Caracterización clínica y molecular de bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido. 2004-2007

Patricia García C., Carla Rubilar P., Daniel Vicentini H., Juan C. Román G., Eugenia León C., Gabriel Muñoz C., Mariana Domínguez Y., Gerardo González R., Helia Bello T. y Jaime Labarca L.

Clinical and molecular characterization of ESBL-producing enterobacteria isolated from bacteremia in a university hospital

Introduction: Extended-spectrum- β -lactamases (ESBL) are plasmid-encoded enzymes that confer resistance to multiple antimicrobials. ESBL-producing enterobacteria that cause bacteremia limit therapeutic options and increase mortality. **Objective:** To perform a clinical and molecular description of bacteremia caused by ESBL-producing enterobacteria. **Method:** We retrospectively studied the cases of bacteremia due to ESBL-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus* spp in adults admitted to a university hospital during the years 2004-2007. We reviewed the clinical records and antimicrobial susceptibility patterns. Molecular typing was performed by polymerase chain reaction and study of clonality by pulsed-field electrophoresis. **Results:** We found a prevalence of 9.8% ESBL in enterobacteria causing bacteremia. Decreased susceptibility to quinolones and aminoglycosides was observed, without resistance to carbapenems. The predominant ESBL types were CTX-M (96%), TEM (62%) and GES (28%). 79% of the strains presented more than one type of ESBL. Clinical analysis revealed high prevalence of risk factors, previous use of antimicrobials and of invasive devices. There was no significant clonality. **Conclusion:** The presence of ESBLs in bloodstream infections is a clinical problem that must be considered when choosing empiric therapy.

Key words: Extended-spectrum β -lactamases, bacteremia, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

Palabras clave: β -lactamasas de espectro extendido, bacteriemias, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

Facultad de Medicina
Departamento de Laboratorios Clínicos (PGC).
Alumno Escuela de Medicina (CRP, DVH).
Servicio de Laboratorios Clínicos.
Laboratorio de Microbiología (JCRG, ELC).
Departamento de Medicina Interna (JLL).

Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Facultad de Ciencias Biológicas
Departamento de Microbiología
Laboratorio de Antibióticos (GMC, MDY, GGR, HBT).

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Programa de Inmersión de Verano, Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Recibido: 3 de diciembre de 2010

Aceptado: 29 de agosto de 2011

Correspondencia a:

Patricia García Cañete
pgarcia@med.puc.cl

Introducción

Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas codificadas en plásmidos que confieren resistencia a múltiples antimicrobianos¹. Se encuentran frecuentemente en enterobacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus* spp. Los genes codificadores para BLEE se ubican con frecuencia en elementos genéticos móviles como transposones e integrones, que contienen además otros genes de resistencia. Esto explica que las bacterias sean resistentes a otros antimicrobianos, como cotrimoxazol, aminoglucósidos y fluoroquinolonas^{1,2}, lo cual implica un impacto pronóstico y desafío terapéutico mayor. Actualmente existen pocas opciones terapéuticas disponibles, siendo los carbapenémicos una alternativa muy efectiva³. La prevalencia de BLEE en el mundo ha ido en aumento^{1,4} y es variable en las distintas regiones. Según datos recientes, América Latina es la zona con más prevalencia (44% en *K. pneumoniae* y 13,5% en *E. coli*) en comparación con otras regiones como E.U.A. (7,5 y 2,2%, respectivamente)⁴.

Las bacterias productoras de BLEE causan distintos tipos de infecciones, incluyendo bacteriemias. Éstas se

asocian a un aumento de dos a tres veces en la mortalidad global y de 1,7 veces en la mortalidad relacionada a la infección⁵⁻⁹. También se asocian a sepsis grave persistente¹⁰, aumento de los días de hospitalización, retardo en el inicio del tratamiento apropiado, fracaso terapéutico y mayores costos en salud¹¹. Se han descrito factores de riesgo para la presencia de BLEE en bacteriemias por enterobacterias: uso previo de antimicrobianos (especialmente cefalosporinas de 3ª generación), patologías crónicas, neutropenia, shock séptico, hospitalizaciones recientes y procedimientos invasores^{6,8-10,12-16}. El uso previo de antimicrobianos y el tratamiento inicial inapropiado han demostrado ser predictores independientes de mortalidad¹⁷⁻¹⁹.

En Chile se ha descrito la presencia de BLEE y sus tipos moleculares en cepas de *K. pneumoniae*²⁰⁻²³. Sin embargo, no se conoce la prevalencia de BLEE en bacteriemias, ni la distribución de los distintos tipos moleculares. El objetivo de este trabajo es describir la prevalencia, tipos moleculares y características clínicas de las bacteriemias en pacientes hospitalizados causadas por enterobacterias productoras de BLEE en el Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile (HCPUC).

