

Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela

Extended-Spectrum β -Lactamase Producers Isolated from Hemocultures at the University Hospital in Venezuela

Sandrea-Toledo, Lisette; Paz-Montes, América; Piña-Reyes, Eyilde y Perozo-Mena, Armindo

Cátedra Práctica Profesional de Bacteriología, Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. E-mail: lsandrea@cantv.net

Resumen

La producción de β -Lactamasas de espectro extendido (BLEE) es un mecanismo importante de resistencia a los agentes antimicrobianos en los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. El objetivo del presente estudio es determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE aisladas de hemocultivos. Se procesaron 21.023 hemocultivos en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo durante el período Junio 2002 a Junio 2006. Fueron estudiados siguiendo la técnica convencional descrita por Murray (2003) y la identificación de las enterobacterias fue mediante la metodología de Edward e Ewing. Para las pruebas de susceptibilidad se siguió la metodología sugerida por Bauer y Kirby (1996) según normas del CLSI (2006) y la producción de BLEE por Jarlier (1988). Del total de hemocultivos procesados, 2.371 (11,28%) dieron positivos y en 384 (16,20%) de ellos se aislaron enterobacterias, y resultaron ser BLEE + 152 cepas (39,48%). *Klebsiella pneumoniae* fue la especie predominante y de 158 cepas, 97 (61,39%) fueron BLEE+, seguida de *Escherichia coli* con 122 aislamientos, 37 (30,33%) fueron BLEE+. Otras especies encontradas fueron: *Morganella morganii* (1/4: 25,0%), *Enterobacter cloacae* (11/45: 24,44%), *Serratia marcescens* (2/9: 22,22%), *Klebsiella oxytoca* (3/14: 21,43%), y *Enterobacter aerogenes* (1/5: 20,0%). Se observó una resistencia elevada a los aminoglicosidos y una baja resistencia a las quinolonas en las cepas de Enterobacterias BLEE positivas estudiadas. La producción de BLEE en las enterobacterias se ha tornado un problema terapéutico en el ámbito mundial, principalmente si éstas producen bacteriemia.

Palabras clave: β -Lactamasas, Resistencia a betalactámicos, hemocultivos, enterobacterias, BLEE.

Abstract

The extended-spectrum β -Lactamase (ESBL) is an important mechanism of resistance to the antimicrobial agents in members of the *Enterobacteriaceae* family. The objective of the present study was to determine the frequency of extended-spectrum betalactamase-producing enterobacteria isolated from hemocultures at a University Hospital. 21.023 hemocultures from the Bacteriological Reference Center of the Autonomous Service at the University Hospital, Maracaibo, Venezuela were processed during the period of June 2002 to June 2006. They were studied according to the conventional technique described by Murray (2003), and the enterobacteria were identified using the methodology of Edward and Ewing (1996). For susceptibility tests, methodology suggested by Bauer y Kirby (1996), according to CLSI norms (2006) was followed, and for ESBL production, methodology suggested by Jarlier (1988) was used. Of the total hemocultures processed, 2.371 (11.8%) resulted positive, and in 384 (16.20%), enterobacteria were isolated and 152 strains (39.48%) turned out ESLB+. *Klebsiella pneumoniae* was the predominant specie and of 158 strains, 97 (61.39%) were ESLB+, followed by *Escherichia coli* with 122 isolates, 37 (30.33%) of them ESLB+. Other ESLB-producing species found were: *Morganella morgannii* (1/4: 25.0%), *Enterobacter cloacae* (11/45: 24.44%), *Serratia marcescens* (2/9: 22.22%), *Klebisella oxytoca* (3/14: 21.43%), and *Enterobacter aerogenes* (1/5: 20.0%). A high resistance to aminoglycosides and a low resistance to quinolines were observed in the ESLB-producing enterobacteria studied. ESLB production in enterobacteria has become a therapeutic problem world wide, mainly if they are producing bacteraemia.

Key words: β -Lactamases, B-lactámic resistance, hemocultures, enterobacteria.

