Beta-lactamasas de espectro expandido aisladas en muestras de sangre y líquido cefalorraquideo en pacientes del hospital universitario de caracas. Año 2004.

Dr. Narlesky Rivero; Dra. Luz Flores; Dra. Evelys Villarroel; Dra. Miriam Bastidas; Dr. RE Andrade
Departamento de Bioanálisis. Sección de Bacteriología. Hospital Universitario de Caracas.

Resumen

Las B- Lactamasas de espectro expandido (BLEE), son un grupo de enzimas de codificación plasmídicas derivadas de las TEM-1,2 y SHV-1, capaces de hidrolizar los antibióticos betalactámicos , específicamente cefalosporinas de tercera generación y al monobactam. Inicialmente fueron detectadas en aislamientos clínicos de Klebsiella pneumoniae y Escherichia coli hoy día se han encontrado en una gran variedad de enterobacterias, lo cual constituye un problema para el clínico al momento de iniciar una terapia antimicrobiana. Se han aislados con mayor frecuencia en muestras procedentes de pacientes hospitalizados, pero también pueden encontrarse en muestras de origen comunitario. Por ser un tipo de resistencia de codificación plasmídica hace que sea transferible fácilmente por mecanismos de conjugación entre diferentes especies bacterianas[4,5]. El laboratorio de bacteriología juega un papel muy importante en la detección de estos aislamientos y posibles brotes nosocomiales, ya que la detección precoz de las mismas es importante para comenzar el tratamiento adecuado. Existen varias técnicas para detectar en el laboratorio este tipo de enzimas siendo la empleada por nosotros en el laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario de Caracas, la técnica de doble difusión con discos, en la cual se observa una ampliación del halo de inhibición en las cefalosporinas y el aztreonam con respecto al disco de amoxacilinalácido clavulánico, si en la bacteria está presente dicha enzima2.En este estudio se determina cual es la incidencia de las BLEE en muestras de Sangre y LCR, en pacientes con mal pronóstico de vida.

PALABRAS CLAVES: BLEE, PLÁSMIDOS, CONJUGACIÓN, SANGRE, LCR.

Sumary

The extended spectrum B-lactamases (ESBLs) are a group of enzymes of plasmid code derivated from de TEM-1,2 and SHV-1 capable of hydrolyze the betalactam antibiotics, specifically cephalosporins from third generation and the monobactam too.Originally were detected in clinical isolations of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. Actually they have been found in a great variety of Enterobacteriaceae which constitute a problem for the physician at the moment of beginning an antimicrobial therapy. They have been isolated more frequently in streins from hospitalized patients, but also they can be found in streins of communitary source. Due to it is a kind of resistance of plasmid code, it makes possible it can be tranferred easily by mechanisms of conjugation among different bacterial specimens[4,5]. The laboratory of bacteriology has a very important role in the detection of these isolations and possible outbreaks nosocomial, since the precocious detection of these stubs is vital to begin the adecuated treatment. There exist several techniques to detec this type of enzymes, the techniques employed by us in the of bacteriology at the Universitary Hospital of Caracas, is called Double- Disk diffudion in wich is observed an enhancement of the zone of the cephalosporins and the aztreonam,with respect to the disk of amoxicillin/clavulanic acid, it is interpreted as positive[2]. In this investigation it was determined the incidence of the ESBLs in the sample of blood and CFS in patiens with a bad prediction of life.

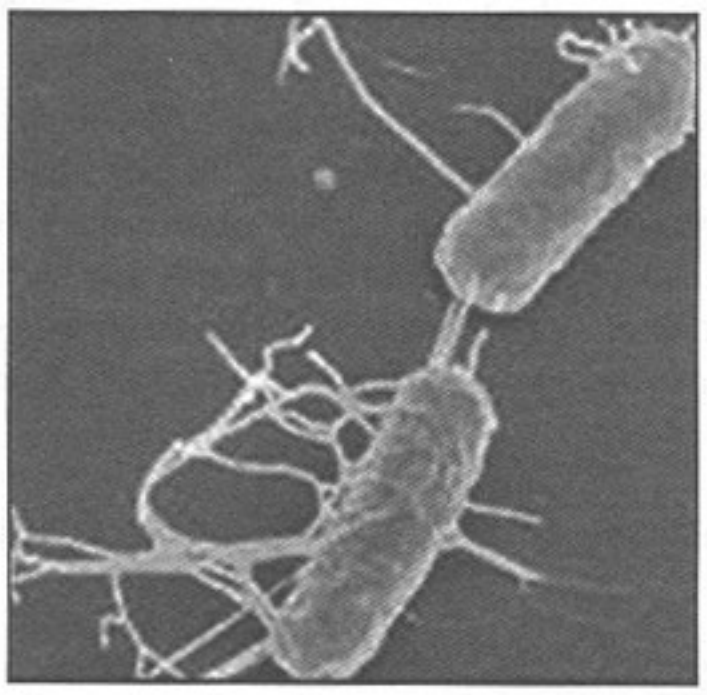
KEY WORDS: ESBLs, PLASMID, CONJUGATION, BLOOD, CFS.

