

DETECCIÓN DE BETA LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN ESCHERICHIA COLI Y KLEBSIELLA PNEUMONIAE MEDIANTE MÉTODO DE JARLIER.

Autores:

Dra. Padilla Chumacero Martha N. (1)

(1) Bacterióloga Hospital "Jaime Mendoza".

Docente Titular de Bacteriología. Facultad de Medicina UMRPSFXCH.

MS.c. Diagnóstico Laboratorial de Enfermedades Infecciosas.

Recepción: 30/Agosto/2011

Aceptación: 30/Septiembre/2011

RESUMEN

Las BLEE son enzimas de configuración plasmídica, producidas por enterobacterias que hidrolizan los antibióticos betalactámicos, incluyendo los que contienen el grupo oximino, como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación y el aztreonam. Son producidas comúnmente por *Klebsiella spp* y *Escherichia coli*, pero pueden aparecer en otros gramnegativos. Las fallas en su detección generan errores terapéuticos en la práctica clínica, por ello los laboratorios de bacteriología deben realizar la "lectura interpretada del antibiograma", donde se busca fenotípicamente factores de resistencia.

De 314 cepas estudiadas en el servicio de Bacteriología del Hospital "Jaime Mendoza" de la ciudad de Sucre, 45 corresponden a *Escherichia coli* y 26 a *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta lactamasa de espectro extendido.

Respecto a la edad, personas de 61 años y más fueron las que presentaron mayor prevalencia de infección por estas cepas.

Estas bacterias presentaron sensibilidad a imipenem, y en menor porcentaje a amikacina.

PALABRAS CLAVE:

Beta lactamasa de espectro extendido (BLEE), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

SUMMARY

The ESBL enzymes have plasmid configuration, are produced by enterobacteria that hydrolyze beta-lactam antibiotics, including those containing the oxyimino group, such as cephalosporins of third and fourth generation, and aztreonam. This enzymes are produced commonly by *Klebsiella spp* and *Escherichia coli*, but may appear in other gram-negative bacteria. The failure detecting them has generated therapeutic errors in clinical practice, so the bacteriology laboratories must perform the "interpretative reading of antibiogram" in order to search for phenotypic resistance factors.

Of 314 strains tested in the service of Bacteriology Hospital "Jaime Mendoza" of Sucre city, 45 correspond to *Escherichia coli* and 26 correspond to *Klebsiella pneumoniae* producing enzymes extended-spectrum beta-lactamase.

Regarding age, persons aged 61 and over were those that showed higher prevalence of infection with these strains.

These bacteria showed sensitivity to imipenem, and to a lesser percentage to amikacin.

KEYWORDS:

Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

INTRODUCCIÓN.-

La introducción de los antimicrobianos para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, ha sido uno de los más beneficiosos avances de la medicina moderna. Sin embargo, su uso favorece la selección de cepas resistentes que son capaces de diseminarse rápidamente. Así pues, con el transcurso del tiempo aumentan las tasas de resistencia antimicrobiana y los antibióticos pierden su eficacia. (7)

Resistencia bacteriana se define como aquel proceso por el cual las bacterias no se inhiben y/o destruyen en su interacción con los antimicrobianos a partir de su correspondiente dosificación y luego de su concentración fisiológica en el organismo y que obedece al establecimiento de por lo menos un mecanismo de resistencia generado cromosómica o extra cromosómicamente. (8)

El principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos y aminoglucósidos en enterobacterias es el enzimático, donde determinadas enzimas bacterianas reconocen a determinados betalactámicos o aminoglucósidos. (7)

La familia de los antibióticos betalactámicos son un grupo de antibióticos más numerosos y más usados en la práctica clínica. A lo largo de los años se han ido incorporando nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos, capaces de superar las resistencias adquiridas frente a sus predecesores.

Beta lactamasas.- Aunque la resistencia a los betalactámicos está definida por distintos mecanismos, el principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos en enterobacterias es el enzimático por producción de betalactamasas. Un ejemplo de esta situación constituye las cepas de *Enterobacter*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, donde existe una disminución de la permeabilidad asociada a una hiperproducción de beta lactamasa plasmídica en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. (5)

Se conocen más de 50 beta-lactamasas diferentes, la mayor parte producidas bajo el control de plásmidos bacterianos. Las cefalosporinas más recientes pueden inducir la producción de betalactamasa. (3)

Las beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), son actualmente las más importantes y estudiadas.

Beta lactamasas de espectro extendido (BLEE).- Las BLEE son enzimas de configuración plasmídica, producidas por enterobacterias que hidrolizan los antibióticos betalactámicos, incluyendo los que contienen el grupo oximino, como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación y el aztreonam, Las BLEE, no hidrolizan a las cefamicinas.

