






Artículo Original

Detección de bacterias multi-drogo resistentes en aguas de Establecimientos de Salud

Detection of multi-drug resistant bacteria in water of Health Centers

 Kennedy Cuevas, Cristel Iona¹;  Estigarribia Sanabria, Gladys Mercedes²;  González Vera, Grisell Anabel²;  Cabriza Álvarez, Cindy Gabriela²;  Ramírez Godoy, Elsi Johana²

¹Universidad Nacional de Caaguazú (UNCA), Facultad de Ciencias Médicas (FCM). Coronel Oviedo, Paraguay.

²Universidad Santa Clara de Asís (USCA), Facultad de Ciencias de la Salud. Caaguazú, Paraguay.

Como referenciar éste artículo | How to reference this article:

Kennedy Cuevas C, Estigarribia Sanabria G, González Vera G, Cabriza Álvarez C, Ramírez Godoy E. Detección de bacterias multi-drogo resistentes en aguas de Establecimientos de Salud. *An. Fac. Cienc. Méd. (Asunción)*, Diciembre - 2024; 57(3): 17-27

RESUMEN

Introducción: La contaminación microbiológica de las aguas de los Hospitales puede estar asociada a la aparición de brotes de infecciones y los microorganismos resistentes a antimicrobianos pueden proliferar en aguas que no se tratan debidamente. **Objetivo:** Evaluar los perfiles de resistencia de cepas bacterianas aisladas en muestras de agua de Establecimientos Sanitarios. **Materiales y métodos:** estudio descriptivo, transversal. Se efectuaron pruebas de sensibilidad a 55 cepas bacterianas aisladas de muestras de agua potable de tanques y de agua tratada de pozos artesianos de Establecimientos Sanitarios de 22 distritos del Departamento Caaguazú. Las técnicas utilizadas fueron antibiogramas (Kirby-Bauer), técnicas fenotípicas y pruebas enzimáticas (Rapidec carba NP). Los resultados se interpretaron acorde al Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). **Resultados:** Se observaron mayormente perfiles de resistencia intrínsecos; en los aislados de Enterobacterales se hallaron Betalactamasas tipo AmpC, Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) y Carbapenemasas, en los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* se observaron Betalactamasas tipo AmpC. No obstante, se detectaron 13,3% aislados multidrogoresistentes de la especie complejo *Enterobacter cloacae*. **Conclusión:** Debido al hallazgo de cepas con alta resistencia antibiótica, se recomienda optimizar las técnicas de tratamiento del agua y de mantenimiento de las fuentes de suministro de agua, en los Establecimientos Sanitarios, con el fin de erradicar las bacterias resistentes y prevenir brotes infecciosos.

Palabras clave: Agua, Antibacterianos, Bacteria, *Enterobacter cloacae*, Salud única.

Autor correspondiente: Lic. Cristel Iona Kennedy Cuevas. Universidad Nacional de Caaguazú. Facultad de Ciencias Médicas. Caaguazú, Paraguay E-mail: crkennedy63@fcmunca.edu.py

Editor responsable:  Prof. Dr. Hassel Jimmy Jiménez*,  Dra. Lourdes Talavera*.

*Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas. San Lorenzo, Paraguay.

Fecha de recepción el 12 de mayo del 2024; aceptado el 25 de septiembre del 2024.

ABSTRACT

Introduction: Microbiological contamination of Hospital water can be associated with the appearance of outbreaks of infections and microorganism resistant to antimicrobials can proliferate in water that is not properly treated. **Objective:** To evaluate the resistance profiles of bacterial strains isolated in water samples from Health Centers. **Methodology:** descriptive, cross-sectional study. Sensitivity tests will be carried out on 55 bacterial strains isolated in samples of drinking water from tanks and treated water from artesian wells of health centers in the 22 districts of the Department of Caaguazú. The techniques used were antibiograms (Kirby-Bauer), phenotypic techniques and enzyme tests (Rapidec carba NP). The results were interpreted according to the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). **Results:** Intrinsic resistance profiles were mostly observed; AmpC-type Beta-lactamases, Extended Spectrum Beta-lactamases and Carbapenemases were found in the Enterobacterales strains. AmpC-type beta-lactamases were observed in *Pseudomonas aeruginosa* strains. Nevertheless, 13.3% multidrug-resistant strains of the *Enterobacter cloacae* Complex species were detected. **Conclusion:** Due to the finding of strains with high resistance to the antibiotics tested, it is recommended to optimize water treatment techniques and maintenance of water supply sources, of Health Centers, in order to eradicate resistant bacteria and prevent infectious outbreaks.