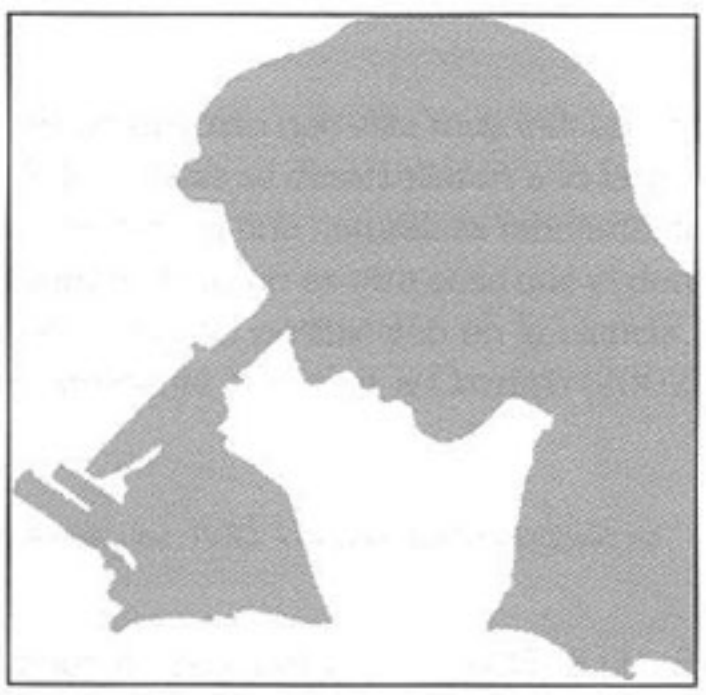
Introduccion

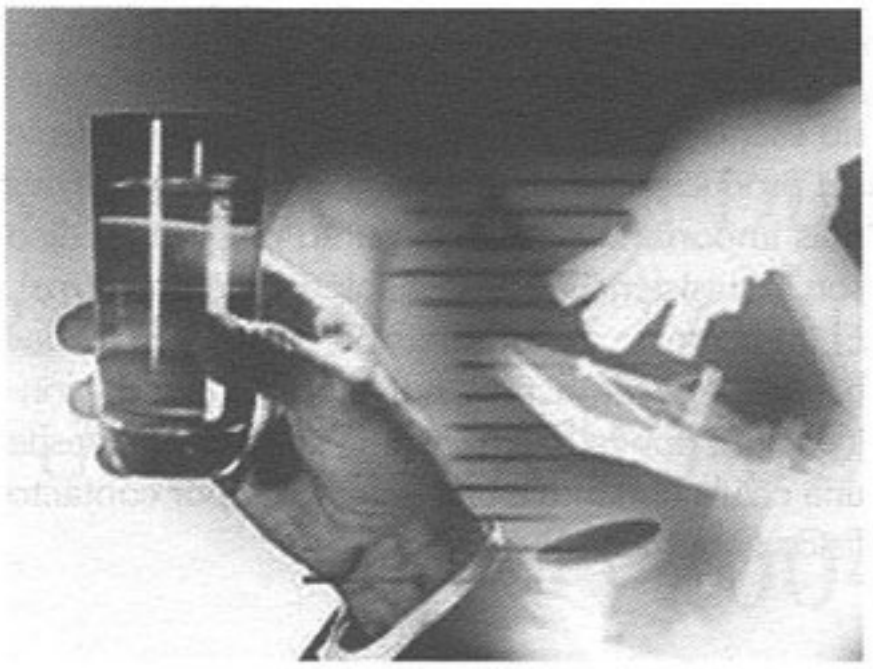
Existen muchos mecanismos de protección que implementan las bacterias en un momento determinado contra ciertos agentes que podrían causarle la muerte, como es el caso de los antibióticos. En este caso hacemos referencia a los mecanismos de resistencia a los *B*-lactámicos, en el cual se puede atribuir a: 1) inactivación de la droga, 2) alteración del sitio blanco, 3) bloqueo del transporte de la droga al interior de la célula. Siendo el más importante el número uno, como mecanismo de resistencia en cepas bacterianas en donde el fenotipo de resistencia a *B*-lactámicos es conferido por una o varias enzimas simultáneamente o no, las cuales abren el anillo *B*-lactámico para formar compuestos inactivos. Son las llamadas *B*-lactamasas que se encuentran tanto en los microorganismos grampositivos como en los gramnegativos y son responsables de muchas cepas altamente resistentes[3]. Se describe a las enzimas procedentes de los microorganismos gramnegativos específicamente a las *B*-Lactamasas de Espectro Expandido (BLEE),cuyo origen proviene de mutaciones en genes que codifican *B*-lactamasas plasmídicas tales como TEM-1,2 y SHV-1(1,4,5).Pueden conferir resistencia a cefotaxime, ceftazidima, aztreonam, penicilinas de espectro extendido y *B*-lactámicos estructuralmente relacionados en aislamientos clínicos de *Klebsiella* pneumoniae, *Klebsiella oxytoca, Escherichia coli* y algunos otros géneros de la familia Enterobacteriaceae (*Proteus, Serratia, Enterobacter, Salmonella, Morganella*, etc.) (4,5).La resistencia se produce no solo por mutación de los genes microbianos que codifican la entrada de antibiótico a las células, o los lugares de unión de un antibiótico, sino principalmente por la adquisición de genes, a partir de fuentes exógenas que confieren resistencia heteróloga. Este mecanismo es controlado por elementos extracromosomales que son los llamados plásmidos (pequeñas moléculas de ADN extracromosómico, no esenciales para la célula que pueden perderse sin producir alteración celular, cuyas propiedades más importantes desde el punto de vista médico son la resistencia a los antibióticos entre otros). El intercambio de información genética entre las bacterias puede ocurrir por mecanismos de conjugación, donde hay transferencia de ADN desde una célula donante a una receptora, por contacto físico entre dos células[1,3].

