

## Identificación de Cepas de *Escherichia coli* y *klebsiella pneumoniae*, Sospechosas de Producir $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido en el Hospital Infantil del Estado de Sonora 2009.

Manuel Alberto Cano-Rangel\*  
Guiseppe Pérez-Moya\*\*  
Víctor Cervantes-Velázquez\*\*\*  
Ma. Ángeles Durazo-Arvizu\*\*\*\*  
Roberto Dorame-Castillo\*\*\*\*\*  
Manuel Alberto Cano-Corella\*\*\*\*\*

### RESUMEN

**Objetivo:** Establecer un marco de referencia que nos permita detectar bacterias sospechosas de producir BLEE, utilizando recursos de microbiología disponibles en la mayoría de los Hospitales, estos incluyen ensayos en sistemas automatizados como el Vitek-2, estableciendo los perfiles de susceptibilidad, siguiendo las pautas marcadas por CLSI (Clinical Laboratory Standards), y los resultados sirvan como herramienta para seleccionar adecuadamente los antimicrobianos en las infecciones con gérmenes productores de BLEE.

**Material y Métodos:** Se realizó un estudio transversal y ambispectivo, en la cual se identificaron cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, obtenidas de diferentes tipos de muestra en el Hospital Infantil del Estado de Sonora en el periodo del 1 de enero al 31 de octubre del 2009, en los grupos etarios de 0 a 18 años 11 meses. De las cepas aisladas se determinó la sensibilidad antimicrobiana por medio del sistema Vitek 2 (bioMerix, Inc), con la tarjeta AST GN-09. Una vez establecido el perfil de susceptibilidad, se identificaron las cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* sospechosas de producir BLEE según lo establecido por el CLSI. La presentación de resultados será mostrada con estadística descriptiva, presentada convenientemente en gráficos.

**Resultados:** Se aislaron en total 307 cepas de ambas bacterias, 185 correspondieron a *E. coli* y 122 a *K. pneumoniae*. De las 185 cepas de *E. coli* el 30.2% y de las 122 de *K. pneumoniae* el 44.2% se encontraron sospechosas de producir BLEE. En el caso de *E. coli* en 33 ocasiones se asoció a cuadros clínicos clasificados como sepsis de los cuales en 15 casos el paciente falleció. En los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en 47 casos se asoció a cuadros clasificados como sepsis y choque séptico.

**Conclusiones:** La prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE ha mostrado un incremento desde su descubrimiento, este aumento es muy posible que se deba a la presión selectiva que ejercen las cefalosporinas entre otros antimicrobianos, resultando indispensable conocer nuestra microbiología hospitalaria para poder ofrecer tratamientos antimicrobianos adecuados y oportunos que reduzcan la mortalidad de los pacientes con ese tipo de infecciones.

\* Jefe Servicio de Infectología

\*\* Residente de III año Pediatría

\*\*\* Director General del HIES-HIMES

\*\*\*\* Adscrito al Servicio de Infectología

\*\*\*\*\* Adscrito al Servicio de Infectología

\*\*\*\*\* Medico Interno de Pregrado

Servicio de Infectología del Hospital Infantil del Estado de Sonora.

Autor responsable: Dr. Manuel Alberto Cano Rangel. Reforma No 355 Norte, e/Ave. Ocho y Once. Col. Ley 57, CP.83100.

## ABSTRACT

**Objective:** To establish a reference that allows us to detect bacteria capable of producing BLEE with resources readily available at most hospitals, including assays like Vitek-2; establishing susceptibility profile, following guidelines by CLSI (Clinical Laboratory Standards) which will be useful as a tool to adequately select an antimicrobial in infections caused by BLEE producing microorganisms

**Material and Methods:** a transversal ambispective study was made, which identified strains of *E.coli* and *K. pneumonia* obtained from Hospital Infantil del Estado de Sonora from January 1 to October 31st 2009 in children 0 to 18 years 11 months; antimicrobial susceptibility was obtained from the isolated strains by Vitek 2 system (bioMerix, Inc) with the AST GN-09 card. Once it was established, *E.coli* and *K pneumonia* strains suspicious for producing BLEE were identified as accorded by CLSI.

