freundii</i>	2	2,56
Total	78	100

En La lectura interpretada de antibiograma se determinó que los ocho géneros bacterianos fueron resistentes en 100 % a ampicilina (Amp), cefazolina (CZ), cefoxitina (FOX), ampicilina-sulbactam (SAM); para el trimetropin-sulfametoxazol (SXT) seis géneros presentaron resistencia con 19,9 %; para cefepime (FEP), ceftriaxona (CRO) y ceftazidima (CAZ) cinco géneros con porcentajes totales de 24,1 %, 33,2 %, 30,7 %, respectivamente; los otros antimicrobianos informan dos o un género con frecuencias igual o inferiores al 25 %.

Prueba fenotípica confirmatoria

De los casos sospechosos se confirmaron para β -lactamasas AmpC el 57,6 % (45/78) mediante la prueba sinergia de aproximación de discos; el 42,3 % (33/78) fue negativa.

Origen de aislamientos por muestra clínica y servicio

El origen de las 45 confirmadas informa que el 40 % (n= 12) provienen de secreciones, 33,3 % (n=10) de orina, 23,3 (n= 7) aspirado traqueal, 13,3% (n= 4) hemocultivo, 13,3 % (n= 4) esputo, 6,6 % (n= 2) secreción bronquial, 6,6 % (n= 2) punta de catéter, y por último en un 3,33 % se se informa secreción sacra (n= 1), líquido pancreático (n= 1), líquido abdominal (n= 1), paravertebral en un (n= 1). Por servicio se informó el 22 % (n= 10) en la Unidad de Cuidado Intensivo, 22,2 %, (n= 10) urgencias, cirugía general (n= 9) y medicina interna (n= 9) para un 20 %, ortopedia 6,66 % (n= 3) hospitalización pediátrica 4,44 % (n= 2) seguido por urgencia pediátrica (n= 1) y ginecología (n= 1) para un 2,2 %.

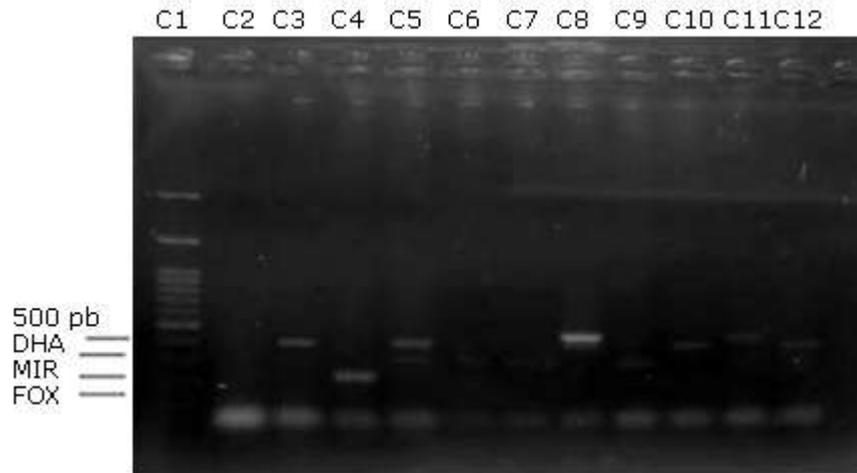
Identificación de genes AmpC

Las 45 cepas fueron analizadas mediante PCR multiplex (9) para determinar la presencia de genes codificantes de β -lactamasas AmpC: *MOX*, *CMY*, *DHA*, *ACC*, *MIR* Y *FOX*. Siete cepas presentaron el gen *DHA*, nueve el gen *MIR* y dos para el gen *FOX*, para un total de 18 cepas (Tabla 3).