Material y Método

Selección de casos. Se realizó un estudio observacional retrospectivo; diseñado para incluir todos los casos de bacteriemia por cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Proteus* spp. productoras de BLEE, en adultos ingresados en el HCPUC durante los años 2004-2007. Se incluyen casos de infecciones asociadas a la atención de salud y bacteriemias de pacientes adquiridas en la comunidad. La selección de casos clínicos se realizó mediante la revisión de los registros del laboratorio de microbiología, de hemocultivos positivos para enterobacterias. Para obtener las cepas de los años 2004 y 2005, se revisaron los registros de susceptibilidad a antimicrobianos, seleccionando las cepas resistentes a ceftazidima y/o cefotaxima. Para los años 2006 y 2007 se revisó el registro de los tests confirmatorios de BLEE, que se realiza de rutina en nuestro centro en todas las cepas de enterobacterias desde 2006.

Caracterización microbiológica. Las cepas seleccionadas de los años 2004 y 2005 fueron sometidas a identificación de especie bacteriana mediante método convencional (Vitek) y luego al test confirmatorio de BLEE mediante dilución en agar según las recomendaciones del CLSI24 que considera positivo para BLEE si hay una disminución de tres veces la CIM en presencia de ceftazidima y cefotaxima con ácido clavulánico *versus* esos antimicrobianos solos. Para los años 2006 y 2007 se trabajó con las cepas ya confirmadas con los mismos tests usados en rutina clínica. Los datos de susceptibilidad a antimicrobianos fueron obtenidos a partir de los registros

del análisis original, que se realizó mediante prueba de dilución en agar. Para buscar diferencias estadísticamente significativas entre los patrones de susceptibilidad de las distintas especies bacterianas, se utilizó test exacto de Fisher.

Caracterización molecular. Se realizó la identificación de genes de resistencia mediante RPC, usando partidores para los genes *blaSHV*, *blaGES*, *blaTEM*, *blaCTX-M-1*, *blaCTX-M-2*, *blaCTX-M-8*, *blaCTX-M-9*. Se evaluó clonalidad mediante la técnica convencional de electroforesis de campo pulsado, usando las enzimas de restricción Not I en *E. coli* y Xba I en *K. pneumoniae*. Los fragmentos fueron analizados por métodos previamente descritos^{25,26}.

Caracterización clínica. Se revisaron las fichas clínicas de los pacientes correspondientes a las cepas encontradas, extrayéndose los siguientes datos: edad, patologías asociadas, hospitalizaciones en los últimos 12 meses, uso previo de antimicrobianos (considerado un período de dos meses), dispositivos y procedimientos invasores, esquema antimicrobiano inicial, cambios en el tratamiento luego de recibir el informe de susceptibilidad, duración de la hospitalización, estadía en UCI, *shock* séptico y muerte durante la hospitalización. Los datos considerados para análisis se obtuvieron al momento de la obtención del hemocultivo. Para buscar correlaciones estadísticamente significativas entre tratamiento inicial inapropiado y resultados clínicos, se utilizó un análisis univariado (test exacto de Fisher).

Resultados

Prevalencia. Durante los años 2004 a 2007 se identificaron 481 cepas de enterobacterias en hemocultivos, de las cuales 47 resultaron ser productoras de BLEE, lo que representa una prevalencia de 9,8%.

Susceptibilidad in vitro. Los 47 casos de bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE correspondían a 47 pacientes. Nueve cepas no pudieron rescatarse para el análisis microbiológico, pues, a pesar de estar congeladas, no estaban viables. En las 38 cepas restantes- *E. coli* (n: 26), *K. pneumoniae* (n: 9) y *P. mirabilis* (n: 3) -se realizó al momento del presente estudio, el test confirmatorio de BLEE, que resultó positivo en todas ellas. Estas 38 cepas fueron utilizadas para el análisis de susceptibilidad, cuyos resultados se muestran en la Figura 1. Destaca la baja susceptibilidad a ciprofloxacina y gentamicina, en comparación con amikacina, piperacilina/tazobactam y carbapenémicos. La susceptibilidad a ciprofloxacina resultó significativamente mayor en las cepas de *K. pneumoniae* en comparación con las de *E. coli*. Por el contrario, la susceptibilidad a amikacina fue signifi-

Figura 1. Perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos no β -lactámicos en las distintas especies de enterobacterias productoras de BLEE. = ciprofloxacina: diferencia significativa entre *E. coli* y *K. pneumoniae* ($p = 0,012$), entre *E. coli* y el resto de las cepas ($p = 0,003$) y entre *K. pneumoniae* y el resto de las cepas ($p = 0,008$). \$ = amikacina: diferencia significativa entre *E. coli* y *K. pneumoniae* ($p = 0,003$), entre *E. coli* y el resto de las cepas ($p = 0,008$) y entre *K. pneumoniae* y el resto de las cepas ($p = 0,003$). $\diamond$ = No se encontraron cepas de *P. mirabilis* productoras de BLEE susceptibles a ciprofloxacina.

vamente mayor en *E. coli*. Piperacilina/tazobactam fue el segundo agente con mejor actividad *in vitro* después de los carbapenémicos en todas las bacterias estudiadas, excepto *E. coli*. No se encontraron otras diferencias estadísticamente significativas.