Results will be showed with descriptive statistics conveniently displayed as graphics.

**Results:** a total of 307 strains were isolated from both bacteria, 185 were *E.coli* and 122 *K.pneumoniae*. 30.2% from *E.coli* strains (30.2%) and 122 from *K.pneumoniae* (44.2%) were suspicious for producing BLEE. On 33 cases of *E.coli* were associated with sepsis, 15 resulted in death; in 47 of *K. pneumoniae* cases occurred the same

**Conclusions:** prevalence of enterobacteriaceae producing BLEE have been shown to increase since their discovery, probably associated to selective pressure by cephalosporins among other antimicrobial; therefore making it imperative to know the local microbiology in order to offer an adequate antimicrobial treatment.

## INTRODUCCIÓN

Recientemente han sido identificadas por la Sociedad Americana de enfermedades infecciosas los seis patógenos considerados prioridad por su potencial peligrosidad, estos gérmenes incluyen: (1) Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), (2) *Acinetobacter baumannii*, (3) *Pseudomona aeruginosa*, (4) *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, (5) *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y (6) especies de *Aspergillus*<sup>1</sup>.

En 1983 se detectó en laboratorio la primera cepa productora de BLEE, y desde entonces no ha cesado su incremento y diseminación<sup>2,3</sup>. Estas enzimas son producidas por bacterias gram negativas que tienen la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas, y antibióticos que contengan el anillo  $\beta$ -lactámico, promoviendo su inactivación y por lo tanto la generación de resistencia a ese tipo de antimicrobianos<sup>4,5</sup>, por otra parte se ha observado resistencia a drogas no relacionadas al anillo  $\beta$ -lactámico, tales como los aminoglucósidos, cloramfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclinas y fluoroquinolonas, reduciendo así las opciones terapéuticas<sup>6</sup>.

Dada la importancia hospitalaria que reviste la detección de BLEE, es relevante conocer el contexto epidemiológico local al respecto. Considerando que nuestro hospital no cuenta con los recursos para la detección de este tipo de enzimas, y basándonos en lo publicado por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) antes llamado NCCLS, publicadas en enero del 2008<sup>7</sup>, donde se señala, si se detecta crecimiento

bacteriano de *Klebsiella pneumoniae* o *E. Coli* con concentraciones inhibitoria mínimas (MIC)  $\geq 8 \mu\text{g/mL}$  de cefpodoxima, o MIC  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$  para ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona sugiere la presencia de cepas productoras de BLEE.

Basados en este concepto del (CLSI), se propone de detección de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* sospechosas de producir BLEE, como un parámetro microbiológico que brinde de inicio ayuda al clínico para la toma de decisiones al momento de prescribir antibióticos tanto en el ejercicio de la práctica hospitalaria como de la Consulta Externa.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, observacional, transversal y ambispectivo, en el cual se sometieron a análisis las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* aisladas consecutivamente de diferentes tipo de muestras en el Hospital Infantil del Estado de Sonora, durante el periodo del 1 de Enero al 31 de Octubre del 2009. Se incluyeron aquellas cepas aisladas en pacientes con un rango de edad de 0 a 18 años 11 meses.

Los aislamientos bacterianos se obtuvieron de los resultados del sistema automatizado Vitek 2 (bioMerieux, Inc.) con tarjeta de antibiograma AST GN-09. Los antibióticos incluidos son: amikacina, gentamicina, ampicilina/sulbactam, ampicilina, aztreonam, cefazolina, Cefepime, Cefotetan, ceftazidima, ceftriaxona, acetil-cefuroxima, imipenem, meropenem, ciprofloxacino, levofloxacino, nitrofurantoina, piperacilina/tazobactam, tobramicina y trimetoprim-sulfametoxazol.