Introducción

La resistencia a los antibióticos constituye un problema serio de salud pública en el mundo el cual se ha agudizado durante los últimos años, especialmente en los países subdesarrollados donde carecen de políticas apropiadas para la utilización de estos fármacos, contribuyendo a su uso indiscriminado y por consiguiente a la aparición de cepas bacterianas multiresistentes a los antibióticos. Las cepas bacterianas resistentes son altamente transmisibles y se diseminan rápidamente debido a la infraestructura ineficiente en salud pública y las prácticas de control erradas de las infecciones.

De hecho, uno de los grupos de antibióticos mayormente utilizados en la actualidad y con gran significancia clínica es el llamado grupo de los β -lactámicos, los cuales incluyen

las Penicilinas, Cefalosporinas, Cefamicinas, Carbapenems y Monobactámicos, entre otros, los cuales son ampliamente utilizados para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, debido a su baja toxicidad y su amplio espectro de acción (4, 5, 6).

No obstante, los microorganismos son capaces de desarrollar enzimas inactivantes que se caracterizan por conferir resistencia a estos antibióticos. Una de esas enzimas, es la β -lactamasa de Espectro Extendido (BLEE), que le confiere resistencia a los β -lactámicos, siendo inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores como el tazobactam y el sulbactam. Las BLEE clásicas derivan de las β -lactamasas con actividad fundamentalmente penicilinasas, y debido a mutaciones en su centro activo, han extendido su efecto hidrolítico a las cefalosporinas de espectro extendido y a los monobactámicos.

La aparición de bacterias productoras de BLEE tiene importantes repercusiones clínicas y terapéuticas: a) la mayoría de los aislamientos tienen codificada la resistencia en plásmidos que pueden ser transmitidos a otros microorganismos; b) son causantes de brotes; c) aumentan la morbimortalidad nosocomial; y d) limitan las opciones terapéuticas, incrementándose el uso de antibióticos costosos como el imipenem.

Se ha demostrado que las infecciones causadas por un microorganismo productor de BLEE representa un riesgo elevado de falla en el tratamiento con un antibiótico β -lactámico de espectro extendido; por lo tanto, se recomienda que cualquier microorganismo BLEE positivo, de acuerdo a los lineamientos descritos por el Control and Laboratory Standard Institute (CLSI), sea reportado como resistente a todos estos antibióticos (Cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación), independientemente de que resulten sensibles *in vitro* (4).

En Venezuela, como en el resto del mundo la resistencia a los antimicrobianos plantea una amenaza grave y cada vez mayor para la salud pública. Dentro de la familia *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* han logrado porcentajes de resistencia significantes para los β -lactámicos a excepción de imipenem y meropenem, cefoperazone sulbactam, cefepime y piperacilina tazobactam (7).

Los únicos β -lactámicos que mantienen actividad frente a las enterobacterias productoras de estas enzimas son, además de las cefamicidas, como la cefoxitina, las combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas y las carbapenems. La utilidad de las cefamicidas para el tratamiento de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE es limitada debido al frecuente desarrollo de resistencia por pérdida de expresión de

las porinas a través de las cuales penetra el antibiótico a la célula bacteriana. La amoxicilina / ácido clavulánico es una buena opción para el tratamiento de las infecciones urinarias por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE, siempre y cuando sean sensibles, ya que es frecuente la resistencia a esta combinación por producción simultánea de otras β -lactamasas, alteraciones de permeabilidad o, en menor medida, la hiperproducción de la propia BLEE. Las especies de enterobacterias productoras de β -lactamasa cromosómica AmpC (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, etc.) son intrínsecamente resistentes a la cefoxitina y a la amoxicilina / ácido clavulánico, con lo cual la única opción entre los β -lactámicos para el tratamiento de las cepas productoras de BLEE sería, además de las carbapenems, la piperacilina tazobactam.