Keywords: water, anti-bacterial agents, bacteria, *Enterobacter cloacae*, One health.

Introducción

En la actualidad, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) considera que la Resistencia Bacteriana representa un grave problema para la Salud Pública. Las infecciones generadas por bacterias resistentes a la terapia antibiótica convencional, ocasionan 700.000 muertes por año y se estima que para el año 2050 la Resistencia Bacteriana ascenderá su mortalidad anual a 10.000.000 de muertes ⁽¹⁾.

Por otro lado, acorde a la Guía para el control de Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud (IAAS), la contaminación microbiológica de las aguas de los Hospitales puede estar asociada a la aparición de brotes de infecciones y dicha contaminación se relaciona a factores como las manos del personal y/o usuarios de los Hospitales, colonizadas como consecuencia de la alta carga bacteriana del agua y la acumulación de bio-películas en los tanques de suministro de agua, debido a la cloración deficiente y al mal diseño del tanque ⁽²⁾.

Para determinar la existencia de contaminación microbiológica en el agua, se tienen en cuenta distintas normativas en cada país. En Paraguay, el Instituto Nacional de Tecnología,

Normalización y Metrología (INTN), en la norma NP 24-001-80-2001 (INTN 2001), establece que para calificar como potable, el agua debe tener recuento de heterótrofos totales inferior a 500 UFC/mL y ausencia de coliformes totales, coliformes fecales y *Pseudomonas aeruginosa* ⁽³⁾.

Aunque las normativas abarcan el control de la presencia de bacterias con potencial patógeno, las mismas no contemplan si se trata de bacterias resistentes, capaces de transferir sus genes de resistencia y propiciar la aparición de brotes de infecciones nosocomiales.

Las bacterias multi-drogo resistentes (MDR) son bacterias resistentes a la acción de 3 clases de antibióticos o más. Las bacterias Gram (-) MDR a menudo resisten penicilinas, cefalosporinas e incluso carbapenémicos, dejando como única alternativa la terapia con fármacos nefrotóxicos como la colistina ⁽⁴⁾.

Existen estudios que han aislado *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en muestras de agua

potable, *Escherichia coli* MDR en muestras de agua efluente de Hospitales, y *Pseudomonas aeruginosa* formadora de biopelícula en muestras de agua potable ^(5,6).

La detección de bacterias con multi-resistencia en agua de hospital, requiere la aplicación de medidas con carácter urgente; debido a que las bacterias MDR son capaces de presentar una combinación de mecanismos de resistencia como BLEE con sobreproducción de bombas de eflujo, y por ende, son las que tienen mayor capacidad de actuar como vector en la propagación de genes de resistencia, de una cepa ambiental a otra, a través de las conexiones de agua, como los alcantarillados municipales ^(6,7).

En consecuencia, el objeto de este estudio fue evaluar el perfil de resistencia de las cepas bacterianas aisladas en muestras de aguas de Establecimientos de Salud.

Materiales y Métodos

Este es un estudio observacional descriptivo, transversal. El muestreo se realizó en un estudio preliminar ⁽⁸⁾, que se efectuó durante los meses de octubre hasta diciembre del año 2020, acorde a las directrices de la Norma NP 24 005 81 ⁽⁹⁾.

Se incluyeron las muestras que provenían de Establecimientos de Salud urbano y rural, de los 22 distritos del Departamento de Caaguazú, de Paraguay. En dicho estudio preliminar, se analizaron un total de 104 muestras de agua (80 de agua tratada de pozos artesianos y 24 de agua potable de tanques), y se identificaron 55 aislados bacterianos con potencial patógeno.

Los aislamientos con potencial patógeno fueron de las especies *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter brakii*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa*.

En el Procesamiento de muestras, en el estudio preliminar, se utilizaron sistema miniaturizado API 20 E para la identificación de las especies

de Enterobacterales y sistema miniaturizado API 20 NE para la identificación de la especie *Pseudomonas aeruginosa*.

En este estudio que inicio su procesamiento el mes de julio del año 2021, se empezó con el descongelamiento de las cepas aisladas, las cuales fueron almacenadas en medio Skim milk y conservadas a -80°C. El descongelado se realizó en estufas a 37°C y luego se re-aislaron las colonias de Enterobacterales en medio MacConkey y las colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en medio Cetrimide.