Para el análisis clínico y molecular sólo se obtuvo información (ficha clínica) de 29 pacientes y sus cepas.

Caracterización molecular. Los resultados del análisis molecular se muestran en las Figuras 2 y 3. Se identificaron genes codificadores para BLEE de la familia CTX-M en 97% de las cepas estudiadas (100% en *E. coli*, 80% en *K. pneumoniae* y 100% en *P. mirabilis*); con predominio de CTX-M-1 en *E. coli* y de CTX-M-2 en *K. pneumoniae*. El tipo TEM se encontró en 62% de las cepas (*E. coli* 57%, *K. pneumoniae* 60% y *P. mirabilis* 100%). El tipo GES se identificó exclusivamente en *E. coli* (38%). El tipo SHV se encontró sólo en *K. pneumoniae* (20%). En 79% de los casos se identificaron dos o más tipos de BLEE en la misma cepa (Tabla 1).

Epidemiología molecular. En las Figuras 4 y 5 se muestran los resultados de la electroforesis de campo pulsado. Se observó policlonalidad en las cepas de *E. coli* (Figura 4), a excepción de dos cepas indistinguibles entre sí. Ambas fueron portadoras de BLEE del tipo CTX-M1 (al igual que todas las otras cepas de *E. coli*) y una de ellas presentó además el tipo GES. Se encontró policlonalidad en la mayoría de las cepas de *K. pneumoniae* (Figura 5); sin embargo, se identificaron tres cepas estrechamente relacionadas entre sí. Dos de ellas resultaron portadoras de BLEE tipo CTX-M2 -una presentó además el tipo TEM- y la tercera presentó el tipo SHV. En el resto de las cepas mencionadas no se encontró clonalidad. Tanto en las cepas relacionadas entre sí como en el resto de las cepas, no se encontró relación epidemiológica en el servicio de hospitalización, fecha de toma de muestra o perfiles de susceptibilidad.

Caracterización clínica. Las Tablas 2 y 3 muestran las características clínicas de los pacientes. La edad promedio fue 69 años. El 76% presentó condiciones clínicas que sabidamente se asocian a infecciones causadas por especies productoras de BLEE (neoplasia 45%, diabetes mellitus 28%, neutropenia 10%, insuficiencia renal crónica 10% y daño hepático crónico 7%). En 86% se confirmó el foco de la bacteriemia destacando la infección urinaria (45%), la infección respiratoria (14%), la bacteriemia asociada a catéter venoso central (10%) y colangitis (10%). El 41% de los casos correspondió a una infección asociada a la atención de salud. No hubo asociación estadísticamente significativa entre la especie bacteriana o el perfil de tipos moleculares de BLEE y el origen intra-hospitalario de la infección. Cerca de la mitad había sido hospitalizado

con anterioridad, en los últimos 12 meses. El 45% había recibido antimicrobianos en los últimos dos meses, principalmente cefalosporinas de 3^a ó 4^a generación (24%) y quinolonas (17%). En todos estos últimos, el agente resultó resistente a ciprofloxacina. Fue sometido a instalación de dispositivos o tratamientos invasores

Figura 2. Distribución de los tipos moleculares de BLEE en las distintas especies bacterianas.

Figura 3. Distribución de los subtipos de CTX-M en las distintas especies bacterianas.

Tabla 1. Co-existencia de distintos tipos de BLEE en una misma cepa bacteriana

n de BLEE en cada cepa	1	2	3
<i>Escherichia coli</i>	19%	48%	33%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40%	40%	20%
<i>Proteus mirabilis</i>	0%	100%	0%
Total	21%	52%	28%

Figura 4. Análisis de clonalidad de las cepas de *Escherichia coli* por electroforesis de campo pulsado.

L = referencia de pesos moleculares. C = control.

- A (blanco, continuo) = 2 cepas indistinguibles entre sí.

- A' (negro, punteado) = 2 cepas estrechamente relacionadas con A.

- B (blanco, punteado) = 2 cepas estrechamente relacionadas entre sí pero distintas de A y A'.

Figura 5. Análisis de clonalidad de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* por electroforesis de campo pulsado. La línea punteada muestra tres cepas estrechamente relacionadas entre sí. L = referencia de pesos moleculares. C = control.

90% de los pacientes, principalmente catéter urinario periférico (66%), catéter venoso central (59%), cirugía (38%) y ventilador mecánico (14%).