En cuanto al uso de antibióticos no β -lactámicos para el tratamiento de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE, es preciso tener en cuenta la frecuente coexistencia de otros determinantes genéticos que confieren resistencia a otros antimicrobianos, como los aminoglicósidos o el cotrimoxazol. En muchos casos la resistencia se transfiere conjuntamente con el gen responsable de la BLEE en el mismo transposón, integrón o plásmidos.

En lo que respecta al uso de fluoroquinolonas, se debe resaltar que la frecuencia de resistencia a estos compuestos ha alcanzado ya niveles preocupantes, especialmente en *Escherichia coli*. En general, se observa una asociación significativa entre la producción de BLEE y la resistencia a estos antibióticos, especialmente en cepas de *Escherichia coli* causantes de infección urinaria en la comunidad. Puesto que la resistencia a fluoroquinolonas en enterobacterias depende casi exclusivamente de mutaciones en genes cromosómicos, la asocia-

ción no se debe a la transferencia conjunta de ambos mecanismos de resistencia sino, probablemente, a la selección de cepas con ambos mecanismos de resistencia por el frecuente uso de β -lactámicos y fluoroquinolonas en un mismo contexto terapéutico.

Es por lo tanto frecuente enfrentarse a un patrón de multiresistencia asociado a la producción de BLEE en *Enterobacteriaceae* que facilita la detección de estos microorganismos, pero que limita enormemente las opciones terapéuticas.

El presente estudio tiene como objetivo determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela (CRB-SAHUM).

Material y Métodos

Muestras: de Junio 2002 a Junio 2006, un total de 21.023 hemocultivos fueron procesados en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, procedentes de pacientes hospitalizados y ambulatorios. Se llevó a cabo un estudio descriptivo, retrospectivo y un muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

Procesamiento de las Muestras: para el aislamiento de las bacterias a partir de muestras de sangre (hemocultivo), se utilizó el método convencional (1), conformado por dos frascos: uno designado con la letra A, el cual contiene 50 mL de Caldo Soya Trypticasa y 15% de Sucrosa; y otro designado con la letra B conteniendo 100 mL de Caldo Thioglicolato, 0,025% de Liquoid y los suplementos hemina (0,5 mg/mL) y menadione (0,05 mg/mL). A cada frasco se le colocan entre 5 a 10 mL de sangre.

En el laboratorio estos frascos son incubados a una temperatura de 35°C durante 24 horas para el frasco A y 48 horas para el B. Transcurridas las primeras 24 horas, se procede a realizar la observación microscópica de ambos a fin de evidenciar signos de positividad. Presente o no éstos, se extraen 5 mL del frasco A y se colocan en un tubo estéril con una tapa de baquelita previamente identificado, se centrifuga a 2.500 r.p.m por 10 minutos, para luego descartar el sobrenadante y con el sedimento realizar un extendido y se colorea con Gram. Además se siembra en los medios de Agar Sangre Humana (ASH), Agar MacConkey (MC) y un Caldo Soya tripticasa (CST), los cuales se incuban en aerobiosis, así como Agar gelosa Chocolate (GC) incubando este en atmósfera de 5-10% de CO₂. En relación al frasco B de no haber signos de positividad a las 24 horas, a las 48 horas se realiza igual procesamiento practicado con el frasco A, sembrando en los mismos medios de cultivos a excepción del CST, el cual es sustituido por Caldo Thioglicolato, además se incluye una placa de Agar Sangre Humana enriquecida con hemina y menadione para permitir el crecimiento de bacterias anaeróbicas, la cual se incubaba en una atmósfera anaeróbica por 48 horas. De producirse el crecimiento de microorganismos en los medios de cultivos, se procedió a la identificación de las enterobacterias siguiendo la metodología descrita por Murray y col. (1).