Una vez que se obtuvieron cultivos frescos y puros, se efectuaron antibiogramas a las 55 cepas identificadas, utilizando placas con agar Mueller hinton y discos de antibióticos: amoxicilina con ácido clavulánico (AMC), aztreonam (ATM), amikacina (AK), ceftazidime (CAZ), ciprofloxacina (CIP), colistina (CT), ceftriaxona (CTX), ácido etilendiaminotetraacético con mercaptoacetato de sodio (EDTA/SMA), cefoxitina (FOX), cefepime (FEP), gentamicina (GEN), imipenem (IMP), cefalotina (KF), levofloxacina (LEV), meropenem (MEM), trimetoprima sulfametoxazol (SXT), piperacilina tazobactam (TZP), con el método de difusión de Kirby-Bauer ⁽¹⁰⁾.

También se observó si había producción de: AmpC, BLEE y Carbapenemasas, a través de técnicas fenotípicas. Para AmpC se usó la técnica de aproximación de discos de CAZ, IMP y TZP, para BLEE se utilizó la técnica de sinergia con los discos de AMC, ATM, CAZ, CTX, FEP y para Carbapenemasas se realizó prueba enzimática, con test rápido (Rapidec carba NP) ⁽¹¹⁻¹³⁾.

Para la interpretación de los antibiogramas, se tuvieron en cuenta los puntos de corte de los lineamientos del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) ⁽¹⁴⁾.

Análisis de datos obtenidos.

Los datos fueron cargados en planilla electrónica Microsoft Office Excel 2017© y posteriormente se exportaron al paquete de

software estadístico STATA 14.0 ® (Stata Corporation, College Station, Texas, USA), para su procesamiento estadístico.

Aspectos éticos.

El protocolo de este trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Santa Clara de Asís (USCA). Resolución N°002/2020.

Además, este estudio cuenta con los permisos, de los directivos de cada uno de los Centros de Salud involucrados.

Resultados

De las 104 muestras de agua analizadas, se aislaron 55 cepas con potencial patógeno en las cuales se efectuaron pruebas de sensibilidad antibiótica. En las cepas de complejo *Enterobacter cloacae* (n= 16), se observó 100% de resistencia a cefalosporinas de primera y segunda generación (KF, FOX) y a AMC, 53,3% de resistencia a cefalosporina de tercera generación (CTX) e IMP, 26,7% de resistencia a SXT y 13,3% de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (CAZ, FEP), aminoglucósidos (AK, GEN) y al resto de los carbapenémicos (MEM, ATM). En las cepas de *Escherichia coli* (n= 10), se detectó 100% resistencia cefalosporina

de primera (KF), 36,4% de resistencia a cefalosporinas de segunda generación (FOX), AMC, TZP y AK y 18,2% de resistencia a cefalosporinas de tercera (CTX) y SXT. En las cepas de *Citrobacter braakii* (n=8) se constató 100% de resistencia a cefalosporinas de primera y segunda generación (KF, FOX), y a AMC, 71,4% de resistencia a IMP y 28,6% de resistencia a cefalosporina de tercera (CTX). En las cepas de *Citrobacter freundii* (n=7) se visualizó 100% de resistencia a cefalosporinas de primera y segunda generación (KF, FOX) y a AMC, 28,6% de resistencia a IMP, 14,3% de resistencia a TZP y cefalosporinas de tercera generación (CTX). En las cepas de *Klebsiella pneumoniae* (n=5) se visualizó 100% de resistencia a cefalosporina de primera generación (KF). En las cepas de *Citrobacter koseri* (n=4) se observó 100% de resistencia a cefalosporina de primera generación (KF), 40% de resistencia a AMC y 20% de resistencia a cefalosporina de segunda generación (FOX), IMP y TZP. En las cepas de *Klebsiella oxytoca* (n=3) se constató 100% de resistencia a cefalosporinas de primera y segunda generación (KF, FOX) y 66,7% a AMC. En las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (n=2) se constató 100% de resistencia a cefalosporina de tercera generación (CTX) y AMC y 66,7% de resistencia a otra cefalosporina de tercera generación (CAZ). Tabla 1.