El tratamiento inicial incluyó cefalosporinas de 3ª ó 4ª generación (62%), carbapenémicos (17%) y piperacilina/tazobactam (17%). En 83% de los casos se realizó un cambio en el tratamiento al recibir el informe de suscepti-

Tabla 2. Características clínicas de los pacientes afectados por bacteriemias con enterobacterias productoras de BLEE

	n	%
Nº pacientes	29	100%
Sexo masculino	17/ 29	59%
Edad promedio (años)	69	-
Mayores de 65 años	18 / 29	62%
Foco de la bacteriemia comprobado	25 / 29	86%
Urinario	13 / 29	45%
Respiratorio	4 / 29	14%
Catéter venoso central	3 / 29	10%
Colangitis	3 / 29	10%
Otros	3 / 29	10%
IIH	12 / 29	41%
Otra IIH concomitante	7 / 29	24%
Unidad de Cuidados Intensivos	9 / 29	31%
Días promedio	18	-
Patología de riesgo asociada	22 / 29	76%
Neoplasia	13 / 29	45%
Diabetes mellitus	8 / 29	28%
Neutropenia	3 / 29	10%
Insuficiencia renal crónica	3 / 29	10%
Enf. obstructiva tracto urinario	2 / 29	7%
Daño hepático crónico	2 / 29	7%
Dispositivo o tratamiento invasor	26 / 29	90%
Catéter urinario periférico	19 / 29	66%
Catéter venoso central	17 / 29	59%
Cirugía	11 / 29	38%
Ventilación mecánica	4 / 29	14%
Díalisis	2 / 29	7%
Hospitalización en el último año	16 / 29	55%
Días totales promedio	21	-
Uso de antimicrobianos en los últimos 2 meses	13 / 29	45%
Penicilinas	2 / 29	7%
Cefalosporinas 1ª – 2ª G	0 / 29	0%
Cefalosporinas 3ª – 4ª G	7 / 29	24%
Amikacina	3 / 29	10%
Gentamicina	0 / 29	0%
Ciprofloxacina	4 / 29	14%
Moxifloxacina	1 / 29	3%
Piperacilina/tazobactam	2 / 29	7%
Carbapenémicos	3 / 29	10%

IIH = infección intrahospitalaria (no hay datos suficientes para determinar los casos de infección asociada a la atención de salud).

Tabla 3. Tratamiento antimicrobiano utilizado y resultados clínicos

Antimicrobianos y evolución de los pacientes	n	%
<i>Tratamiento inicial de la infección</i>		
Cefalosporina 1ª – 2ª G	1 / 29	3%
Cefalosporina 3ª G	12 / 29	41%
Cefalosporina 4ª G	6 / 29	21%
Amikacina	4 / 29	14%
Gentamicina	1 / 29	3%
Ciprofloxacina	2 / 29	7%
Levofloxacina	2 / 29	7%
Moxifloxacina	1 / 29	3%
Piperacilina/tazobactam	5 / 29	17%
Carbapenémicos	5 / 29	17%
<i>Cambio al recibir el informe de susceptibilidad</i>	24 / 29	83%
cambio a carbapenémico	15 / 29	52%
cambio a amikacina + carbapenémico	3 / 29	10%
cambio a piperacilina/tazobactam	3 / 29	10%
cambio a ciprofloxacina	1 / 29	3%
<i>Shock séptico</i>	7 / 29	24%
<i>Muerte durante la hospitalización</i>	5 / 29	17%

bilidad, en la mayoría de ellos a carbapenémicos. El 17% restante correspondió a pacientes que ya estaban siendo tratados con carbapenémicos por presentar factores de riesgo, o bien, pacientes que fallecieron antes de recibir el informe de susceptibilidad, o por indicación de limitación del esfuerzo terapéutico. Cursó con *shock séptico* el 24% de los pacientes y 17% fallecieron durante la estadía hospitalaria. No se encontró asociación significativa entre tratamiento inicial inadecuado y *shock séptico* ($p = 0,54$) o mortalidad ($p = 1,0$), ni entre tipos moleculares y *shock séptico* o mortalidad.

Discusión

Esta es la primera descripción en Chile de las características clínicas y moleculares de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE en pacientes hospitalizados. Cuarenta y un por ciento de ellas estaban relacionadas con la atención de salud. Entre los hallazgos relevantes destaca la frecuencia de BLEE, que no había sido descrita previamente en nuestro país: 9,8% de las cepas fueron productoras de BLEE. En las cepas estudiadas se encontró un alto porcentaje de resistencia a ciprofloxacina (especialmente en *E. coli*) y gentamicina,

escasa resistencia a amikacina (a excepción de las cepas de *K. pneumoniae*) y piperacilina/tazobactam, y 100% de susceptibilidad a carbapenémicos. El tipo de BLEE más frecuente fue CTX-M (con predominio de CTX-M-1), seguida por el tipo TEM, GES y SHV. Este último se encontró sólo en las cepas de *K. pneumoniae*, mientras que el tipo GES se encontró sólo en *E. coli*. En la mayoría de las cepas se identificó más de un tipo de BLEE. En el análisis clínico se observó una alta frecuencia de patologías de riesgo asociadas, siendo más frecuentes las neoplasias y diabetes mellitus. La mayoría de los pacientes habían sido sometidos a procedimientos invasores, destacándose la instalación de catéter urinario o venoso central y la realización de cirugías. Cerca de la mitad de los pacientes había recibido tratamiento antimicrobiano en los dos meses previos, principalmente cefalosporinas de 3ª generación y quinolonas. En la mayoría de los casos, el tratamiento de la infección actual consistió inicialmente en cefalosporinas de 3ª generación. Luego de recibir el informe de susceptibilidad, en casi todos los casos se modificó el esquema antimicrobiano, principalmente a carbapenémicos.

