

Incidencia de β -lactamasas de espectro extendido en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile

Boris Barrera^(1, 2), Ana Canales⁽¹⁾, Pabla Martínez⁽¹⁾, Mario Vidal⁽¹⁾, Andrea Sakurada⁽³⁾, María Jesús Vial⁽³⁾.

Resumen

Las Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas de configuración plasmídica producidas por bacterias que hidrolizan los antibióticos betalactámicos. La aparición de cepas bacterianas productoras de BLEE, constituye un problema de salud pública que afecta a todo tipo de instituciones y a la comunidad en general. Este estudio tiene como objetivo determinar la incidencia de BLEE en pacientes hospitalizados del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Se estudió un total de 238 cepas en el periodo julio-agosto 2004; de las cuales 184 correspondieron a *E. coli*, 39 a *K. pneumoniae* y 15 a *K. oxytoca*, utilizándose el test confirmatorio de BLEE según estándar NCCLS 2004. Se encontró una incidencia de BLEE para *E. coli* de un 10.3%, para *K. pneumoniae* de 28.2 % y de *K. oxytoca* de 20%, respectivamente.

La distribución de los aislamientos de las cepas BLEE (+) en los distintos servicios del Hospital fue diversa: *E. coli* se encontró principalmente, en los servicios de medicina y cirugía, y *K. pneumoniae* en los servicios críticos.

Los resultados del estudio permitieron conocer la incidencia y distribución de BLEEs en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile y justificaron la implementación de esta técnica de diagnóstico como parte de la rutina del laboratorio de microbiología.

Summary

Betalactamic antibiotic are hydrolyzed by specific enzymes, named extended spectrum beta-lactamases of (ESBLs). They are encoded by a plasmid present in some bacteria strains. The presence of bacteria strains carrying these plasmids is a Public Health problem affecting Hospitals and all the community.

⁽¹⁾Tecnólogo Médico.

⁽²⁾Magíster en Microbiología.

⁽³⁾Médico especialista en Laboratorio Clínico.

The aim of this work is to study the incidence ESBLs in patients hospitalized at the Clinical Hospital of the University of Chile.

During July-August of 2004 we studied a total of 238 different strains of bacteria, including *E. coli* (184), *K. pneumoniae*⁽³⁹⁾ and *K. oxytoca* (15) using a specific test for ESBLs according to NCCLS 2004. We found an incidence of 10.3, 28.2 and 20% for *E. coli*, *K. pneumoniae* and *K. oxytoca*, respectively. *E. coli* was found mainly at the Surgery and Medicine Department, and *K. pneumoniae* was found in other critical services of our Hospital.

We could set up in our Laboratory a diagnostic test to evaluate the presence and distribution of different ESBLs in the Clinical Hospital of the University of Chile.

Introducción

En la década de los 80', se creó una nueva clase de antibióticos las oximino cefalosporinas, para tratamiento de infecciones severas causadas por bacterias Gram negativas, pero muy pronto apareció resistencia a estos antibióticos y debido a su amplio espectro de acción, se les llamo β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)⁽¹⁾.

Las BLEE son enzimas hidrolíticas derivadas de β -lactamasas llamadas TEM y SHV por una o más substituciones de aminoácidos que confieren una resistencia a los antibióticos oximino β -lactámicos; muchas de estas enzimas no muestran un aumento significativo en la concentración inhibitoria mínima (CIM) lo que dificulta su identificación. La actividad hidrolítica de las BLEE es inhibida in vitro por el ácido clavulánico^(2,3,4,5). Las BLEE mediadas por plásmidos se identificaron por primera vez en *Klebsiella pneumoniae* en Alemania en 1983^(2,4,7).

Desde la aparición de la primera cepa productora de BLEE, estos microorganismos se

han ido describiendo en diferentes partes del mundo. Además de conferir resistencia a todos los betalactámicos, excepto cefamicinas y carbapenems, las BLEE están asociadas con megaplasmidos transferibles (>100 Kda), que codifican frecuentemente resistencia cotransferida a aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol; estos megaplasmidos se diseminan rápidamente en los ambientes hospitalarios entre diferentes especies bacterianas. Además, por razones poco conocidas, las cepas BLEE (+) son más frecuentemente resistentes a quinolonas in vivo que las cepas no productoras de BLEE.^(1,2,3,4,6,7). Actualmente, se han descrito alrededor de 150 de estas enzimas y se les ha encontrado en una variedad de géneros bacterianos de enterobacterias; *E. coli* y *K. pneumoniae* principalmente, pero también descritas en *Enterobacter* spp, *Salmonella* spp, *Proteus* spp, *Citrobacter* spp, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Campylobacter jejuni*^(2,3,6).

Todo ello, determina que las opciones terapéuticas para las infecciones causadas por bacterias que producen BLEE sean muy limitadas⁽⁸⁾.