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
<i>Enterobacter cloacae</i> (n=16)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	0	-	100
Cefotaxima	26,7	20	53,3
Ceftazidima	80	6,7	13,3
Cefepime	86,7	-	13,3
Amoxilina clavulanica	-	-	100
Piperacilina tazobactam	33,3	40	26,7
Trimetoprima sulfametoxazol	86,7	-	13,3
Amikacina	66,8	19,9	13,3
Gentamicina	86,7	-	13,3

Continúa →

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Imipenem	13,3	33,4	53,3
Meropenem	53,3	33,4	13,3
Aztrezonam	86,7	-	13,3
<i>Escherichia coli</i> (n=10)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	45,4	18,2	36,4
Cefotaxima	81,8	-	18,2
Ceftazidima	81,8	18,2	-
Cefepime	100	-	-
Amoxilina clavulanica	63,6	-	36,4
Piperacilina tazobactam	63,6	40	36,4
Trimetoprima sulfametoxazol	81,8	-	18,2
Amikacina	63,6	-	36,4
Gentamicina	81,8	18,2	-
Imipenem	63,6	36,4	-
Meropenem	81,8	18,2	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Citrobacter braakii</i> (n=8)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	-	-	100
Cefotaxima	14,3	57,1	28,6
Ceftazidima	85,7	14,3	-
Cefepime	100	-	-
Amoxilina clavulanica	-	-	100
Piperacilina tazobactam	14,3	85,7	-
Trimetoprima sulfametoxazol	100	-	-
Amikacina	85,7	14,3	-
Gentamicina	100	-	-
Imipenem	14,3	14,3	71,4
Meropenem	71,4	28,6	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Citrobacter freundii</i> (n=7)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	-	-	100
Cefotaxima	42,9	42,9	14,3
Ceftazidima	100	-	-
Cefepime	85,7	14,3	-
Amoxilina clavulanica	-	-	100
Piperacilina tazobactam	57,1	28,6	14,3

Continua →

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Trimetoprima sulfametoxazol	100	-	-
Amikacina	71,4	28,6	-
Gentamicina	100	-	-
Imipenem	14,3	57,1	28,6
Meropenem	71,4	28,6	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=5)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	100	-	-
Cefotaxima	66,7	33,3	-
Ceftazidima	100	-	-
Cefepime	100	-	-
Amoxilina clavulánica	100	-	-
Piperacilina tazobactam	-	100	-
Trimetoprima sulfametoxazol	100	-	-
Amikacina	100	-	-
Gentamicina	100	-	-
Imipenem	-	100	-
Meropenem	66,7	33,3	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Citrobacter koseri</i> (n=4)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	-	80	20
Cefotaxima	60	40	-
Ceftazidima	60	40	-
Cefepime	80	20	-
Amoxilina clavulánica	-	60	40
Piperacilina tazobactam	20	60	20
Trimetoprima sulfametoxazol	100	-	-
Amikacina	100	-	-
Gentamicina	100	-	-
Imipenem	40	40	20
Meropenem	60	40	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i> (n=3)			
Cefalotina	-	-	100
Cefoxitina	-	-	100
Cefotaxima	100	-	-
Ceftazidima	100	-	-

Continúa →

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Cefepime	100	-	-
Amoxilina clavulánica	-	33,3	66,7
Piperacilina tazobactam	66,7	33,3	-
Trimetoprima sulfametoxazol	100	-	-
Amikacina	100	-	-
Gentamicina	100	-	-
Imipenem	-	100	-
Meropenem	66,7	33,3	-
Aztrezonam	100	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=2)			
Cefotaxima	-	-	100
Ceftazidima	33,3	-	66,7
Cefepime	100	-	-
Amoxilina clavulanica	-	-	100
Piperacilina tazobactam	100	-	-
Ciprofloxacina	100	-	-
Levofloxacina	100	-	-
Amikacina	100	-	-
Gentamicina	33,3	66,7	-
Imipenem	100	-	-
Meropenem	100	-	-
Aztrezonam	100	-	-

Tabla 1. Perfil de resistencia de los aislamientos bacterianos de las muestras de agua de los Establecimientos de Salud (%). N=55.