Tabla 3 - Frecuencia de genes por microorganismo

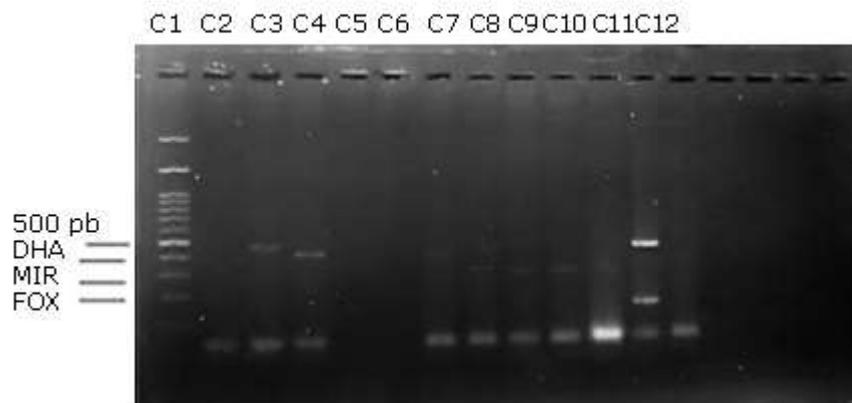
Microorganismo	Gen <i>DHA</i> (405 pb) n (%)	Gen <i>MIR</i> (302 pb) n (%)	Gen <i>FOX</i> (190 pb) n (%)
<i>K. aerogenes</i>	2 (4,4)	2 (4,4)	1 (2,2)
<i>E. cloacae</i>	3 (6,6)	5 (11,1)	0
<i>C. freundii</i>	2 (4,4)	0	0
<i>E. coli</i>	0	1 (2,2)	0
<i>S. marcescens</i>	0	1 (2,2)	1 (2,2)

En los geles se observaron la presencia de los fragmentos de tamaño esperado para el gen *DHA* de 405 pb en *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter cloacae*. Para el gen *MIR* se observó la presencia de fragmentos con el tamaño esperado (302 pb) en *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella aerogenes*, *Escherichia coli* y *Serratia marcescens* (figura 2); y para el gen *FOX* se observó la presencia de los amplicones de 190 pb en *Klebsiella aerogenes* y *Serratia marcescens* (Fig. 1 y 2).



Carril 1: MPM100 pb; C2: Cneg ATCC *E. coli* 25922; C3: Cpos cepa ECL031 gen (*DHA*) 400 pb; C4: *Klebsiella aerogenes* 190 pb (*FOX*); C5: *Enterobacter cloacae* 300 pb y 400 pb (*MIR-DHA*); C6: *Enterobacter cloacae* 300 pb (*MIR*); C7: *Klebsiella aerogenes* 300 pb (*MIR*); C8: *Citrobacter freundii* 400 pb (*DHA*); C9: *Escherichia coli* 300 pb; C10: *Klebsiella aerogenes* 400 pb; C11: *Enterobacter cloacae* 400 pb; C12: *Enterobacter cloacae* 400 pb.

Fig. 1 - Electroforesis en gel de agarosa genes AmpC, montaje 1.



Carril 1: MPM100 pb; C2: Cneg ATCC *E. coli* 25922; C3: Cpos cepa ECL031 gen (*DHA*) 400 pb; carril 4: *Klebsiella aerogenes* 400 pb; (C5 y C6 vacíos); carril 7: *Citrobacter freundii* 400 pb C8: *Enterobacter cloacae* 300 pb, C9: *Enterobacter cloacae* 300 pb, C10: *Enterobacter cloacae* 300 pb, C11 *Enterobacter cloacae* 300 pb, C12 *Serratia marcescens* 400 pb y 190 pb.

Fig. 2 - Electroforesis en Gel de agarosa genes AmpC, montaje 2.

La distribución de las 18 cepas con presencia de los genes *MIR*, *DHA* y *FOX* por servicio y muestra se presenta en la tabla 4. Se identificaron genes en los servicios de urgencias n= 7 (15,5 %), cirugía general 5 (11,1 %), seguido por medicina interna, en menor porcentaje en Unidad de Recién Nacidos. La distribución de los genes por tipo de muestra se observó en un 11,1 % en orina, 8,8 % en tubo orotraqueal, seguido por secreción bronquial, líquido peritoneal, esputo y hemocultivo.

