

Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas

Mechanisms of resistance to beta-lactams in Gram-negative bacteria

Dr. Tersilia García Castellanos, Dr. Arianna Castillo Marshal, Lic. Daniel Salazar Rodríguez

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Los antimicrobianos betalactámicos se emplean habitualmente en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias gramnegativas. No obstante, el incremento de la resistencia antimicrobiana, ha limitado su empleo en pacientes con estos tratamientos. El propósito de este trabajo es describir los mecanismos de resistencia a los betalactámicos en diversas bacterias gramnegativas de interés clínico. Se estudiaron los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*, identificados en el Departamento de Microbiología Clínica del Instituto "Pedro Kourí", en 2010 y 2011. La identificación bacteriológica y la susceptibilidad antimicrobiana se determinaron mediante el sistema automatizado VITEK 2 Compact (bioMérieux, Francia). Se identificaron 623 aislamientos de *Escherichia coli*, 159 de *Klebsiella pneumoniae*, 155 de *Pseudomonas aeruginosa* y 95 de *Enterobacter* spp. La producción de betalactamasas de espectro extendido se observó en el 22,2 % de las enterobacterias, fundamentalmente en *E. coli* (51,7 %). La resistencia a los carbapenémicos por impermeabilidad se manifestó en el 3,9% de las cepas estudiadas con predominio en *P. aeruginosa* (87,9 %). Únicamente en el género *Enterobacter*, se evidenció la producción de carbapenemasas (0,3 %). La resistencia a los betalactámicos en las enterobacterias identificadas, está determinada fundamentalmente por la producción de betalactamasas de espectro extendido, aunque se deben tomar en cuenta la presencia de cefalosporinas AmpC, principalmente en *Enterobacter* spp. La impermeabilidad en *P. aeruginosa*, constituye uno de los mecanismos más significativos de resistencia frente a los carbapenémicos.

Palabras claves: mecanismos de resistencia, betalactámicos, bacterias gramnegativas.

ABSTRACT

The beta-lactams antibiotics are commonly used in the treatment of infections caused by Gram-negative bacteria. However, growing antimicrobial resistance has limited their use in cases with this treatments. The objective of this paper was to describe the beta-lactams resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. Isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* and *Pseudomonas aeruginosa*, identified in the Clinical Microbiology Department of "Pedro Kouri" Institute in two years (2010 and 2011), were analyzed. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility were both determined by the automated VITEK 2 Compact (bioMérieux, France). A total number of 623 isolates of *Escherichia coli*, 159 of *Klebsiella pneumoniae*, 155 of *Pseudomonas aeruginosa* and 95 of *Enterobacter spp.* were identified. The production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) was observed in 22.2 % of enterobacteria, mainly in *E. coli* (51.7 %). Carbapenem resistance due to impermeability was manifested in 3.9 % of all isolates, predominantly in *P. aeruginosa* (87.9 %). The production of carbapenemases (0.3 %) was observed only in *Enterobacter* strains. Resistance to beta-lactams in identified enterobacteria was primarily determined by the production of extended-spectrum beta-lactamases, but one must take into account the production of AmpC cephalosporinases mainly in *Enterobacter spp.* Impermeability in *P. aeruginosa* is one of the most important mechanisms of resistance against carbapenems.

Keywords: mechanisms of resistance, beta-lactams, Gram-negative bacteria.

La resistencia bacteriana se ha convertido actualmente en un serio problema de salud mundial y requiere del máximo esfuerzo de todas las instituciones gubernamentales que garanticen su control. Dado que este fenómeno tiene como principales consecuencias el fracaso de la terapia antimicrobiana, el incremento de la morbilidad y la mortalidad y el aumento en los costos de la atención médica, resulta indispensable su contención al nivel internacional.¹

En las bacterias gramnegativas la resistencia a los betalactámicos está originada por varios mecanismos, pero el más importante, por su frecuencia y eficacia, es la producción de betalactamasas. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos y se producen de manera constitutiva o inducible. De todas las betalactamasas descritas hasta el momento, cabe destacar, por su interés e implicaciones clínicas, las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), las betalactamasas (cefalosporinas) tipo AmpC y las carbapenemasas.² El incremento de la resistencia mediante la producción de betalactamasas restringe el empleo de los antibióticos betalactámicos como tratamiento empírico en las infecciones ocasionadas por estos microorganismos.³