La frecuencia de BLEE encontrada en este estudio es inferior a la reportada en otros países de Sudamérica, aunque la mayoría de los estudios publicados incluyen todo tipo de infecciones, no sólo bacteriemias²⁷. Los hallazgos de susceptibilidad a antimicrobianos (resistencia a quinolonas y aminoglucósidos) coinciden con lo descrito en la literatura científica^{2,28}. El gran porcentaje de cepas de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina que se observó en este trabajo, se ha reportado previamente en estudios de bacteriemias por *E. coli* productoras de BLEE^{12,29}, y un estudio observó además la diferencia con *K. pneumoniae*, en la que se encontró mayor porcentaje de cepas susceptibles a quinolonas⁸. Sin embargo, la mayor tasa de resistencia a amikacina en las cepas de *K. pneumoniae* con respecto a *E. coli* no se había descrito previamente en bacteriemias. Todos estos elementos podrían ser considerados al momento de elegir el tratamiento empírico en los casos de bacteriemia por alguna de estas dos especies de enterobacterias. La resistencia a carbapenémicos en bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE no ha sido reportada en la literatura médica y tampoco se encontró en el presente trabajo.

El perfil de tipos moleculares de BLEE coincide con las tendencias reportadas en el mundo, en las que se observa un incremento progresivo del tipo CTX-M^{1,3,27,28,30-33}. La presencia de CTX-M tiene relevancia clínica ya que se ha demostrado que este tipo de BLEE se asocia a brotes no clonales, mediante transmisión de plásmidos³⁴ y puede asociarse a la aparición de resistencia a carbapenémicos intra-tratamiento si se asocia a la pérdida de porina Omp de 36 kDa en *K. pneumoniae* y porina OmpC en *E. coli*^{33,35,36}. Dentro del tipo CTX-M, el predominio de CTX-

M-1 que se observa en *E. coli* concuerda con lo reportado en otros estudios de distintas regiones del mundo³⁷⁻⁴⁰. La presencia de CTX-M-9 en *E. coli* fue descrita recientemente en Chile, en un estudio en animales de compañía⁴¹. La detección de SHV en *K. pneumoniae* coincide con lo reportado en la literatura científica^{15,18,31,32}. El tipo GES fue encontrado en ocho cepas de *E. coli*. Este hallazgo es relevante, ya que este tipo de BLEE se ha descrito casi exclusivamente en *Pseudomonas aeruginosa*⁴²⁻⁴⁸ y *K. pneumoniae*⁴⁹⁻⁵², y sólo se han reportado dos casos en *E. coli*^{53,54}. Las BLEE de tipo GES suelen conferir resistencia a carbapenémicos, lo cual se ha demostrado en las tres especies mencionadas (aunque no en bacteriemias). Si bien todas las cepas estudiadas en este trabajo resultaron susceptibles a carbapenémicos, es importante considerar que la presencia de GES en nuestro país puede influir en la aparición de resistencia a estos antimicrobianos en *E. coli* y *K. pneumoniae*. La presencia de más de un tipo de BLEE ha sido descrita en la literatura médica, en porcentajes variables. Se han encontrado dos tipos hasta en 24% de las cepas de enterobacterias causantes de bacteriemias^{7,14,18,29,55}, y en un estudio se encontró 1% de cepas productoras de tres tipos de BLEE¹⁸. En este trabajo, en cambio, en 52% de las cepas se identificaron dos tipos de BLEE, y en 28% se encontraron tres tipos. El significado clínico de este hallazgo aún no es claro.

Entre los hallazgos moleculares se encontró policlonalidad de las cepas, indicando así que en nuestra serie no es frecuente la transmisión de estos microorganismos entre los pacientes. Probablemente un factor relevante frente al hallazgo de policlonalidad es el énfasis en medidas de control de transmisión de IAAS de nuestro centro hospitalario. Así, la presión selectiva antimicrobiana podría en este caso jugar un rol más significativo. Cabe destacar que nuestro hospital es un centro de referencia que concentra pacientes complejos, con co-morbididades y multi-invadidos, quienes con frecuencia requieren antimicrobianos de amplio espectro.