Las infecciones nosocomiales causadas por miembros de la familia Enterobacteriaceae productores de BLEE, son un importante problema de salud que se ha incrementado y diseminado rápidamente en todo el mundo. Los gérmenes productores de BLEE prolongan la duración de las hospitalizaciones y aumentan los costos del cuidado de los pacientes⁽²⁾.

Los resultados de estudios del Antimicrobial Resistance Surveillance Program (SENTRY) que monitorea la frecuencia de aparición y susceptibilidad antimicrobiana de patógenos causantes de infecciones en el mundo, informó en Latinoamérica entre 1997 y 1998 una alta prevalencia de BLEE en *E. coli* y *K. pneu-*

moniae las cuales superan ampliamente el 40%; frecuencias similares se encontraron en gérmenes aislados de neumonías, heridas, infecciones urinarias y bacteremias⁽⁹⁾. Estudios del National Nosocomial Infections Surveillance Systems (NNIS) realizado entre 1986 y 1993 en EE.UU. en cepas de *K. pneumoniae* informaron tasas de BLEE de hasta 58%⁽¹⁰⁾. Otro estudio realizado en 1998 por el programa de vigilancia epidemiológica Resisnet en Latinoamérica, informó que la prevalencia de BLEE por *E. coli* en algunos países llega casi a 65% y en *K. pneumoniae* la prevalencia es aun más alta llegando hasta 73%⁽¹¹⁾. Todos estos estudios muestran una variación geográfica en cuanto a la prevalencia de BLEE en *K. pneumoniae* y *E. coli* en el mundo⁽²⁾.

La pesquisa de BLEE en las bacterias no ha sido incorporada a la práctica rutinaria de los laboratorios de microbiología, en la mayoría de los centros asistenciales de nuestro país⁽²⁾. El método de detección descrito por la NCCLS para β -lactamasas de espectro extendido es solo para *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Escherichia coli*, siendo éste un procedimiento que utiliza el fenómeno sinérgico entre una cefalosporina de 3° generación (cefotaxima y ceftazidima) y ácido clavulánico (el cual es un inhibidor eficiente de BLEE), utilizando ensayos por difusión en agar con discos conteniendo estos compuestos⁽¹²⁾. El objetivo de este estudio fue conocer la incidencia de cepas productoras de BLEE en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Materiales y métodos

Se estudiaron 238 cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* provenientes de pacientes hospitalizados en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile entre el periodo de Julio y Agosto de 2004.

Todas las cepas fueron identificadas por el método tradicional, y el test de determinación de BLEE fue realizado según estándar NCCLS 2004 (M 100-S14) screening y confirmación⁽¹²⁾.

Se utilizó como controles: *Escherichia coli* ATCC 25922, control negativo; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, cepa productora de BLEE, como control positivo.

La recolección de muestras se hizo según manual de toma de muestra vigente.

El transporte de las muestras de exudados se realizó en medio Stuart. Las muestras de sangre fueron recolectadas en frascos de hemocultivos Bact/Alert Biomérieux, y las de orina en recipiente estéril. El Control de calidad interno se realizó con las cepas ATCC con una frecuencia de una vez a la semana utilizando el mismo procedimiento que el utilizado para las cepas en estudio.

Se registraran los resultados del control de calidad junto al resto del control interno del laboratorio.

Las cepas fueron conservadas en medio agar de conservación a temperatura ambiente y en oscuridad.

Resultados

De las 238 cepas estudiadas fueron identificadas como BLEE (+) 34, de las cuales 19 correspondieron *Escherichia coli*, 12 a *Klebsiella pneumoniae* y 3 a *Klebsiella oxytoca*, todas de pacientes hospitalizados (Tabla 1).

El origen de las cepas fue el siguiente: *Escherichia coli* se aisló principalmente, de pacientes de los servicios de Cirugía y Medicina con un 36.7 % y 15.8 % respectivamente (Tabla 2). *Klebsiella pneumoniae* se aisló fundamentalmente en los servicios críticos (Tabla 3) y *Klebsiella oxytoca* solo se aislaron 3 cepas de las cuales 2 eran de pacientes de servicios críticos (Tabla 4).

Tabla 1

Aislamiento bacterianos julio - agosto 2004 en el Laboratorio Clínico del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Tipo de bacteria	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
N° de aislamiento	184	39	15
Cepas BLEE (+)	19	12	3
% de BLEE	10.3	28.2	20

Tabla 2

Aislamiento de *Escherichia coli* (ECOL) BLEE positiva por servicio

Servicio	Cepas aisladas	% de ECOL
Cirugía	7	36.7
Medicina	3	15.8
Urología	2	10.5
Med. Física y Rehabilitación	2	10.5
Nefrología	1	5.3
Clinica psiquiátrica	1	5.3
Neurología	1	5.3
U.N.I.	1	5.3
Intermedio Quirúrgico	1	5.3
Total	19	100

Tabla 3

Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* (KLPN) BLEE positiva por servicio

Servicio	Cepas aisladas	% de KLPN
Intermedio Quirúrgico	3	27.2
Intermedio Cardiología	2	18.2
U.T.I.	1	9.1
Intermedio Médico	1	9.1
Pabellón Central	1	9.1
Unidad Coronaria	1	9.1
Cirugía	1	9.1
Pediatría	1	9.1
Total	11	100

Tabla 4

Aislamiento de *Klebsiella oxytoca* (KLOX) BLEE positiva por servicio

Servicio	Cepas aisladas	% de KLOX
Pediatría	1	33.3
Intermedio cardiología	1	33.3
Intermedio Quirúrgico	1	33.3
Total	3	100

Los sitios de aislamiento de estas cepas BLEE (+) fueron variados, pero se concentran en el caso de *Escherichia coli* en orina, *Klebsiella pneumoniae* en sangre y orina respectivamente (Tabla 5).