Tabla 4 - Distribución por servicio y tipo de muestra con presencia de los genes

Cirugía general				
Microorganismo	Gen	#	Tipo muestra	Total genes
<i>Enterobacter cloacae</i>	MIR 3 Líquido peritoneal 4			
	DHA	1		
<i>Klebsiella aerogenes</i>	MIR 1 Secreción bronquial 1			
Medicina interna				
Microorganismo	Gen	#	Tipo muestra	Total genes
<i>Enterobacter cloacae</i>	DHA 1 Orina 1			
<i>Klebsiella aerogenes</i>	DHA	2	Secreción	2
UCI adultos				
Microorganismo	Gen	#	Tipo muestra	Total
<i>Enterobacter cloacae</i>	DHA	1	Tubo orotraqueal	2
	MIR 1			
Unidad de recién nacidos				
Microorganismo	Gen	#	Tipo muestra	Total genes
<i>Klebsiella aerogenes</i>	FOX 1 Orina 1			
<i>Klebsiella aerogenes</i>				
Urgencias				
Microorganismo	Gen	#	Tipo muestra	Total genes
<i>Enterobacter cloacae</i>	MIR 1 Espudo 2			
	MIR	1	Hemocultivo	
<i>Citrobacter freundii</i>	DHA 2 Orina 2			

Expresión del perfil de resistencia y presencia de genes

Las cepas en las que se identificó los genes *MIR*, *DHA* y *FOX* muestran un perfil de resistencia similar hidrolizando ampicilina-sulbactam y cefamicinas antibioticos indicadores usuales para predecir una posible β -lactamasa AmpC, en otros casos se observa hidrolisis de fluoroquinolonas trimetropin-sulfametoxazol y a cefalosporinas de primera a cuarta generación (Tabla 5).

Tabla 5 - Genes y expresión del perfil fenotípico+

Microorganismo	Gen	No. de cepas	Fenotipo de resistencia
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>MIR</i>	5	Amp, SAM CZ, FOX y 1 SXT
	<i>DHA</i>	3	Amp, SAM, CZ, FOX
<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>FOX</i>	1	Amp, SAM, CZ, FOX
	<i>MIR</i>	2	Amp, SAM, CZ, FOX
	<i>DHA</i>	2	(1) Amp, SAM CZ FOX (2) Amp, SAM, CIP, LVX CZ, CRO, CAZ FEP
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>DHA</i>	2	Amp, SAM, CZ, FOX
<i>Escherichia coli</i>	<i>MIR</i>	1	Amp, AMC, CZ, CRO, CAZ FEP
<i>Serratia marcescens</i>	<i>MIR</i>	1	Amp, SAM CZ, FOX
	<i>FOX</i>	1	Amp, SAM, CZ, FOX

Discusión

En este estudio se utilizó PCR Multiplex técnica documentada en varios artículos como Gold estándar para detección β -lactamasas AmpC.⁽⁶⁾ Se determinó con mayor frecuencia el gen *MIR* (n= 9) 20 %, seguido de 15 % (n= 7) de *DHA* en contraste con el estudio realizado por *Ding* y otros en el que los productores de β -lactamasas AmpC informaron *CMY-2*,⁽⁷⁾ gen comúnmente informado en varios países,⁽⁸⁾ otro dato importante en china es la detección del gen *DHA* en 11 cepas el 12,5 % similar a lo encontrado en este estudio pero con la diferencia de la cepas evaluadas.⁽⁹⁾

Las β -lactamasas tipo AmpC presentan datos limitados sobre su prevalencia los informes varían de 0,59 % en pacientes ambulatorios en España a 6,7 % en Libia y 16 % en otro estudio realizado en España.⁽¹⁰⁾ Los resultados de este estudio muestran que los genes con mayor frecuencia son cromosomales de tipo inducible y plasmídicas similar al estudio realizado en Malasia donde se obtuvo un 33,3 % del gen *MIR* y 0,9 % del gen *DHA*.⁽¹¹⁾ En relación con lo referido los genes con estas características de alta expresión facilita su transmisibilidad a otras cepas bacterianas.