Las características clínicas de los pacientes estudiados coinciden con los principales factores de riesgo para bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE descritos en la literatura científica. En particular, destaca el uso de catéter venoso central^{13,16}, catéter urinario periférico^{12-14,16} y tratamiento previo con antimicrobianos^{15,16}, especialmente cefalosporinas de 3° generación^{6,8,12,13,55}. Estos hallazgos confirman la necesidad de sospechar la presencia de BLEE cuando se detecta una bacteriemia por enterobacterias en un paciente con estas características. La presencia de neoplasia, encontrada en cerca de la mitad de los pacientes, había sido estudiada previamente como posible factor de riesgo, sin encontrar asociación significativa^{10,15,16,55}. Es necesario destacar que el presente estudio es de carácter descriptivo, por lo que no es posible determinar si los hallazgos clínicos descritos se asocian

en forma significativa a la presencia de BLEE en las cepas estudiadas.

En este estudio se encontró que la mortalidad global durante la hospitalización fue de 14% (4 de 28 pacientes). La causa de muerte no fue registrada, por lo que la mortalidad descrita no podría atribuirse exclusivamente a las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE. El tratamiento antimicrobiano inicial inadecuado, ampliamente descrito como predictor de mortalidad en bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE^{15,29,56}, no se asoció en forma significativa a la mortalidad en los pacientes estudiados. Esto puede deberse en parte al bajo número de pacientes y a que no se logró realizar seguimiento luego del alta hospitalaria. Dado que el estudio fue realizado en un centro de referencia, hubo pacientes que se hospitalizaron para resolución del cuadro infeccioso, y luego continuaron sus atenciones de salud en su centro respectivo. Se desconoce si alguno de ellos falleció, debido a la infección, con posterioridad al alta.

La correlación entre tipos moleculares de BLEE y shock séptico o mortalidad no mostró asociaciones estadísticamente significativas en este estudio. Lo mismo ha sucedido con los pocos trabajos que han analizado esta correlación^{7,29,55}, aunque en una publicación se encontró tendencia a mayor mortalidad en los pacientes portadores de cepas con más de un tipo de BLEE ($p = 0,05$)¹⁸. Es necesario destacar que en este trabajo no fue posible identificar asociaciones significativas entre las variables clínicas mencionadas y la presencia de CTX-M, ya que sólo una de nuestras cepas no presentó este tipo de BLEE.

En Chile faltan estudios de casos y controles destinados a establecer factores de riesgo para tener una bacteriemia causada por enterobacterias productoras de BLEE. Estos datos podrían constituir la base para el desarrollo de protocolos de tratamiento inicial en caso de sospecha de este tipo de infecciones. Se necesita además conocer el perfil epidemiológico local de cada centro. Resultados de estos estudios podrían emplearse para establecer una red nacional de vigilancia de resistencia a antimicrobianos. Finalmente, falta profundizar en la caracterización molecular de las BLEE y su correlación con la evolución clínica de los pacientes.

Las limitaciones de este estudio derivan de su carácter retrospectivo, el cual no permitió recolectar la totalidad de las cepas y, dado que en el primer periodo no se hacía test confirmatorio a la totalidad de las cepas, pudieran no haberse considerado todas las bacteriemias producidas por cepas productoras de BLEE. Además, el reducido número de casos limita la potencia estadística de los resultados. Por otra parte, la muestra representa la realidad de un solo centro, por lo que sus resultados podrían no ser extrapolables a otros hospitales en el país. Tampoco fue posible evaluar la mortalidad atribuible a la bacteriemia por enterobacteria productora de BLEE.

Dado que las bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de BLEE pueden ser muy graves e incluso letales, es necesario tener un alto índice de sospecha de estas infecciones a partir de los factores de riesgo de los pacientes y el perfil epidemiológico local, para así indicar un tratamiento antimicrobiano adecuado y oportuno. Es aconsejable el uso juicioso de los antimicrobianos con el fin de evitar la aparición de mecanismos de resistencia bacteriana, así como también extremar las medidas de prevención de IAAS y su transmisión, tanto a nivel personal como institucional. Esto permitiría además incorporar los resultados a la base de datos de la red nacional de vigilancia de resistencia a antimicrobianos.

Resumen

Introducción: β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas plasmidiales que confieren resistencia a múltiples antimicrobianos. Las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE restringen las opciones terapéuticas y aumentan la mortalidad. **Objeti-**

vo: Realizar una descripción clínica y molecular de las bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de BLEE. **Método:** Se estudiaron retrospectivamente los casos de bacteriemia por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus* spp. confirmadas para BLEE, en adultos ingresados en un hospital universitario durante los años 2004-2007. Se revisaron los registros clínicos y de susceptibilidad. Se realizó tipificación molecular por reacción de polimerasa en cadena y estudio de clonalidad por electroforesis de campo pulsado. **Resultados:** Se identificó una prevalencia de BLEE de 9,8% en enterobacterias causantes de bacteriemias. Se observó susceptibilidad disminuida a quinolonas y aminoglucósidos, sin resistencia a carbapenémicos. Los tipos de BLEE predominantes fueron CTX-M (96%), TEM (62%) y GES (28%). El 79% de las cepas presentó más de un tipo de BLEE. El análisis clínico reveló alta frecuencia de patologías de riesgo, uso previo de antimicrobianos y uso de dispositivos invasores. No se encontró clonalidad significativa. **Conclusión:** La presencia de BLEE en bacteriemias constituye un problema clínico que debe ser considerado al elegir la terapia empírica.