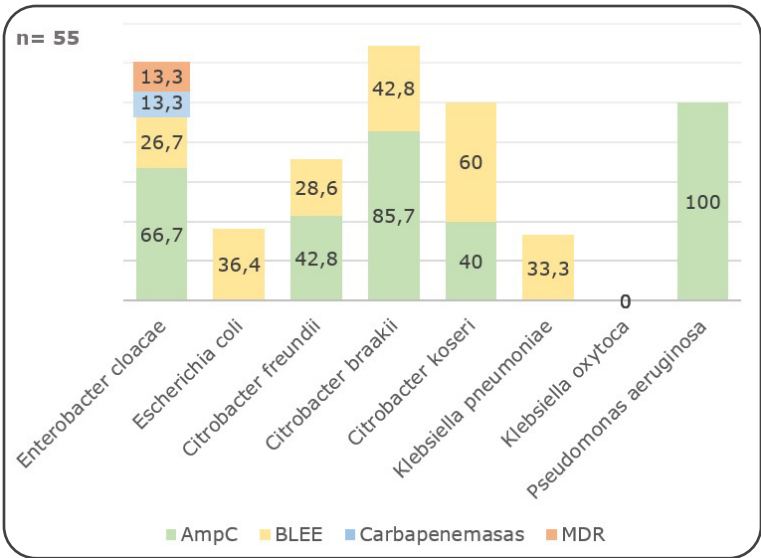


Figura 1. Detección AmpC, BLEE, Carbapenemasas y MDR en los aislamientos bacterianos de muestras de agua de Establecimientos de Salud (%).

En cuanto a los mecanismos de resistencia, se detectó Betalactamasas tipo AmpC en 100% de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, en 85,7% de las cepas de *Citrobacter braakii*, en 66,7% de las cepas de complejo *Enterobacter cloacae*, en 42,8% de las cepas de *Citrobacter freundii* y en 40% de las cepas de *Citrobacter koseri*. Se constató presencia de BLEE en 60% de las cepas de *Citrobacter koseri*, en 42,8% de las cepas de *Citrobacter braakii*, en 36,4% de las cepas de *Escherichia coli*, en 33,3% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae*, y en 28,6% de las cepas de *Citrobacter freundii*. También se observó producción de Carbapenemasas en 13,3% de las cepas de complejo *Enterobacter cloacae* y se confirmó multi-drogo resistencia en 13,3% de las cepas de complejo *Enterobacter cloacae*. **Figura 1.**

Además, se observó la aparición en simultáneo, de Betalactamasas tipo AmpC y BLEE en 6 (10%) de los aislamientos, de las especies *Enterobacter cloacae* (5%), *Citrobacter Braakii* (3,3%) y *Citrobacter freundii* (1,7%). También la conjunción de Betalactamasas tipo AmpC con Carbapenemasas en 2 (3,3%) de las cepas de la especie complejo *Enterobacter cloacae*, las cuales resultaron ser MDR.

Discusión

En esta investigación se detectaron aislados bacterianos resistentes en muestras de agua de establecimientos de salud (agua potable de tanques y agua tratada de pozos artesianos) y aunque en la mayoría se pudo observar el comportamiento intrínseco de cada especie, se destacan los siguientes hechos:

- En los aislados de complejo *Enterobacter cloacae* se pudo observar resistencias propias de la especie, resistencia a cefalosporinas de las cuatro generaciones, resistencia, disociación de resistencia a carbapenémicos y producción de AmpC, BLEE y Carbapenemasas, hallazgo semejante a estudios como el de Lépesová et al, que aisló *Enterobacter cloacae* BLEE en muestras de agua residual de Hospitales y el de Martins et al, que halló *Enterobacter* spp. resistente a dos grupos de antimicrobianos

en muestras de agua para abastecimiento comunitario ^(7,15).

Las resistencias a cefalotina, cefoxitina y amoxicilina clavulánica son intrínsecas de la especie, cuando se genera Betalactamasas tipo AmpC de clase C, la resistencia a ceftazidima, cefotaxima y aztreonam se presenta cuando hay producción de Betalactamasas tipo AmpC dereprimida y se amplía la hidrólisis. En los casos donde hubo resistencia a imipenem con sensibilidad a meropenem, se podría tratar de un mecanismo de resistencia adquirida, que otorga impermeabilidad (AmpC + déficit de porina Opr D2), mecanismo que es con frecuencia observado en *Pseudomonas*, pero que pudo haber sido adquirido por la coexistencia en los tanques o pozos de agua de ambas especies ^(11,16-19).

En cuanto a la aparición de resistencia a cefalosporina de cuarta generación, aminoglúcidos y carbapenémicos se debió a la generación de carbapenemasas. Respecto a la presencia de AmpC y BLEE, ambas son consideradas betalactamasas propias de la especie, pero en el caso de la producción de carbapenemasas, esto podría atribuirse a la mutación cromosómica y/o adquisición de mecanismos plásmidicos, mutación que pudo estar propiciada por las técnicas de saneamiento deficientes de los tanques y pozos de suministro de agua, puesto que la cloración no es un método efectivo para eliminar microorganismos y solo favorece la generación de mayor resistencia bacteriana ^(17,18,20,21,22).