Se estableció la detección de diferentes genes AmpC (*DHA*, *MIR* y *FOX*) en *E. Cloacae*, *K. aerogenes*, *C. freundii*, *S. marcescens* y *E. coli*, sugiere que las pruebas fenotípicas presentan limitada detección del origen y comportamiento de estas cepas; debido a que el manejo terapéutico es diferente en una cepa

bacteriana cromosomal o plasmídica,⁽¹²⁾ lo que contribuye a la propagación de resistencia bacteriana en el ámbito clínico, por la transmisibilidad genética.⁽³⁾

La diferencia en la prevalencia de los genes se debe a varias razones, como el volumen de cepas evaluadas los géneros bacterianos, la región geográfica y plasticidad genética de las bacterias al exponerse a diferentes moléculas de antibióticos entre otras.⁽¹³⁾

Se estudiaron casos confirmados obtenidos de diferentes infecciones urinarias y respiratorias identificados en *E. cloacae* en el 34,67 % con fenotipo AmpC con detección de genes *MIR* y *DHA*, similar a lo obtenido en la tesis doctoral de Osante en España en donde la mayor frecuencia detectada con este fenotipo fue en *E. cloacae* en el 36 %.^(14,15) Dato que contrasta en frecuencia y tipo de muestra con estudios que informan la prevalencia en *E. coli* productora de pAmpC (60 %) aislada de infecciones urinarias, con genes frecuentes de *blaCIT*, *blaDHA/blaEBC* y *blaMOx*.⁽¹⁶⁾ Otros estudios de centros hospitalarios de Arabia Saudita presentaron resistencia al cefoxitina (38 %) confirmados en 36 aislamientos para pAmpC y detectando 24 aislamientos para el gen *DHA*.⁽¹⁷⁾

La investigación mostró que las AmpC con pruebas fenotípicas a nivel institucional presentan circulación en varios servicios. se observó que en los principales fueron UCI adultos 22,2 %, urgencias 22,2 % y cirugía general 20 %; se registran datos en un estudio realizado en Colombia las cepas con fenotipo AmpC mostraron distribución en todos los servicios de la institución: 51,9 % en hospitalización en adultos, 25,9 % en urgencias en adultos, 1,5 % en Unidad de Cuidado Intensivo, 3,9 % en Unidad de Cuidado Intermedio y 2,6 % en cirugía; la principal fuente anatómica fue la orina con un 44,1 % y líquido abdominal con un 9,1 %, lo que contrasta con el presente estudio.⁽¹⁸⁾

En los casos confirmados las principales fuentes fueron secreciones en un 26,6 %, orina 10 % y aspirado orotraqueal 15,5 %, resultado similar informado en otros estudios de identificación fenotípica y/o genotípica en hospitales donde los aislamientos AmpC provienen de muestras como secreciones de heridas quirúrgicas 36 %, orina 41 %, sangre 13 %, y secreciones respiratorias 10 % en servicios de Cirugía, Neurología, Neurocirugía y Unidades de Cuidados Intensivos.⁽¹⁹⁾

En relación con la distribución de las frecuencias de genes por servicios y muestras mostraron una distribución diferente; el servicio de urgencias fue en el que más se identificaron genes en el 15,5 %, seguido de cirugía general 11,1 %, medicina interna 6,6 %, el tipo de muestra más prevalente fue orina 11,1 %, seguido de muestras tomadas de procesos infecciosos respiratorios.

En las cepas de este estudio se obtuvo 100 % de resistencia a los antibióticos ampicilina, cefazolina, cefoxitina y ampicilina-sulbactam de la misma manera en datos mostrados por otros autores en estudios similares.⁽²⁰⁾

En la prueba de aproximación de discos realizada de 78 casos probables de β -lactamasas AmpC se obtuvo la confirmación de 45, similar a lo encontrado en estudio de Egipto realizado de aislados de bacilos gramnegativos los cuales detectaron AmpC en 47 aislamientos (75,8 %), según lo informado por los métodos fenotípico y con mejor resultado utilizando técnica de aproximación de discos.⁽²¹⁾