Pruebas de Susceptibilidad: las pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos fue realizada utilizando el método de difusión en disco descrita por Bauer y Kirby (3), siguiendo estrictamente las normas del Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI) (4). Los agentes antimicrobianos probados fueron los siguientes: ampicilina (AM), amoxicilina / ácido clavulánico (AMC); aztreonam (ATM); imipenem (IPM);

meropenem (MEM); ceftazidime (CAZ); cefotaxime (CTX); ceftriazone (CRO); amikacina (AK); gentamicina (GM); tobramicina (TOB); netilmicina (NET); ciprofloxacina (CIP); norfloxacina (NOR); ofloxacina (OFX); levofloxacina (LEV); lomefloxacina (LOM). Todas las cepas que resultaron BLEE positivo fueron reportadas como resistentes a todos los antibióticos betalactámicos siguiendo las recomendaciones del CLSI (4).

Detección de β -lactamasas de Espectro Extendido: Para la detección de las cepas productoras de BLEE, fue utilizada la prueba de aproximación del doble disco descrita por Jarlier y col. (2). Para ello, se preparó un inóculo en solución salina fisiológica al 0,85% con el microorganismo y comparándolo de acuerdo al 0,5 de MacFarland. Este posteriormente fue sembrado con hisopo en una placa de Mueller-Hinton y se colocó un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) en el centro de la placa de petri y alrededor de éste se colocaron, a una distancia de 20 mm, los discos de CAZ (30 μ g), CTX (30 μ g), CRO (30 μ g) y ATM (30 μ g). La presencia de BLEE se manifiesta por el efecto sinérgico del inhibidor (efecto tapón de cor-

cho), bajo la forma de ampliación del halo en uno o varios de los betalactámicos.

Resultados

Del total de hemocultivos procesados en este estudio, 2.371 resultaron positivos y en 384 se aislaron enterobacterias (Tabla 1).

De las enterobacterias aisladas, 152 cepas resultaron ser BLEE positivo (Tabla 2). Con relación a la distribución por especie, en la Tabla 3 se observa que la bacterias que se aisló con mayor frecuencia fue *Klebsiella pneumoniae*, de 158 cepas probadas, 61,39% fueron BLEE positivo, mientras que en 37 de 122 cepas de *Escherichia coli* se detectó la producción de este tipo de enzima. Otras especies BLEE positivo fueron: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* y *Enterobacter aerogenes*.

Con relación a la resistencia a los antimicrobianos probados por especie BLEE positivo, de las 97 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, el 96,84% fueron resistentes a los aminoglicosidos, observándose diez (10) patrones diferentes (Tabla 4), notándose que 36 (39,13%) cepas fueron resistentes a todos los

Tabla 1. Hemocultivos positivos para Enterobacterias. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2006.

Hemocultivos	Total	Porcentaje (%)
Positivos	2.371	100,00
Enterobacterias	384	16,20

Tabla 2. Enterobacterias BLEE + y BLEE - aisladas de Hemocultivos. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2006.

Enterobacterias	Total	Porcentaje (%)
BLEE +	152	39,48
BLEE -	232	60,52
Total	384	100,00

Tabla 3. Especies de Enterobacterias BLEE + aisladas de hemocultivos. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2006.

Enterobacterias	BLEE +	%	BLEE -	%	Total	%
<i>K. pneumoniae</i>	97	61,39	61	38,61	158	100,00
<i>E. coli</i>	37	30,33	85	69,67	122	100,00
<i>E. cloacae</i>	11	24,44	34	75,56	45	100,00
<i>K. oxytoca</i>	3	21,43	11	78,57	14	100,00
<i>S. marcescens</i>	2	22,22	7	77,78	9	100,00
<i>M. morgannii</i>	1	25,00	3	75,00	4	100,00
<i>E. aerogenes</i>	1	20,00	4	80,00	5	100,00

Tabla 4 *K. pneumoniae* BLEE +. Patrones de Resistencia a los antibióticos probados. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2005.