Discusión

En nuestro estudio, los porcentajes de cepas BLEE sobre el total de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* fueron de 10.3% y 28.2% respectivamente, con respecto a *K. oxytoca* dado el pequeño número de cepas aisladas el porcentaje encontrado no permite sacar conclusiones.

La distribución de estas cepas BLEE (+) en el Hospital en el caso de *E. coli*, fue principalmente, en los servicios de Cirugía y Medicina; y para *K. pneumoniae* es en los servicios críticos.

Tabla 5

Sitios de aislamientos de BLEE (+)

Sitios de aislamiento	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Orina	63%	25%	33,30%
Herida operatoria	16%	—	33,30%
Hemocultivos	—	25%	—
Colección intraabdominal	11%	—	—
Expectoración	5%	8,30%	—
Exudado de pierna	5%	—	33,30%
Exudado uretral	—	8,30%	—
Contenido vesicular	—	8,30%	—
Cultivo oseó	—	8,30%	—
Herida inguinal	—	8,30%	—
Exudado de gastrostomía	—	8,30%	—

Desde otro punto de vista el estudio nos permitió no sólo identificar las cepas BLEE (+), sino que además, implementar la técnica de determinación de BLEE como rutina en nuestro laboratorio.

La aparición de cepas productoras de BLEE ha constituido uno de los principales problemas de resistencia a los antimicrobianos durante las últimas dos décadas, dejando pocas alternativas de tratamiento para los pacientes, así como aumentando los costos por hospitalización, y prolongando las estadías hospitalarias.

Los porcentajes encontrados de cepas BLEE (+) en nuestro Hospital para *E.coli* (10.1%) coinciden con los datos del Programa SENTRY 1997-1999 para Latinoamérica 8.1%. En *K. pneumoniae* (28.2%) el porcentaje es un poco más alto 41.1%. Teniendo en cuenta que los datos del estudio SENTRY incluye a pacientes ambulatorios y hospitalizados.

Se puede concluir que los resultados demuestran una preocupante incidencia de cepas BLEE (+) en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Además, el trabajo demostró la importancia del método de identificación de BLEE como apoyo al diagnóstico clínico, lo que permite una gran ayuda a los médicos clínicos en la orientación de sus terapias diagnósticas, así como contribución del uso racional de los antimicrobianos.

Referencias

1. Bradford P. Extended-spectrum b-lactamases in the 21^o century: Characterization, epidemiology, and detection of the important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14: 933-951.
2. Martínez P, Mercado M, Máttar S. Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. *Colombia Medica* 2003; 34: 196-205.
3. Livermore D. b-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1985; 8: 557-584
4. Bush K, Jacoby G and Medeiros A. A functional classification scheme for b-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 1211-1233.
5. Tenover F, Mohammed MJ, Gorton T and Dembek Z. Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum b-lactamases: Survey of laboratories in connecticut. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 4065-4070.

6. Zemelman R, Valenzuela L, Dominguez M, Bello H, González G, Zemelman C. Detección de β -lactamasas de espectro extendido en el laboratorio de microbiología. *Rev Chil Infect.* 2002; 19: 92-95
7. Hernandez J, Pascual A, Canton R, Martinez-Martinez L, GEIH. Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21(2): 77-82.
8. Pujol M, Peña C. El significado clínico de la betalactamasas de espectro extendido. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21(2): 69-71.
9. Sader HS, Pfaller MA, Jones RN. Bacterial pathogens isolated from patient with blood-stream infection in Latin-America. 1997. Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from SENTRY antimicrobial surveillance program. *Braz J Infect Dis.* 1999; 3: 97-110.
10. Monnet DL, Biddle JW, Edwards JR. Evidence of interhospital transmission of extended-spectrum β -lactamases resistant Klebsiella pneumoniae in the United States, 1986 to 1993. The National Nosocomial Infections Surveillance Systems. *Infect Control hosp Epidemiol.* 1997; 18: 492-498.
11. Sifuentes J, Prado V, Zurita J. Is the antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter spp expanding in Latin-America. The Resisnet Collaborative Group. Abstracts 120 of the IDSA 37^a Annual Meeting Philadelphia; 1999.p. 60.
12. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fourteenth informational supplement NCCLS. 2004; 24: 1-158.