Existe controversia en algunas investigaciones donde no se han obtenido resultados con el uso de esta técnica. A pesar de que otros estudios se ha logrado obtener resultados positivos pero con bajos porcentajes de 1 286 aislamientos el $n= 45$ el (3,5 %) en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.⁽²²⁾ La prueba de aproximación de disco con ácido borónico y cefoxitina se ha utilizado para aislamientos de *K. pneumoniae* positivos para AmpC determinándose un resultado falso positivo; se expone que la prueba de combinación de discos con ácido borónico es potencialmente útil para laboratorios clínicos para la detección de AmpC mediada por plásmidos.⁽¹⁹⁾

Otros estudios confirman que las técnicas fenotípicas tiene baja sensibilidad de aislamientos como posibles productores de AmpC el casi 80 % fueron negativos para AmpC por otras metodologías, informes de laboratorio que podrían estar promoviendo que el clínico use moléculas de mayor espectro de acción actuando erróneamente.^(17,23) Por lo tanto, las pruebas fenotípicas no pueden clasificar entre las diversas familias de enzimas AmpC mediadas por plásmidos y también pueden no detectar las β -lactamasas de AmpC cromosómicas generalmente presentan un problema debido a resultados poco concluyentes.⁽²⁴⁾

La técnica molecular utilizada en el estudio confirmó el 40 % (18/45) la presencia de genes AmpC, sobre el total de las 78 cepas probables representa el 23 % en contraste con la técnica fenotípica de aproximación en disco el 57,6 % (45/78) lo

que sugiere la necesidad del seguimiento molecular y la exploración de las posibles causas que inducen a la expresión fenotípica del mecanismo de resistencia.

El cambio de distribución de frecuencias en servicio y muestras al identificar genes; se debe a que las cepas bacterianas poseen resistencias intrínsecas lo cual se expresa al exponerlos a varios antibióticos expresando resistencia a estos; es importante implementar medidas de contención para evitar su diseminación.

Según los resultados el perfil de resistencia de la comunidad podría estar impactando el ámbito hospitalario la mayoría de β -lactamasas AmpC detectadas son del servicio de urgencias y muestras de orina, los cuales podrían ser reingresos que no permiten reconocer el impacto real de estos aislados dentro de la epidemiología local, de ahí la necesidad de realizar más estudios que permitan conocer los genes que circulan en la comunidad y reconocer la variabilidad genética de estos microorganismos.

La detección oportuna de genes que codifican para β -lactamasas AmpC permite establecer estrategias para evitar la circulación mediada por plásmidos en hospitales y utilizar mejores opciones terapéuticas que no induzcan a otros mecanismos de resistencia.

Referencias bibliográficas

1. Kohlmann R, Bähr T, Gatermann SG. Species-specific mutation rates for ampC derepression in Enterobacterales with chromosomally encoded inducible AmpC β -lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(6):1530-6.
2. Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias gramnegativas en Colombia, 2001-2016. *Rev Biomédica.* 2019;39(1):199-220.
3. Ku Y-H, Lee M-F, Chuang Y-C, Yu W-L. Detection of plasmid-mediated β -Lactamase genes and emergence of a novel AmpC (CMH-1) in Enterobacter cloacae at a medical Center in Southern Taiwan. *JCM.* 2019;8(1):8.
4. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *JCM.* 2002;40(6):2153-62.