Antibiótico	Resistencia	Porcentaje (%)
Aminoglucósidos	92	96,84
Patrones:		
K-TOB-GM-NET-AK	36	39,13
K-TOB-GM-AK	17	18,48
K-TOB-AK	15	16,30
K-TOB-GM-NET	7	7,61
K-TOB-NET-AK	5	5,43
K-TOB	4	4,35
K-TOB-NET	3	3,26
K-NET-AK	2	2,17
K-TOB-GM	2	2,17
GM	1	1,09
Quinolonas		
LOM-OFX-LEV-CIP-NOR	11	11,34

aminoglicósidos probados, y cinco (5) cepas fueron sensibles a todos ellos. En relación a las quinolonas, 11 (11,34%) cepas se presentaron resistentes a todas las probadas observándose un solo patrón de resistencia.

Escherichia coli, de 37 cepas BLEE positivo, 3 cepas (8,11%) fueron sensibles a todos los aminoglicósidos probados. 34 cepas re-

sultaron resistentes a estos antibióticos presentándose diez (10) patrones diferentes y once (11) de ellas fueron resistentes a todos. Para las quinolonas, se presentaron 9 cepas (24,32%) resistentes a todas las probadas, observándose un solo patrón (Tabla 5).

De las 3 cepas BLEE positivo de *Klebsiella oxytoca* aisladas, el 66,7% fueron resis-

Tabla 5. *E. coli* BLEE +. Patrones de Resistencia a los antibióticos probados. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2005.

Antibiótico	Resistencia	Porcentaje (%)
Aminoglicósidos	34	91,89
Patrones:		
K-TOB-GM-NET-AK	11	32,35
K-TOB-AK	6	17,65
K-TOB-GM-AK	4	11,76
K-TOB-NET-AK	4	11,76
K-TOB-NET	3	8,82
K-TOB-NET-GM	2	5,88
GM	1	2,94
K-GM	1	2,94
K-TOB	1	2,94
K-TOB-GM	1	2,94
Quinolonas		
LOM-OFX-LEV-CIP-NOR	9	24,32

Tabla 6. *K. oxytoca* BLEE +. Patrones de Resistencia a los antibióticos probados. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2005.

Antibiótico	Resistencia	Porcentaje (%)
Aminoglicósidos	3	100,00
Patrones:		
K-TOB-GM-NET-AK	2	66,67
K-TOB-GM-NET	1	33,33

tentes a todos los aminoglicósidos probados. No se observó ninguna resistencia a las quinolonas (Tabla 6).

De las 11 cepas de *Enterobacter cloacae* (BLEE +) aisladas, se observó tres patrones de resistencia a los aminoglicósidos (Tabla 7), siendo 7 (70,00%) cepas resistentes a todos los probados y una cepa sensible a todos. Se aislaron 2 (20,0%) cepas resistentes a todas las quinolonas probadas.

Las cepas BLEE positiva de *Serratia marcescens* presentaron 100% de resistencia a los aminoglicósidos con un solo patrón de resistencia (kanamicina, tobramicina y amikacina), siendo todas ellas sensibles a las quinolonas (Tabla 8).

En nuestro estudio se observó que la resistencia a las quinolonas permanece baja, siendo para *Klebsiella pneumoniae* 11,34% (11 cepas), *Escherichia coli* un 24,32 (9 ce-

Tabla 7. *E. cloacae* BLEE +. Patrones de Resistencia a los antibióticos probados. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2005.

Antibiótico	Resistencia	Porcentaje (%)
Aminoglicósidos	10	90,91
Patrones:		
K-TOB-GM-NET-AK	7	70,00
K-TOB-GM-NET	2	20,00
K-TOB-GM	1	10,00
Quinolonas		
LOM-OFX-LEV-CIP-NOR	2	18,18

Tabla 8. *S. marcescens* BLEE +. Patrones de Resistencia a los antibióticos probados. Centro de Referencia Bacteriológica. Hospital Universitario de Maracaibo. Junio 2002-Junio 2005.

Antibiótico	Resistencia	Porcentaje (%)
Aminoglicósidos	2	100,00
Patrones:		
K-TOB-AK	2	100,00

pas), *Enterobacter cloacae* con 18,18% (2 cepas), siendo 100% sensibles para *Klebsiella oxytoca* y *Serratia marcescens*.