Una vez establecidos los perfiles de susceptibilidad, se identificaron las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* sospechosas de ser productoras de BLEE, según lo establecido por el CLSI, en las que se consideran sospechosas de producir BLEE a aquellas bacterias que crezcan a concentraciones  $\geq$  a 2  $\mu\text{g/mL}$  de los siguientes antimicrobianos; Ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona.

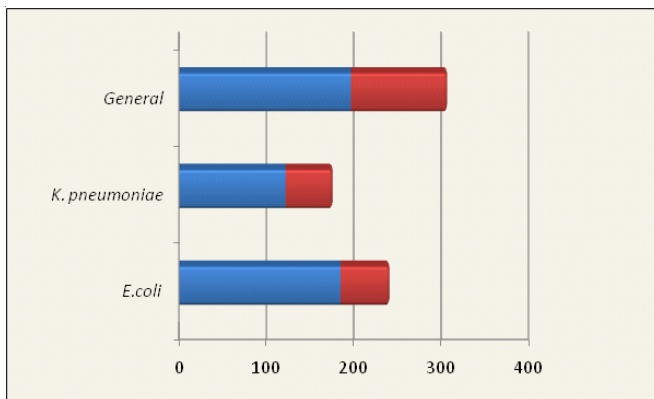
Se utilizó hoja electrónica para la recolección de datos Microsoft Office Excel® 2003, y la presentación de los resultados será con estadística descriptiva, presentada convenientemente en cuadros y figuras.

## RESULTADOS

En total se aislaron 307 cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, 115 correspondieron al género hombres y 192 al género mujeres. En cuanto número de aislamientos según la cepa 185 correspondieron a *E. coli* y 122 a *K. pneumoniae*.

Respecto a *E. coli* de los 185 cepas, 56 (30.2%) y de los 122 cepas de *K. pneumoniae*, 54 (44.2%) se encontraron sospechosas de producir BLEE, y en general de las 307 aislamientos el 35.8% fueron sospechosas de producir BLEE, Ver Figura 1.

Figura 1



En este gráfico observamos el total de enterobacterias y la proporción de cepas productoras de BLEE. Así como el total de cada una de las cepas y la proporción de BLEEs resaltadas en color rojo.

Específicamente *E. coli* fue asociada en 33 ocasiones a cuadros clínicos catalogados como sepsis de los cuales en 15 casos el paciente falleció, con una edad promedio de 6 años (rango de 9 días a 17 años). Respecto a la distribución por servicios hospitalarios los aislamientos se distribuyeron por orden descendente de la siguiente manera: Unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP), Urgencias y servicio de Infectología con 9 casos respectivamente (4.8%), Consulta externa (CE) 7 (3.8%), Unidad de cuidados intensivos neonatal (UCIN) 6 (3.2%), Cirugía, Oncología, Medicina Interna y neonatología con 4 cada uno (2.1%), Ver Cuadro 1.

En relación al tipo de muestra biológica: En orina la muestra resultó positiva en 20 (11%) de los pacientes, catéter central 11 (6%), secreciones de heridas y/o abscesos 8 (4.4%), Sonda urinaria 5 (2.4%), Sangre 4 (2%), coprocultivo 4 (2%), cánula orotraqueal 3 (1.6%) y exudado vaginal 1 (0.6%).

En cuanto a la resistencia cruzada con antimicrobianos diferentes a los que contengan anillo betalactámico fue como sigue: a Trimetoprim en 42 (75%), Nitrofurantoina 9 (16%), Amikacina 3 (5.4%), carbapenémicos (imipenem y meropenem) 2 (3.6%).