Las beta lactamasas de espectro extendido derivan por mutación de las betalactamasas de amplio espectro, presentes en la mayor parte de las enterobacterias y se encuentran con mayor frecuencia en *Klebsiella pneumoniae* y en *Escherichia coli*, aunque se han identificado también en otras especies.

Un estudio en el hospital Español de Rosario Argentina, muestra que los factores de riesgo relacionados con *K. pneumoniae* BLEE, fueron la adquisición nosocomial y el uso previo de ciprofloxacina. (6)

Con frecuencia estas bacterias productoras de BLEE, expresan resistencia a otros grupos de antimicrobianos incluidos los aminoglucósidos, quinolonas y cotrimoxazol. (6)

Si una bacteria es productora de betalactamasa de espectro extendido BLEE, se debe considerar como resistente a todas las cefalosporinas a excepción de cefamicinas y monobactamas, manteniendo la sensibilidad a los inhibidores de las-beta lactamasas y a las carbapenemasas. Se evita el uso clínico de cefamicinas (cefoxitina) debido a que conlleva el riesgo de selección de bacterias mutantes resistentes al antibiótico.

La detección de las beta lactamasas de espectro extendido no siempre es fácil, y debe tenerse en cuenta que pequeñas disminuciones de sensibilidad observadas en el antibiograma, a Cefalosporinas de tercera generación o presencia de sinergia entre Cefalosporinas de tercera generación o Cefalosporinas de cuarta generación y el ácido clavulánico, así como resistencia asociadas especialmente a aminoglucósidos, son indicativos de probable producción de BLEE. (5)

Lectura interpretada del antibiograma.- El antibiograma tiene como objetivo evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. En el transcurso de los años, los laboratorios comenzaron a analizar de manera sistemática los datos de sensibilidad del antibiograma, esencialmente a antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos, tratando de relacionar sus resultados con los posibles mecanismos de resistencia. Este análisis permitió detectar e identificar algunos mecanismos de resistencia, incluso antes de que éstos tuvieran verdadera trascendencia clínica. Este proceso se denominó "lectura interpretada del antibiograma" y se fundamentó en el conocimiento molecular de los mecanismos de resistencia y en la interpretación terapéutica de las pruebas de sensibilidad in vitro con el fin de mejorar la terapia antimicrobiana.

La lectura interpretada del antibiograma no debe confundirse con el proceso de simple interpretación de los resultados de las pruebas de sensibilidad por medio de los puntos de corte, debido a que la interpretación del antibiograma establece la probabilidad de éxito o de fracaso terapéutico, que se deriva de la utilización de los antimicrobianos frente a los microorganismos causantes de infección y estudiados en el antibiograma. (1)

Esta lectura interpretada del antibiograma, es la que actualmente todos los laboratorios de bacteriología realizan.

Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana en el laboratorio (antibiograma).-

Para realizar el antibiograma, se siguen las reglas de CLSI 2011 (Clinical and Laboratory Standards Institute).

El uso de más de una cefalosporina de tercera generación y aztreonam en el test, aumenta la probabilidad de detección de BLEE.

1.- El test inicial de tamizaje indica que halos menores o iguales a 27 mm en cefotaxima, 25 mm para ceftriaxona o a 22 mm para Ceftazidima, sugiere producción de BLEE. (2)

En el antibiograma se prueba la sensibilidad de otros antibióticos como quinolonas, aminoglucósidos, cotrimoxazol e imipenem, para ver opciones de tratamiento antimicrobiano.

2.- El test de Jarlier, test confirmatorio de BLEE (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología), utiliza la técnica del efecto de doble disco para detectar esta enzima.

Para realizar el test de Jarlier, se inoculó una placa de agar Muller Hinton con la cepa sospechosa, con una turbidez similar a la suspensión de 0,5 de Mc Farland, se colocó un disco de amoxicilina /ácido clavulánico (20/10 mcg) en el centro del agar y alrededor a 20 mm de distancia, discos de Ceftazidima (30mcg) y Cefotaxima (30 mcg), se incubó 24 horas a 37 °C. La presencia de BLEE se manifestó por el efecto sinérgico del inhibidor y los discos de cefalosporinas. Esta sinergia, es llamada "efecto huevo" o cola de pez (test de Jarlier). (4)

OBJETIVO GENERAL.-

- Determinar la prevalencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE, aisladas en el servicio de Bacteriología del Hospital "Jaime Mendoza" de Sucre, durante el año 2010.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.-

- Determinar la cantidad de cepas productoras y no productoras de BLEE.
- Establecer una relación con la edad

Detección de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* mediante método de Jarlier.

- Determinar la sensibilidad y resistencia de las cepas productoras de beta lactamasa de espectro extendido a otros antibióticos: Cotrimoxazol, amikacina, ciprofloxacina, gentamicina e imipenem.