- En parte de los aislados de *Escherichia coli* se pudo observar resistencia a cefalosporinas, betalactámicos y aminoglúcidos, con una resistencia disociada a carbapenémicos. Además, en los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* se constató la producción de BLEE (36,4% y 33,3%). Este resultado es comparable con investigaciones como la de Mahmud et al, que halló 17,2% de *E. coli* productora de BLEE en muestras de agua potable comunitaria ⁽²²⁾ y como la de Lépesová et al, que encontró 70% de *E. coli*

productora de BLEE en muestras de agua residual de Hospitales ⁽⁷⁾.

En los aislados de *Escherichia coli*, la resistencia intermedia a imipenem y meropenem acompañada de sensibilidad a aztreonam, podría deberse a la generación de metalobetalactamasas, lo cual también explicaría la resistencia que los aislados presentaron a piperacilina tazobactam, cefalosporinas de tercera generación y aminoglucósidos. En cuanto al hallazgo de BLEE, en las dos especies citadas, es considerado un comportamiento previsible, puesto que son las dos especies que generan con mayor frecuencia este tipo de betalactamasas. Se destaca que la aparición de metalobetalactamasas en la especie *E. coli*, podría deberse a transferencia horizontal de genes resistencia de especies del género *Pseudomonas* dentro de los tanques y pozos de agua con un mantenimiento irregular ^(18,21,23,24).

- En los aislados de *Citrobacter* (*braakii*, *freundii* y *koseri*) se hallaron en su mayoría resistencias y mecanismos intrínsecos del género, como producción de AmpC, pero también se observó disociación de resistencia a carbapenémicos y producción de BLEE, resultado que podría indicar transferencia de mecanismos de resistencia.

Los hallazgos son similares al estudio de Lépesová et al, que halló *Citrobacter freundii* productora de BLEE en muestras de agua residual de Hospitales de República Checa y Eslovaquia ⁽⁷⁾; pero difiere del estudio de Martins et al, que aisló *Citrobacter* spp. sensible a todos los grupos de antimicrobianos en muestras de aguas de fuentes de abastecimiento público de la ciudad de San Paulo ⁽¹⁵⁾.

Respecto a las tres especies del género *Citrobacter*, la detección de Betalactamasas de tipo AmpC, es atribuible a la naturaleza de la especie y en el caso de la presencia de BLEE y la resistencia a imipenem con sensibilidad a meropenem, estos mecanismos pudieron darse debido a la coexistencia de especies

dentro de los tanques y pozos de agua, en conjunción con un mal mantenimiento, favoreciéndose así la transferencia de resistencia ^(17,18,20,23).

- En los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* se detectó resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y producción de betalactamasas AmpC, este hallazgo se puede comparar con investigaciones como la de Guerrero et al, que detectó 80% de presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de agua potable ⁽²⁵⁾ y la de Suman et al, que halló *Pseudomonas aeruginosa* resistente a gentamicina en muestras de agua de servicios de hemodiálisis ⁽²⁶⁾.

Referente a la resistencia de los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* a cefalosporinas de tercera generación, dicha resistencia se debería a las betalactamasas AmpC cromosómica inductible y en cuanto a la producción de AmpC, la presencia de este mecanismo de resistencia es considerada una característica intrínseca de la especie ⁽¹¹⁾.

- Otro hallazgo interesante, es que en algunos de los aislados de Complejo *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii* se constató sensibilidad cefepime acompañada de resistencia a ceftazidima, hecho que podría indicar presencia de enzimas tipo OXA, lo cual se asemeja a los resultados de estudios como el Mahmoud et al, que halló *Escherichia coli* productora de carbapenemasas OXA-48 en muestras de agua potable ⁽²⁷⁾ y como el de Lépesová et al, que aisló *Citrobacter freundii* productora de betalactamasas OXA en muestras de agua residual de hospitales ⁽⁷⁾.

La presunta presencia de OXA, podría deberse al traspaso de genes por mecanismos plásmidicos, dado a que este fenómeno es bastante frecuente entre las distintas especies de Enterobacterales ⁽²⁸⁾.

- Adicionalmente, se hallaron dos aislados MDR, de las especies Complejo *Enterobacter cloacae*, hallazgo que coincide con otros trabajos que aislaron *Enterobacter* spp. resistente en muestras de agua potable y de agua de efluentes hospitalarios ^(7,15,29).