Se plantea que los pacientes hospitalizados, los asistidos en centros sociosanitarios, inmunodeprimidos y los que han recibido antibióticos recientemente, son particularmente susceptibles a la colonización por enterobacterias patógenas. La ruptura de las barreras anatómicas normales por mucositis, enteritis, catéteres vasculares, intubación orotraqueal, traqueostomía y otros, favorece la invasión por estas bacterias, lo que a menudo conduce a neumonía, septicemia, meningitis o formación de abscesos. Algunos autores describen que las enterobacterias explican aproximadamente el 30 % de los aislamientos bacterianos en sangre, el 65 % de los

gastrointestinales y el 75 % de los del tracto urinario y que además, son responsables de más del 30 % de las infecciones respiratorias de vías bajas en pacientes con riesgo de colonización de orofaringe.⁴ En raras ocasiones *P. aeruginosa* causa procesos infecciosos en los individuos inmunocompetentes, comportándose como un agente oportunista en aquellos que presentan diversos factores predisponentes: quemados, inmudeprimidos (neutropénicos, sida), enfermos con fibrosis quística y los sometidos a ventilación mecánica.⁵

La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (*IDSA*, por sus siglas en inglés) define a un grupo de bacterias incluidas en el término *ESKAPE*: *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (ERV), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEEs), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter*, como patógenos de alta prioridad, por representar problemas clínicos o de salud pública relevante, además de ser muy limitadas las alternativas terapéuticas en estos casos.⁶

El asunto de la resistencia a los betalactámicos motivó la elaboración de este estudio, con el objetivo de describir los mecanismos de resistencia antimicrobiana frente a los betalactámicos en un grupo de bacterias gramnegativas que, debido a los patrones de resistencia que presentan, constituyen actualmente un problema de salud mundial.

MÉTODOS

Se estudiaron los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., y *Pseudomonas aeruginosa*, identificados durante los años 2010 y 2011 en el Departamento de Microbiología Clínica, del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La identificación, susceptibilidad antimicrobiana y los fenotipos enzimáticos de resistencia de las bacterias mencionadas, se determinaron mediante el sistema automatizado *Vitek 2 Compact* (BioMérieux, Francia). Para la identificación se emplearon las tarjetas GN-21341; para la determinación de la sensibilidad y de los fenotipos de resistencia fueron AST-N082, AST-N086 y AST-N087.

RESULTADOS

De los microorganismos gramnegativos identificados, prevaleció *Escherichia coli* con 623 aislamientos. Se apreció un porcentaje no despreciable de resistencia, mediado fundamentalmente por la producción de BLEEs (22,2 %), principalmente en *E. coli* (51,7 %). El porcentaje de resistencia por la producción de betalactamasa tipo AmpC en el total de las enterobacterias identificadas fue 2,1 %, con una mayor proporción en especies de *Enterobacter* (63,6%) (tabla).

Tabla. Mecanismos de resistencia a los betalactámicos de bacterias gramnegativas identificadas en Departamento de Microbiología Clínica. IPK, 2010-2011

| Mecanismo de resistencia | <i>E. coli</i> n= 623 | | <i>Klebsiella</i> spp. n= 159 | | <i>Enterobacter</i> spp. n= 95 | | <i>P. aeruginosa</i> n= 155 | | Total 1 032 | |
|--|--------------------------|------|----------------------------------|------|-----------------------------------|-------|--------------------------------|------|----------------|------|
| | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| BLEEs | 119 | 51,7 | 95 | 41,3 | 16 | 6,9 | - | - | 230 | 22,2 |
| AmpC | 8 | 36,3 | - | - | 14 | 63,6 | - | - | 22 | 2,1 |
| Resistencia a carbapenémicos (impermeabilidad) | - | - | | | 5 | 12,1 | 36 | 87,8 | 41 | 3,9 |
| Resistencia a carbapenémicos (carbapenemasas) | - | - | | | 4 | 100,0 | - | - | 4 | 0,3 |

Se comprobó además, un incremento de las cepas productoras de BLEEs en el tiempo, ya que durante el año 2010 se identificaron 69 aislamientos y en el 2011, se aislaron 161 cepas productoras de BLEEs. Por otro lado, el porcentaje de resistencia encontrado en este estudio frente a carbapenémicos fue de 4,2 %.