MATERIAL Y MÉTODOS.-

Se revisaron los informes de los resultados de los cultivos realizados en el servicio de Bacteriología del Hospital "Jaime Mendoza" dependiente de la Caja Nacional de Sucre, donde se aislaron en distintas muestras de pacientes hospitalizados, cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras o no de beta lactamasa de espectro extendido.

Todas estas cepas fueron sometidas a test de Jarlier (discos de cefotaxima, ceftriaxona o

RESULTADOS.-

Ceftazidima colocadas a 20 mm alrededor del disco de Amoxicilina/ácido clavulánico o ampicilina/sulbactam), para observar la producción de beta lactamasa de espectro extendido (BLEE), además se probó en el antibiograma la susceptibilidad a otros antibióticos por ser opciones de tratamiento: Amikacina, Cotrimoxazol, Ciprofloxacina, Gentamicina e Imipenem, siguiendo las reglas del Laboratorio de Referencia Internacional (CLSI) y del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica (INLASA)

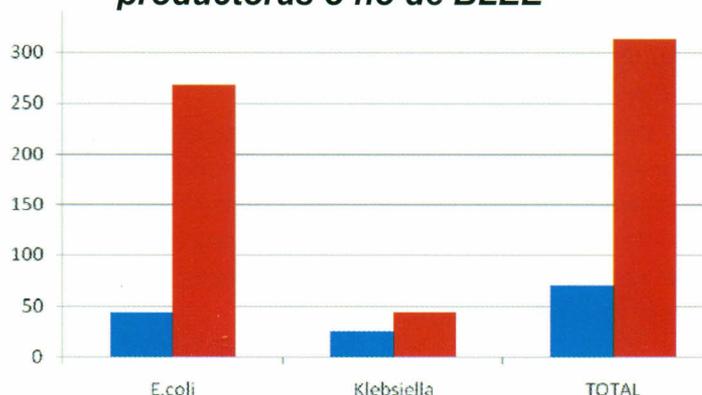
El control de calidad, se realizó mediante recomendaciones de CLSI e INLASA, con cepas ATCC.

Se estudiaron un total de 314 cepas, de las cuales 45 cepas de *Escherichia coli* y 26 de *Klebsiella pneumoniae* produjeron la enzima beta lactamasa de espectro extendido.

Cuadro Nº 1
Cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras y no productoras de BLEE

Bacteria	BLEE positivas		BLEE negativas	
	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	45	63.4	269	85,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	36.6	45	14,3
TOTAL	71	100	314	100

Gráfico Nº 1
Número de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras o no de BLEE



El cuadro y gráfico Nº 1, muestran que existen de un total de 314 cepas estudiadas; 45 cepas de *Escherichia coli* (63.4%) y 26 cepas de *Klebsiella*

pneumoniae (36.6%), son productoras de BLEE, con un total de 71 cepas. Las restantes cepas, no son productoras de esta enzima.

Cuadro N° 2
Relación entre las cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productoras de BLEE y la edad

Bacterias productoras de BLEE	EDAD (años)							
	0 -20		21 - 40		41 - 60		61 y más	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	0	0	3	50	7	46,7	45	63,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	100	3	50	8	53,3	26	36,6
TOTAL	3	100	6	100	15	100	71	100

El cuadro N° 2, muestra que el mayor número de cepas productoras de beta lactamasa de espectro extendido, fueron aisladas de pacientes

comprendidos entre 61 años y más, con un valor, para *Escherichia coli* de 45 y para *Klebsiella pneumoniae* de 26.

Cuadro N° 3
Sensibilidad y resistencia a otros antibióticos en cepas de Escherichia coli productoras de BLEE

Porcentaje de sensibilidad y resistencia a otros antibióticos					
<i>Escherichia coli</i>	Amikacina	Ciprofloxacina	Cotrimoxazol	Gentamicina	Imipenem
Sensible	75.6	0	15.6	15.6	100
Resistente	24.4	100	84.4	84.4	0

El Cuadro N° 3, muestra que no existe resistencia de las cepas de *Escherichia coli* a imipenem, la resistencia a Amikacina fue de 24,4%, a

ciprofloxacina del 100%, de cotrimoxazol y gentamicina del 84,4%

Cuadro N° 4
Sensibilidad y resistencia a otros antibióticos en cepas de Klebsiella pneumoniae productoras de BLEE

Porcentaje de sensibilidad y resistencia a otros antibióticos					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Amikacina	Ciprofloxacina	Cotrimoxazol	Gentamicina	Imipenem
Sensible	53.8	30.8	23.1	23.1	96.2
Resistente	46.2	69.2	76.9	76.9	3.8

El cuadro N° 4, muestra que existe una resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a imipenem del 3,8%,

a amikacina del 46.2%, ciprofloxacina 69,2%, cotrimoxazol y gentamicina del 76,9%.