Con respecto a la detección de aislados MDR, esto podría haberse dado por transferencia genética, dado a que hay evidencia de que tanto los Gram (-) fermentadores como los no fermentadores, pueden transferir sus mecanismos de resistencia ^(23,28).

Los principales motivos por los cuales se habría dado el crecimiento de bacterias resistentes, radican en la fuente de suministro del agua. En las muestras cuya fuente fue pozos artesianos, el tratamiento para potabilizar el agua suele ser realizado por personal del establecimiento de salud, muchas veces sin un debido adiestramiento y/o actualización respecto a los productos y a la frecuencia con la cual se debería hacer el tratamiento.

En las muestras de agua cuya fuente fue tanques de agua potable, los tanques estaban abastecidos por empresas de servicio público, con una adecuada instrucción respecto a los tratamientos aplicados, pero se cometerían errores en la desinfección y en el mantenimiento del tanque, sobre todo porque se acostumbra utilizar únicamente productos a base de cloro y el desagüe con limpieza se estaría efectuando con una frecuencia inferior a la recomendada.

Cabe destacar, que los reservorios como tanques y pozos con agua con un pobre saneamiento se convierten en un medio ideal para la proliferación de microorganismos. Puesto que la formación de biofilm por parte de las especies del género *Pseudomonas* puede disminuir las concentraciones de cloro y puede propiciar el mal flujo del agua en las conexiones, facilitándose así la acumulación de microorganismos de varias especies en los ductos o cañerías de distribución del agua, dando como resultado una conjunción de factores que predisponen la transferencia horizontal de genes de resistencia ^(5,28,29).

Considerando los hallazgos de este estudio, aconsejamos que se optimicen las técnicas de tratamiento del agua y de mantenimiento de los reservorios que proveen de agua a los establecimientos sanitarios, para así lograr

erradicar a las bacterias resistentes y prevenir posibles brotes infecciosos en los centros estudiados.

Contribución de los autores:

CIKC y GMES: concepción del diseño del estudio.

CIKC, EJRG, GAGV y CGCA: revisión de literatura.

GMES: administración de fondos.

GAGV: gestión de recursos materiales (insumos y reactivos).

GAGV, CGCA, EJRG: recolección de muestras.

EJRG, GAGV y CGCA: preparación previa de muestras (descongelamiento y cultivo).

CIKC: procesamiento de muestras microbiológicas (pruebas de sensibilidad, fenotípicas y enzimáticas) e interpretación de resultados.

CIKC: análisis de datos, con confección de tablas y figuras.

CIKC: redacción del borrador de manuscrito.

GMES: revisión crítica del borrador de manuscrito.

CIKC: edición de versión final del manuscrito.

Conflicto de intereses: Los autores no reportan conflicto de interés.

Fuente de Financiación: Los insumos de laboratorio fueron financiados por la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Santa Clara de Asís (USCA).

Referencias Bibliográficas

1. Maguiña Vargas C. Infecciones nosocomiales. Acta Med Perú. 2016;33(3):175-7. https://acrobat.adobe.com/?x_api_client_id=bookmark&x_api_client_location=Reader
2. Mehtar S. Agua del Hospital. En: International Society for Infectious Diseases, colaborador. Guía para el control de infecciones asociadas a la atención en salud. Brooklyn: ISID;2018. pp.1-11.
3. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Norma Paraguaya NP 24-001-80 agua potable especificaciones. Asunción: INTN; 2001.
4. JiménezMA, GalasM, CorsoA, HormazábalJC, DuarteC, Salgado N, et al. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Rev Panam Salud Publica. 2019; 43(65):1-8. <https://dx.doi.org/10.26633%2FRPSP.2019.65>.
5. Bressler D, Balzer M, Dannehl A, Flemming H, Wingender J. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in drinking- water biofilms on elastomeric material. WSTWS. 2009;9(1): 81-87. <https://doi.org/10.2166/WS.2009.026>.
6. Akther S, Debnath T, Hassan M. Multidrug Resistant *E. coli* in Hospital Waste Water: A Potential Concern for Public Health. Adv Biotech & Micro. 2018;8(1): 1-4. <https://doi.org/10.19080/AIBM.2018.08.555729>.
7. Lépesová K, Olejníková P, Mackuřák T, Cverenkárová