DISCUSIÓN

Las BLEEs inactivan a las aminopenicilinas, carboxipenicilinas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, también al aztreonam pero no inactivan a las cefamicinas o carbapenémicos.⁷ El incremento de las cepas productoras de BLEEs en el tiempo constituye un problema, ya que en estos casos las opciones terapéuticas se limitan a los carbapenémicos; además, los plásmidos que codifican para la producción de BLEEs, contienen frecuentemente genes que inducen resistencia a otros agentes antimicrobianos, como aminoglucósidos, cloranfenicol, sulfonamidas y tetraciclinas.⁸

La verdadera prevalencia de BLEEs es desconocida y probablemente esté subestimada por las dificultades de su detección en el laboratorio. Sin embargo, queda claro que los microorganismos productores de BLEEs están distribuidos mundialmente y su prevalencia está en aumento. En Latinoamérica, las enterobacterias productoras de BLEEs parecen ser frecuentes en muchos países de la región.⁹ Pavón y otros,¹⁰ señalan la producción de BLEEs en infecciones nosocomiales en el 26,4 % de las enterobacterias, con un predominio de *K. pneumoniae* y *E. coli*, resultados con los que coinciden los encontrados en este trabajo. En Cuba, existen escasos estudios que muestren la verdadera prevalencia de este mecanismo de resistencia, no obstante, se notifican cifras de 24 %¹¹ y hasta de 53 % en aislamientos de *K. pneumoniae* BLEEs (+) procedentes de infecciones intrahospitalarias.¹² García y otros,¹³ describen el 32 % de enterobacterias productoras de BLEEs, específicamente en pacientes cubanos con VIH/sida hospitalizados. En el este de Europa se señala la producción de BLEEs en el 22,6 % de especies de *Klebsiella*.¹⁴

Las AmpC constituyen otro tipo de betalactamasas que, a diferencia de las BLEEs, no poseen en la actualidad un método estandarizado por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, siglas en inglés), para su detección fenotípica. Este hecho, aunado a la dificultad para dilucidar fenotípicamente si se está en presencia de una AmpC cromosómica o plasmídica y a la carencia de inhibidores de AmpC para uso *in vivo*, hacen considerar a estas enzimas como un emergente problema terapéutico. Estas enzimas son también llamadas cefalosporinasas, aunque su espectro de acción hidrolítica no solo incluya cefalosporinas. Ciertas enterobacterias, tal es el caso de *Enterobacter* spp., poseen de manera natural betalactamasas tipo AmpC, al igual que

bacilos gramnegativos no fermentadores de importancia clínica como *P. aeruginosa*. Por otra parte, las AmpC no son inhibidas por los clásicos inhibidores de betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam).¹⁵ En Argelia, Messai y otros,¹⁶ refieren que no se disponen de suficientes datos acerca de la prevalencia de AmpC en esta región y señalan el 1% de cepas de *E. coli* con este fenotipo. La prevalencia de este fenotipo es descrita en Cuba, en un estudio donde el 8,2 % de enterobacterias, específicamente *Enterobacter* spp., presentan este mecanismo de resistencia a los betalactámicos.¹³

Los carbapenémicos son útiles en el tratamiento de las infecciones por enterobacterias multirresistentes, particularmente las productoras de BLEEs y AmpC. Sin embargo, la pérdida de proteínas de la membrana externa y la producción de carbapenemasas, median la resistencia a estos antimicrobianos.¹⁶ El porcentaje de resistencia encontrado en este estudio frente a carbapenémicos fue bajo (4,2 %), en diversas regiones del mundo se describe un incremento de la resistencia a estos antimicrobianos en las enterobacterias y bacilos no fermentadores.^{17,18} En el Reino Unido, durante el 2009, se advierte una alerta con respecto al incremento de enterobacterias resistentes a carbapenémicos en pacientes hospitalizados, específicamente por producción de metalobetalactamasa.¹⁹ Esto constituye un aviso más en el problema de la resistencia microbiana, ya que las alternativas terapéuticas en estos casos se limitan solamente al uso de antiguos antibióticos, que ahora se retoman, como la colistina. Existen insuficientes datos en Cuba acerca de la resistencia a este grupo de antimicrobianos en las enterobacterias y *P. aeruginosa*. En el hospital "Hermanos Ameijeiras", diversos autores describen en *E.coli* resistencia de 4 % al meropenem y altos porcentajes de resistencia a este carbapenémico (33-62 %), pero específicamente en cepas de *A.baumannii*.²⁰

La presencia de BLEEs es uno de los mecanismos predominantes de resistencia a los betalactámicos en las enterobacterias, aunque se debe tener en cuenta la producción de cefalosporinasa AmpC, sobre todo en el género *Enterobacter* y además se estima que la impermeabilidad en *P. aeruginosa*, constituye uno de los mecanismos más significativos de resistencia frente a los carbapenémicos.