En relación a *K. pneumoniae* se asoció a sepsis y choque séptico en 47 casos, de los cuales en 16 de ellos fallecieron, la edad promedio fue de 3 años (rango de 15 días a 17 años). Su distribución por servicios en orden descendente es como sigue: Oncología 13 (10.5%), Medicina Interna 10 (8%), UCIP 8 (6.5%), Neonatología 7 (5.7%), UCIN 6 (5%), Infectología 4 (3.3%), Urgencias 3 (2.5%), Cirugía 3 (2.5%), Ver Cuadro 1.

Cuando se relaciona con el tipo de muestra biológica fue la siguiente: Sangre 16 (13%), catéter 8 (6.5%), orina 8 (6.5%), sondas urinarias 8 (6.5%), cánula orotraqueal 4 (3.3%) y coprocultivo 3 (2.5%).

En cuanto a la resistencia cruzada con antimicrobianos diferentes a los que contengan anillo betalactámico fue como sigue: en 27 (51%), amikacina en 13 (24%), trimetoprim/sulfametoxazol 19 (17%), imipenem 2 (3.8%) y meropenem 2 (3.8%).

## DISCUSIÓN

La prevalencia de bacterias productoras de BLEE, se ha incrementado progresivamente desde su

Cuadro 1

Origen de la Muestra	UCIP	UCIN	Oncología	Cirugía	M. Interna	Infectología	Neonatología	CE	Urgencias
<i>E. Coli</i>	9	6	4	4	4	9	4	7	9
<i>K. pneumoniae</i>	8	6	13	3	10	4	7	0	3

descubrimiento, las cifras en América varían de 5% a 50% según diferentes series<sup>2,5</sup>, siendo razonable ya que depende de la terapéutica antimicrobiana utilizada en cada lugar. En Sonora en año 2005 en el Hospital Infantil se realiza un estudio exploratorio del que resulta una proporción del 5% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE<sup>2</sup>. Posteriormente en el año 2008-2009 se realiza un trabajo en por la Universidad de Sonora en un Hospital Pediátrico en Hermosillo, detectándose un 19% de cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE, mostrando un notable incremento en la producción de estas enzimas respecto al 2005<sup>8</sup>. Es importante señalar que la identificación de cepas productoras de BLEE, en los estudios mencionados anteriormente, se realizaron con pruebas confirmatorias fenotípicas, sin embargo la mayoría de los Hospitales Sonorenses, tanto públicos como privados no cuentan con ese recurso, por lo que la identificación de bacterias como *K. pneumoniae* y *E. coli* por medio de un sistema automatizado, los cuales muestren perfiles de resistencia en las que MIC  $\geq 8$   $\mu\text{g/mL}$  para cefpodoxima, o MIC  $\geq 2$   $\mu\text{g/mL}$  para ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona sugiere la presencia de cepas sospechosas de producir BLEE, tal como se señala en las publicaciones del CLSI en el 2008<sup>7</sup>, colocándonos en perspectiva de la situación actual de nuestros hospitales. En nuestra investigación se identificó en general, para ambas bacterias (*E. coli* y *K. pneumoniae*) un porcentaje de 35.8%, reflejando un incremento alarmante con respecto a los resultados previos, aunque por supuesto estas son solo sospechosas de ser productoras de BLEE, pero podría ser un parámetro ante la ausencia de pruebas fenotípicas.

Los resultados de los estudios previos mencionados nos alertan sobre la importancia de mantener una vigilancia sobre el comportamiento de Enterobacteriacias productoras de BLEE, ya que se ha demostrado que una terapéutica inadecuada necesariamente refleja un incremento en la mortalidad, dado que las BLEE son capaces de hidrolizar cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos y otros antibióticos como los aminoglucósidos<sup>8,9,10,11</sup>, reduciendo así las opciones terapéuticas, y la elección de un tratamiento adecuado y oportuno.