Referencias

- 1.- Paterson D L, Bonomo R A. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 657-86.
- 2.- Pitout J D, Gregson D B, Church D L, Elsayed S, Laupland K B. Community- wide outbreaks of clonally related CTX-M-14 beta-lactamase producing *Escherichia coli* strains in the Calgary health region. J Clin Microbiol 2005; 43: 2844-9.
- 3.- Gupta V. An update on newer beta-lactamases. Indian J Med Res 2007; 126: 417-27.
- 4.- Reinert R R, Low D E, Rossi F, Zhang X, Waitat C, Dowzicky M J. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/ Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 1018e-29.
- 5.- Schwaber M J, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2007; 60 (5): 913-20.
- 6.- Superti S V, Augusti G, Zavascki A P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 2009; 51 (4): 211-6.
- 7.- Wong-Beringer A, Hindler J, Loeffel M, Queenan A M, Lee N, Pegues D A, et al. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. Clin Infect Dis 2002; 34 (2): 135-46.
- 8.- Paterson D L, Ko W C, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas J M, Goossens H, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections. Ann Intern Med 2004; 140 (1): 26-32.
- 9.- Cordery R J, Roberts C H, Cooper S J, Bellinghan G, Shetty N. Evaluation of risk factors for the acquisition of bloodstream infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in the intensive care unit; antibiotic management and clinical outcome. J Hosp Infect 2008; 68 (2): 108-15.
- 10.- Du B, Long Y, Liu H, Chen D, Liu D, Xu Y, et al. Extended-spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. Int Care Med 2002; 28: 1718-23.
- 11.- Schwaber M J, Navon-Venezia S, Kaye K S, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. Clinical and economic impact of bacteremia with extended spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50 (4): 1257-62.
- 12.- Ho P L, Chan W M, Tsang K W, Wong S S, Young K. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamase: a case-control study of risk factors and outcomes. Scand J Infect Dis 2002; 34: 567-73.
- 13.- Panhotra B R, Saxena A K, Al-Ghamdi A M. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* hospital acquired bacteremia. Risk factors and clinical outcome. Saudi Med J 2004; 25 (12): 1871-6.
- 14.- Endimiani A, Luzzaro F, Brigante G, Perilli M, Lombardi G, Amicosante G, et al. *Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49 (7): 2598-605.
- 15.- Tumbarello M, Spanu MT, Sanguinetti M, Citton R, Montuori E, Leone F, et al. bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50 (2): 498-504.
- 16.- Menashe G, Borer A, Yagupsky P, Peled N, Gilad J, Fraser D, et al. Clinical significance and impact on mortality of extended-spectrum beta lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in nosocomial bacteremia. Scand J Infect Dis 2001; 33 (3): 188-93.
- 17.- Kang C I, Kim S H, Park W B, Lee K D, Kim H B, Kim E C, et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for

- mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48 (12): 4574-81.
- 18.- Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Trecarichi E M, Posteraro B, Fiori B., et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51 (6): 1987-94.
- 19.- Tumbarello M, Sali M, Trecarichi E M, Leone F, Rossi M, Fiori B, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase producing *Escherichia coli*: Risk factors for inadequate initial antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52 (9): 3244-52.
- 20.- Gutmann L, Ferré B, Goldstein F W, Rizk N, Pinto-Schuster E, Acar J F, et al. A novel SHV-type beta-lactamase that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins and monobactams. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33 (6): 951-6.
- 21.- Bello H, Trabal N, Ibáñez D, Reyes A, Domínguez M, Mella S, et al. β -lactamasas de familias diferentes a TEM y SHV en cepas de *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae* aisladas en hospitales chilenos. *Rev Med Chile* 2005; 133: 737-9.
- 22.- Sánchez U M, Bello T H, Domínguez Y M, Mella M S, Zemelman Z R, González R G. Transference of extended-spectrum beta-lactamases from nosocomial strains of *Klebsiella pneumoniae* to other species of *Enterobacteriaceae*. *Rev Med Chile* 2006; 134 (4): 415-20.
- 23.- Díaz P Q, Bello H T, Domínguez M Y, Trabal N F, Mella S M, Zemelman R Z, et al. Resistance to gentamicin, amikacin and ciprofloxacin among nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamases. *Rev Med Chile* 2004; 132 (10): 1173-8.
- 24.- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement. Approved standard M100-S15. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- 25.- Coque T M, Oliver A, Pérez-Díaz J C, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 500-10.
- 26.- Tenover F C, Arbeit R D, Goering R V, Mickelsen P A, Murray B E, Persing D H, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (9): 2233-9.
- 27.- Villegas M V, Kattan J N, Quinteros M G, Casellas J M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in South America. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 Suppl 1: 154-8.
- 28.- Falagas M E, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009; 73 (4): 345-54.
- 29.- Rodríguez-Baño J, Navarro M D, Romero L, Muniain M A, de Cueto M, Ríos M J, et al. Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (11): 1407-14.
- 30.- Jacoby G A, Munoz-Price L S. The new beta-lactamases. *N Engl J Med* 2005; 352 (4): 380-91.
- 31.- Hawkey P M. Prevalence and clonality of extended-spectrum beta-lactamases in Asia. *Clin Microbiol Infect* 2008; Suppl 1: 159-65.
- 32.- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; Suppl 1: 144-53.
- 33.- Rossolini G M, D'Andrea M M, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; Suppl 1: 33-41.
- 34.- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48 (1): 1-14.
- 35.- Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, Bautista V, Rodríguez M C, Velasco M, et al. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32 (6): 534-7.
- 36.- Song W, Suh B, Choi J Y, Jeong S H, Jeon E H, Lee Y K, et al. *In vivo* selection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* by OmpK36 loss during meropenem treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65 (4): 447-9.
- 37.- Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, D'Andrea M M, Giacobone E, Amicosante G, et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* from a hospital in northern Italy. *J Clin Microbiol* 2003; 41 (9): 4264-9.
- 38.- Woodford N, Kaufmann M E, Karisik E, Hartley J W. Molecular epidemiology of multiresistant *Escherichia coli* isolates from community-onset urinary tract infections in Cornwall, England. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59 (1): 106-9.
- 39.- Prelog M, Fille M, Prodinger W, Grif K, Brunner A, Würzner R, et al. CTX-M-1-related extended-spectrum beta-lactamases producing *Escherichia coli*: so far a sporadic event in Western Austria. *Infection* 2008; 36 (4): 362-7.
- 40.- Tham J, Odenholt I, Walder M, Brolund A, Ahl J, Melander E. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in patients with travellers' diarrhoea. *Scand J Infect Dis* 2010; 42 (4): 275-80.
- 41.- Moreno A, Bello H, Guggiana D, Domínguez M, González G. Extended-spectrum beta-lactamases belonging to CTX-M group produced by *Escherichia coli* strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. *Vet Microbiol* 2008; 129 (1-2): 203-8.
- 42.- Castanheira M, Mendes R E, Walsh T R, Gales A C, Jones R N. Emergence of the extended-spectrum beta-lactamase GES-1 in a *Pseudomonas aeruginosa* strain from Brazil: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob. Agents Chemother* 2004; 48: 2344-5.
- 43.- Dubois V, Poirel L, Marie C, Arpin C, Nordmann P, Quentin C. Molecular characterization of a novel class 1 integron containing bla (GES-1) and a fused product of aac3-Ib/aac6-Ib' gene cassettes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 638-45.
- 44.- Poirel L, Weldhagen G F, Naas T, De Champs C, Dove M G, Nordmann P. GES-2, a class A beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2598-603.
- 45.- Weldhagen G F, Prinsloo A. Molecular detection of GES-2 extended spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in Pretoria, South Africa. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24: 35-8.
- 46.- Picão RC, Poirel L, Gales A C, Nordmann P. Diversity of beta-lactamases produced by ceftazidime resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing bloodstream infections in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53 (9): 3908-13.
- 47.- Shahcheraghi F, Nikbin V S, Feizabadi M M. Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in Tehran. *Microb Drug Resist* 2009; 15 (1): 37-9.
- 48.- Labuschagne C de J, Weldhagen G F, Ehlers M M, Dove M G. Emergence of class 1 integron-associated GES-5 and GES-5-like extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in South Africa. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31 (6): 527-30.
- 49.- Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2000; 44: 622-32.
- 50.- Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T H, et al. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A beta-lactamase,

- GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother* 2004; 48: 1960-7.
- 51.- Duarte A, Boavida F, Grosso F, Correia M, Lito L M, Cristino J M, et al. Outbreak of GES-1 β -lactamase-producing multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a university hospital in Lisbon, Portugal. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1481-2.
- 52.- Mendonça N, Ferreira E, Louro D; ARSIP participants, Caniça M. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of extended- and broad-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in Portugal. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 34 (1): 29-37.
- 53.- Machado E, Coque T M, Cantón R, Novais A, Sousa J C, Baquero F, et al. Portuguese Resistance Study Group. High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60 (6): 1370-4.
- 54.- Poirel L, Carattoli A, Bernabeu S, Bruderer T, Frei R, Nordmann P. A novel IncQ plasmid type harbouring a class 3 integron from *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65 (8): 1594-8.
- 55.- Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández J R, Cisneros J M, Peña C, et al. Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2010; 48 (5): 1726-31.
- 56.- Schiappa D A, Hayden M K, Matushek M G, Hashemi F N, Sullivan J, Smith K Y, et al. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation. *J Infect Dis* 1996; 174 (3): 529-36.