A pesar de los mecanismos de resistencia a los betalactámicos sugeridos por el sistema *Vitek* en esta investigación, resulta necesaria la confirmación de estos fenotipos mediante las pruebas estandarizadas por el CLSI y se precisan estudios mas amplios que incorporen varias instituciones, para conocer la verdadera magnitud de la resistencia en el entorno cubano, fenómeno con un impacto negativo que se manifiesta en un incremento de la mortalidad, en el peligro para el control de las enfermedades infecciosas y el encarecimiento de la asistencia médica.

Agradecimientos

A: Teresa Reyes Reyes, técnica en microbiología del Instituto «Pedro Kourí», por su colaboración y aportes brindados en la elaboración, confección y desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hart M, Espinosa F. Resistencia antimicrobiana de bacilos gramnegativos. Rev Cubana Med. 2008 [citado 31 enero 2012];47(4). Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232008000400001&lng=en

2. Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. En: Cercenado E, Cantón R, editores. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2da ed. 2011 [citado 2 Nov 2012]; (38); Disponible en:
http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/prcto_down.ht
3. Gür D, Gülay Z, Akan OA, Akta^o Z, Kayacan CB, Cakici O, et al. Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study. Mikrobiyol Bul. 2008; 42(4):537-44.
4. Vives-Soto M, Difabio M. Tratamiento de las infecciones por enterobacterias. Medicine. 2010; 10(51):3432-9.
5. Sadikot R, Blackwell T, Christman T, Prince A. Pathogen-Host Interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Amer J Respiratory Critical Care Med. 2005; 171:1209-23.
6. Boucher H, Talbot G, Bradley J, Edwards J, Gilbert D, Rice L, et al. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE !. An Update from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009; 48:112.
7. Jehl F, Chomarat M, Weber M, Gérard A. Principales fenotipos de resistencia en las bacterias grampositivas. En: Baquero F, Cantón R, editores. Del antibiograma a la prescripción. Marcy L'Étoile: Editions Biomerieux; 2004. p. 85-6.
8. Rawat D, Nair D. Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. J Glob Infect Dis. 2010; 2(3):263-74.
9. Rupp ME, Fey PD. Enterobacterias Productoras de β -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE). Diagnóstico, Prevención y Tratamiento Farmacológico. Drugs. 2003; 63(4):353-65.
10. Pavón S, Zalazar M, Morales M, Rojas M. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. Ciencia. 2011; 18(2):164-70.
11. Álvarez E, Zayas A, Castillo I, González L, Contreras R. Detección de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* productoras de β -lactamasas de espectro extendido mediante el sistema DIRAMIC. CENIC Ciencias Biológicas. 2010; 41(3):195-9.
12. Hernández W, Ramos A, Nodarse R, Padrón A, De Armas E. Resistencia bacteriana en las bacterias productoras de betalactamasas extendidas (BLEE). Rev Cubana Med Int Emerg. 2006; 5(1):256-64.
13. García T, Salazar D, Castillo F, Rodríguez W, Reyes T. Caracterización fenotípica de enterobacterias aisladas en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana/sida. Rev Cubana Med Trop. 2013; 65(1):48-55.
14. Peña C. Epidemiología y control de los microorganismos productores de BLEE nosocomiales. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 2:18-22.

15. Del Valle D. Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. Revista Sociedad Venezolana de Microbiología. 2009;29:78-83.
16. Messai Y, Naim M, Bakour R, Benhassine T, Paul G. Prevalencia de la resistencia a betalactámicos en cepas clínicas de *Escherichia coli* procedentes de un hospital en Argelia. Rev Española Quimioter. 2006;19(2):144-51.
17. Htoutou Sedláková M, Hanulík V, Chromák M, Hricovák K, Senkýřová M, Kolář M. Resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems. Klin Mikrobiol Infekc Lek. 2011;17(1):12-8.
18. Rossi F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. Clin Infect Dis. 2011;52(9):1138-43.
19. Deshpande P, Rodrigues C, Shetty A, Kapadia F, Hedge A, Soman R. New Delhi Metallo-beta lactamase (NDM-1) in Enterobacteriaceae: treatment options with carbapenems compromised. J Assoc Physicians India. 2010;58:147-9.
20. Espinosa F, Hart M, Halley MC, Martínez ML, Pardo A. Resistencia bacteriana de cepas aisladas en el Hospital "Hermanos Ameijeiras". Rev Cubana Med. 2008 [citado 24 May 2013];47(4). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232008000400002&lng=es

Recibido. 24 de mayo de 2013.

Aprobado: 16 de septiembre de 2013.

Tersilia García Castellanos. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". CP 11300. La Habana, Cuba.

Dirección electrónica: tersigarcia@infomed.sld.cu