Respecto a la mortalidad de los casos asociados a sepsis y/o choque séptico, parece asociarse más frecuentemente a *E. coli* con 45.4% y en menor proporción a *Klebsiella pneumoniae* con 34.4%, este resultado es opuesto lo reportado por Pujol y cols<sup>3</sup>, ya que la mayor proporción de aislamientos en su trabajo correspondió a *Klebsiella pneumoniae* comúnmente de origen nosocomial y en nuestro trabajo fue de *E. coli* como es descrito anteriormente. Está marcada diferencia también puede deberse a que las cepas de *E. coli* pueden tener CIM elevadas para cefalosporinas de tercera

generación adquiridas por vías diferentes a la producción de BLEE, como es la hiperproducción del gen AmpC, situación que rara vez ocurre en cepas de *K. pneumoniae*<sup>12</sup>.

El servicio que originó la muestra biológica, fue en la mayoría de los casos de aislamientos de *E. coli* fueron de UCIP, Urgencias, Infectología y CE, lo que llama la atención, ya que estos servicios en conjunto alcanzan el 10% de la producción de cepas sospechosas de BLEE, siendo que estos servicios reciben pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad, cuando esperarías que estas cepas se originen en ambientes hospitalarios, aunque este comportamiento se ha publicado en otros trabajos<sup>12</sup>.

El servicio de origen de la muestra biológica en cepas de *K. pneumoniae* el 94% proceden de servicios de hospitalización distinto al servicio de urgencias, tal como es referido en otros trabajos<sup>12</sup>.

Por otra parte en cuanto a la resistencia antibiótica cruzada, distinta a los  $\beta$ -lactámicos in vitro, en cepas productoras de BLEE, resulta de la siguiente forma: Amikacina 51%, Trimetoprim más sulfametoxazol 24%, Imipenem 4% y Meropenem 4%. Este comportamiento de las resistencias se puede explicar de la siguiente manera, los genes que codifican resistencia a aminoglucósidos, tetraciclina sulfonamidas, se encuentran codificados en plásmidos como también las BLEE, además las enterobacteriacias poseen cambios cromosomales que confieren resistencia a fluroquinolonas<sup>13</sup>.

La transmisión de BLEE cuya codificación genética es mediada por plásmidos conjugativo, ha permitido que estas enzimas se diseminen en la población de bacilos gram negativos susceptibles especialmente en el ambiente hospitalario. Por lo que las cepas de *K. pneumoniae* juegan un importante papel como principales reservorios de genes portadores de BLEE entre otros mecanismos de resistencia, siendo potencialmente capaces de transmitirlo a otras bacterias susceptibles. Desarrollando trabajos como el realizado por Sánchez y cols<sup>10</sup>, permiten demostrar, al utilizar cepas de *K. pneumoniae* como donadora de genes de resistencia hacia otras cepas de diferentes especies de enterobacteriacias, constituyendo una evidencia de la posibilidad de brotes intrahospitalarios.

Por otro lado en la actualidad en la mayoría de de los laboratorios de microbiología existe la posibilidad de contar con un sistema inteligente como el Vitek 2 ó BD Phoenix sistem, los cuales son capaces de reportar con una sensibilidad del 99.5% y 95.3% respectivamente, lo que permitiría una mejor selección de la terapéutica adecuada<sup>14</sup>.

Finalmente el tratamiento antimicrobiano de elección dirigido a cepas productoras de BLEE es muy limitado, el tratamiento con cefalosporinas excepto

cefamicinas se ha asociado con pobres resultados, incluso si se reporta el germen causal susceptible, además se ha asociado con resistencia a otras clases de antimicrobianos como fluroquinolonas, y aminoglucósidos. Por lo que los carbapenems (ej. Imipenem o meropenem) son las drogas de elección para infecciones que ponen en riesgo la vida por cepas productoras de BLEE<sup>15</sup>. Además existe evidencia que el tratamiento a base de combinaciones de  $\beta$ -lactámicos asociados a inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (ej. Piperacilina-tazobactam) muestran una buena respuesta ante este tipo de amenaza<sup>11</sup>.