5. Velandia DPL, Caycedo MIT, Orduz LMC, Quiroga CFP. Determinación de genes que codifican la resistencia de betalactamasas de espectro extendido en bacilos gramnegativos aislados de urocultivos. ISUB. 2016;3(2):107-26.
6. Ghonaim R, Moaety H. Comparison between Multiplex PCR and Phenotypic Detection Methods for Identifying AmpC β -lactamases Among Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in Zagazig University Hospitals, Egypt. Clin Microbiol 2018, 7:3. Disponible en: <http://10.4172/2327-5073.1000313>
7. Ding J, Chen Z, Li Y, Zhang Q, Li X. Detection of integrons in *Escherichia coli* producing plasmid-mediated AmpC β -lactamases. Int J Clin Exp Med. 2019;12(2):1690-6.
8. Chakraborty A, Adhikari P, Shenoy S, Saralaya V. Characterization of plasmid mediated AmpC producing *Escherichia coli* clinical isolates from a tertiary care hospital in South India. Indian J Pathol Micr. 2014;57(2):255.
9. Liu X, Liu Y. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in *Escherichia coli*. Biomed Rep. 2016;4(6):687-90. Disponible en: <http://10.3892/br.2016.661>.
10. Reuland EA, Halaby T, Hays JP, de Jongh DM, Snetselaar HD, Van Keulen M, et al. Plasmid-mediated AmpC: prevalence in community-acquired isolates in Amsterdam, the Netherlands, and risk factors for carriage. PLoS One. 2015;10(1).
11. Khari FIM, Karunakaran R, Rosli R, Tay ST. Genotypic and phenotypic detection of AmpC β -lactamases in Enterobacter spp. isolated from a teaching hospital in Malaysia. PloS one. 2016;11(3).
12. Tamma PD, Doi Y, Bonomo RA, Johnson JK, Simner PJ. A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. Clin Infect Dis. 2019;69(8):1446-55.
13. Seral C, Gude MJ, Castillo FJ. Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. Rev Esp Quimioter. 2012;25(2).
14. Osante NP. Detección y bases genéticas de beta-lactamasas AmpC y carbapenemasas en aislados clínicos y comensales de enterobacterias [Tesis]. España: Universidad de La Rioja; 2015.
15. Ahmed SF, Ali MMM, Mohamed ZK, Moussa TA, Klena JD. Fecal carriage of extended-spectrum β -lactamasas and AmpC-producing *Escherichia coli* in a Libyan community. Ann Clin Microb Ant. 2014;13(1):22.

16. Lee C-H, Lee Y-T, Kung C-H, Ku W-W, Kuo S-C, Chen T-L, et al. Risk factors of community-onset urinary tract infections caused by plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015;48(3):269-75.
17. Abdalhamid B, Albusayan S, Shaikh A, Elhadi N, Aljindan R. Prevalence study of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible ampC from Saudi hospitals. *JMM.* 2017;66(9):1286-90.
18. Montaña ELV, Salguero JCS, Torres LFB, Ortega HD. β -lactamasas AmpC en bacilos gramnegativos aislados en una clínica de tercer nivel. *Revista Laboratorio Actual Current Laboratory Journal.* 2015;(46):11-9.
19. Japoni-Nejad A, Ghaznavi-Rad E, van Belkum A. Characterization of plasmid-mediated AmpC and carbapenemases among Iranian nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* using phenotyping and genotyping methods. *PHRP.* 2014;5(6):333-8.
20. Palmieri M, Schicklin S, Pelegrin AC, Chatellier S, Franceschi C, Mirande C, et al. Phenotypic and genomic characterization of AmpC-producing *Klebsiella pneumoniae* from Korea. *Ann Lab Med.* 2018;38(4):367-70.
21. Wassef M, Behiry I, Younan M, El Guindy N, Mostafa S, Abada E. Genotypic identification of AmpC β -lactamases production in gramnegative Bacilli isolates. *JJM.* 2014;7(1).
22. Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and detection of AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center. *JCM.* 2000;38(5):1791-6.
23. Kazi M, Ajbani K, Tornheim JA, Shetty A, Rodrigues C. Multiplex PCR to detect pAmpC β -lactamases among enterobacteriaceae at a tertiary care laboratory in Mumbai, India. *Microbiology.* 2018;165(2):246-50.
24. Zorgani A, Daw H, Sufya N, Bashein A, Elahmer O, Chouchani C. Co-Occurrence of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase Activity Among *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *TOMICROJ.* 2017;11:195.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Diana Patricia Mora Moreno: Contribución en la idea y diseño del estudio, recolección de datos, revisión bibliográfica, trabajo de laboratorio, interpretación de datos, redacción del artículo, revisión crítica de la versión final y su aprobación.

María Inés Torres Caycedo: Diseño del estudio, revisión bibliográfica, interpretación de datos, redacción del artículo y revisión crítica de la versión final y su aprobación.

Otto Alberto Sussman Peña: Análisis de datos, revisión crítica de la versión final y su aprobación.

Financiación

Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia.

ESE Hospital Universitario San Rafael Tunja, Colombia.