Material y metodos

Se utilizaron muestras de Sangre y Líquido Cefalorraquídeo (LCR), procedentes de pacientes ingresados al Hospital Universitario de Caracas (HUC), durante los meses de Enero- Agosto del año 2004.Se cultivaron e identificaron por metodología manual implementada por el laboratorio de Bacteriología, siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Microbiología[2]. Se aislaron en total 30 cepas de Enterobacterias (25 en sangre, 5 en LCR), se les realizó las pruebas de sensibilidad a los antibióticos (descrita por Bauer y Kirby), específicamente la técnica de la doble difusión con discos,[2]. Se realiza por difusión en agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana ajustada al patrón de o,5 de la escala de McFarland, se colocaron discos con cargas estándar (30 mg) de cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxone y aztreonam, dispuestos a una distancia de 25-30 mm del disco de amoxacilina/ácido clavulánico (20/10 mg). Se observó alargamiento o ampliación de los halos de inhibición en algunos de los antibióticos nombrados lo cual se considera el test positivo y la probable cepa productora de BLEE[2,4,5].







Resultados

De las Enterobacterias aisladas se identificaron 23 cepas de *Klebsiella pneumoniae,* 4 de *Enterobacter cloacae* y 3 de *Enterobacter aerogenes.* Resaltando que 19 de los casos fueron bacterias aisladas en la Unidad de Cuidados Intermedios Neonatal (UCIN), con impresión diagnóstica de sepsis y meningitis bacteriana. También fueron significativos los 6 aislamientos obtenidos en el servicio de Terapia Intensiva (UTI), cuyos pacientes están sometidos a una gran variedad de antibióticoterapia siendo pacientes inmunocomprometidos, con buena predisposición para ser colonizados e infectados por este tipo bacteriano.

Discusion

Definitivamente la investigación en el laboratorio de Microbiología de este tipo de enzimas que son capaces de inactivar a un grupo de antibióticos como en este caso a los *B*-lactámicos, juega un papel primordial en la selección del fármaco adecuado para tratar un proceso infeccioso determinado. Sabiendo que pacientes que presentan diagnósticos de sepsis y meningitis en donde las posibilidades de sobrevivir son pocas, se quiso resaltar la importancia de los aislamientos de Enterobacterias productoras de BLEE en muestras de Sangre y LCR. Por lo tanto el laboratorio de Microbiología debe estar alerta en la detección de éstos microorganismos multirresistentes, por lo que éstas enzimas han demostrado ser clínicamente importantes ya que varios investigadores demostraron fallas en el tratamiento cuando eran aplicados a los pacientes antibióticos *B*-lactámicos, específicamente cefalosporinas de tercera generación en infecciones serias[1,3,4]. La importancia en la detección de éstas enzimas radica entre otras cosas en que un error en la interpretación del antibiograma llevaría a una mortalidad de 44% o más[4,5]. Las BLEE son actualmente un reto Diagnóstico y Terapéutico llevando a la buena interacción Médico-Laboratorio, en donde se ayuda a escoger un buen tratamiento y un uso racional de los antibióticos[4,5].

Referencias

1. Torres L. Interpretaciones de relevancia en el antibiograma de los Gram negativos. Boletín Informativo N° 1 Año 2004. Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.
2. Performance Standars for antimicrobial Disk Susceptibility Test; Aproved Stand. Eighth Edition. Volumen 23. Number 1.NCCLS Document M2 A8 January 2003.
3. Murray P.R, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Volken R.H. Mechanismos of Resistance to Antimicrobial Agents. Manual of Clinical Microbiology. 7 tb Edition. 1999;117:1505-10.
4. Bus K, Jacoby GA, Medeiros AA.A Funcional classification écheme for *B*-lactamasas and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agnts Chemother 1995;39: 1211-1233.
5. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum *B*-lactamases. Antimicrob Agents. Chemother 1991;35:1697-1704.