## CONCLUSIONES

Los puntos importantes a considerar son los

siguientes: (1) La prevalencia de enterobacteriacias, específicamente *E. Coli* y *Klebsiella Pneumoniae* productoras de BLEE han incrementado progresivamente desde su descubrimiento, (2) la presión selectiva que ejercen las cefalosporinas entre otros antimicrobianos, es la que genera la producción de enterobacteriacias productoras de BLEE, (3) resulta indispensable conocer el papel juegan las BLEE, en cada uno de los Hospitales de nuestras comunidades con el propósito de establecer una terapéutica oportuna y adecuada, (4) siempre que se detecte BLEE debe esta ser reportada como resistente a todas las cefalosporinas, (5) el tratamiento de elección es carbapenémicos y posteriormente se recomiendan  $\beta$ -lactámicos mas inhibidores de  $\beta$ -lactamasas.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Hung LJ, Know BI, Hee LS. New definitions of Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase Coferring Worldwide Emerging Antibiotic Resistance. Medicinal Research Reviews 2010 publicado on line <http://www3.interscience.wiley.com/journal/109089146/issue>
- 2.- Navarro NM, Moreno NB, López MB, Detección de Cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas de Espectro extendido (BLEE) en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. Bol Med Hosp Infant Mex 2005; 22: 64-70.
- 3.- Pujol M, Peña C. El Significado Clínico de las Betalactamasas de Espectro extendido. Enferm Infecc Microbiol 2003; 21: 69-71.
- 4.- Wen Z, Wei X, Xiao Y, Xue F, Hao F, Zhu Y, Ma N, Xiao Y, Wang H. Intervention study of the association of antibiotic utilization measures with control of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing bacteria. Microb Infect 2010. doi:10.1016/j.micinf.2010.04.015 En prensa Available online 10 May 2010.
- 5.- Máttar S, Martínez Pedro. Emergencia de la Resistencia Antibiótica debida a llas  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, Impacto Clínico y Epidemiología. Infectio 2007;11(1):25-35.
- 6.- Thomson K, Cornish NE, Hong SG, Hemrick K, Herdt.C, Moland E. Comparision of Phoenix and Vitek2 Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase Detection Test for Analysis of *Escherichia Coli* and *Klebsiella* Isolates with Well- Characterized  $\beta$ - lactamasas. J.Clin Microbiol2007;45:2380-4.
- 7.- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Antimicrobial susceptibility testing standards document M100-S18. Clinical Laboratory Standards Institute, Ed. Wayne, PA, 2008.
- 8.- Morales R. Terapia de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido. Rev Chil Infec 2003; 20(Sup11): S24-27.
- 9.- Crespo MP. La Lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. Colomb Med 2002; 33:179-93.
- 10.- Sánchez M, Bello TH, Domínguez YM, Mella MS, Zimelman ZR, Gonzales R G. Transferencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido desde cepas hospitalarias de *Klebsiella pneumoniae* a otras especies de enterobacteriacias. Rev Med Chile 2006; 134:415-20.
- 11.- Peterson LR. Antibiotic Policy and prescribing strategies for therapy of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin-tazobactam. Clin Microbiol Infect 2008; 14(Suppl. 1): 181-4.
- 12.- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez ML. *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.
- 13.- Endimiani A, Peterson DL. Optimizing therapy for infections Caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamses. Semin Respir Crit Care Med 2007; 28:646-55.
- 14.- Treviño M, Martínez LL, Romero JP, Varón C, Moldes L, García RC, Regueiro B. Comparación entre las pruebas para detección de betalactamasas de espectro extendido de los sistemas Vitek 2 y Phoenix. Enferm Infecc Microbiol Clin.2009.doi:10.1016/j.eimc.2009.02.005.
- 15.- Herada S, IshiiY, Yamaguchi K. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamses: Implications for de clinical laboratory and therapy. Korena J Lab Med 2008;28:401-12.