- K, Krahulcová M, Bírošová L. Hospital Wastewater-Important Source of Multidrug Resistant Coliform Bacteria with ESBL-Production. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Oct 26;17(21):7827. doi: 10.3390/ijerph17217827. PMID: 33114613; PMCID: PMC7663260.
8. Estigarribia G, Kennedy C, Gonzalez G, Cabriza C. Calidad microbiológica del agua procedente de tanques y pozos artesianos de establecimientos sanitarios. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2023; 60:1-13
9. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Norma paraguaya 24 005 81: Toma de muestras para el análisis físico-químico y bacteriológico de las aguas. Asunción: INTN; 1981.
10. Picazo J. Procedimientos de microbiología clínica. Métodos básicos para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos. SEIMC. 2000. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
11. Rojas M, Del Valle D. Betalactamasas tipo Amp C: Generalidades y métodos para detección fenotípica. *Bol Soc. Venez. Microbiol*. 2009; 29(2):78–83. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000200003&lng=es.
12. Lezameta L, Gonzáles E, Tamariz J. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido. *Rev perú med exp salud pública*. 2010; 27(3): 345-351. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000300006&lng=es.
13. CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. Ed.32°. 2022.
14. CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testin. Ed. 30°. 2020.
15. Martins A, Aguilar R, Ferreira LO, Licate MM, Delafiori CR, Pôrto SF. Resistencia a antimicrobianos de enterobacterias aisladas de aguas destinadas al abastecimiento público en la región centro-oeste del estado de São Paulo, Brasil. *Rev Pan Amaz Saude*. 2019; 10: e201900065. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223201900065>
16. 16 EUCAST. Expert Rules - Enterobacterales. 2019. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/2020/ExpertRules_V3.2_20190515_Enterobacterales.pdf.EUCAST.
17. Lopardo H. Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: Enterobacterias. Buenos Aires. AAM; 2016. <https://www.aam.org.ar/manual-microbiologia.php>.
18. EUCAST. Expert Rules - Resistance and unusual phenotypes. 2019. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/2020/Intrinsic_Resistance_and_Unusual_Phenotypes_Tables_v3.2_20200225.pdf.
19. Fica A. Resistencia antibiótica en bacilos gram negativos, cóceas gram positivas y anaerobios. implicancias terapéuticas. *Rev. Med. Clin. Condes*. 2014; 25 (3): 432-444.
20. Morejón GM. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med*. 2013; 52(4): 272-280.
21. García CT, Castillo MA, Salazar RD. Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Rev Cub Salud Pública*. 2014; 40(1): 129-135.
22. Mahmud ZH, Kabir MH, Ali S, Moniruzzaman M, Imran KM, Nafiz TN, et al. Extended-Spectrum Beta-Lactamase-producing *Escherichia coli* in drinking water samples from a forcibly displaced, sensely populated community Setting in Bangladesh. *Front. Public Health* 2020; 8(228): 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00228>.
23. von Wintersdorff CJ, Penders J, van Niekerk J, Mills ND, Majumder S, van Alphen LB, et al. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Front Microbiol*. 2016; 7:1-1. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>.
24. De Sousa De Abreu L, Chacare Herrera MR, Cuaical Ramos NM, Ashby JM. Primer aislamiento de *Escherichia coli* productora de carbapenemasa tipo New Delhi (NDM) en un hospital de Ciudad Guayana, Venezuela: A propósito de dos casos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol*. 2016; 36(2): 40-45.
25. Guerrero A, Canseco A, Dávila M, Gusils C, Ruiz M, Cárdenas G. Estudio de la Calidad Microbiológica en Aguas de Tucumán. *Ciencia*. 2010; (19):61-70.
26. Suman E, Varghese B, Joseph N, Nisha K, Kotian MS. The bacterial biofilms in dialysis water systems and the effect of the sub inhibitory concentrations of chlorine on them. *J Clin Diagn Res*. 2013 May;7(5):849-52. doi: 10.7860/JCDR/2013/5118.2956. Epub 2013; 1.PMID: 23814726; PMCID: PMC3681053.
27. Mahmoud NE, Altayb HN, Gurashi RM. Detection of Carbapenem-Resistant Genes in *Escherichia coli* Isolated from Drinking Water in Khartoum, Sudan. *J Environ Public Health*. 2020; 2571293. doi: 10.1155/2020/2571293. PMID: 32612664; PMCID: PMC7306079.
28. Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. *Front Microbiol*. 2018; 9: 1-28. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928>.
29. Odonkor ST, Addo KK. Prevalence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Drinking Water Sources. *Int J Microbiol*. 2018; 7204013. <https://doi.org/10.1155/2018/7204013>.