Discusión

El incremento en la resistencia generada por las Enterobacterias a los antibióticos, es un fenómeno mundial y no hay ningún centro hospitalario que escape a esta realidad (8). Este aumento es multifactorial, sin embargo, la presión ejercida sobre las bacterias tanto en el medio ambiente hospitalario como en el extrahospitalario ejerce un impacto notable (9).

De todos es conocido el empleo indiscriminado de los antimicrobianos que conduce a una rápida diseminación de cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido,

aunado a la estadía hospitalaria prolongada de los pacientes, lo que conlleva a brotes importantes e incluso a la muerte del paciente (10). De hecho, un reporte de 216 pacientes con bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* BLEE positiva, señala una tasa de mortalidad del 46% de los pacientes (11).

En los últimos años numerosos investigadores han reportado brotes hospitalarios a nivel mundial, los cuales han sido producidos principalmente por *Klebsiella pneumoniae*, los cuales concuerda con lo encontrado en esta investigación. De hecho, Branger y col. (12) en un estudio realizado en Francia, el 40% de *Klebsiella pneumoniae* fueron BLEE positivo. Del mismo modo Wu y col. (13) encontraron que de 88 cepas BLEE positivo el 37% fueron *Klebsiella pneumoniae*, seguido de *Enterobacter cloacae*; resultados estos

que difieren a los encontrados en este estudio. No obstante, en Japón Yagi y col. (14) encuentran que menos del 0,3% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y menos del 0,1% de *Escherichia coli* fueron productoras de BLEE, notándose la baja producción de BLEE en su país, resultados estos que difieren a los encontrados donde se observó una elevada producción de BLEE para estos microorganismos.

En este estudio, se observó una elevada resistencia a los aminoglicósidos probados para todas las enterobacterias BLEE positivo estudiadas, observándose que de 97 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 92 fueron resistentes, seguido de *Escherichia coli* que de 37 cepas, 34 fueron resistentes. Estos resultados concuerdan con Daoud y col. (15) los cuales encontraron una resistencia de aproximadamente un 85% en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Aunque las BLEE no tienen un efecto intrínseco sobre la actividad de los aminoglicósidos, la resistencia a estos antibióticos es a menudo co-transferido por plásmidos mediados por las BLEE (16). La relación entre la expresión de BLEE y la multiresistencia a aminoglicósidos puede ser compleja y está influenciada por la localización de los genes de resistencia o integrones que posee el microorganismo (17). Por lo tanto, los aminoglicósidos son a menudo no apropiados agentes terapéuticos para las cepas que expresan BLEE.

Debido a que las β -lactamasas no influyen en la actividad de los agentes no β -lactamasas, las quinolonas han sido consideradas como una atractiva alternativa en el tratamiento de infecciones, debido a cepas productoras de BLEE. Desafortunadamente, hay una incrementada asociación entre la producción de BLEE y la resistencia a quinolonas (11). Aunque la resistencia a las quinolonas es usualmente cromosómicamente, la re-

sistencia mediado por plásmidos ha sido documentado con un AmpC tipo -lactamasa (6). En nuestro estudio se observó que la resistencia a las quinolonas permanece baja, resultados estos que concuerdan con lo reportado por Flournoy y col. (18) que encontraron un rango aproximado del 1% de resistencia a las quinolonas para las enterobacterias.

No obstante, Patterson (11) observan un porcentaje más elevado de resistencia en *Klebsiella pneumoniae* BLEE positivo aisladas de sangre. De igual modo, Daoud y col. (15) encuentran elevados porcentajes (70%) de resistencia a las quinolonas, datos estos que difieren con lo encontrado en este estudio, argumentando los autores que esto está relacionado al uso indiscriminado de las quinolonas, ya que constituyen los antibióticos más recetados por los médicos en estos países. Patterson y col. (11) manifiestan que las cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE son más frecuentemente resistentes a las fluoroquinolonas que las cepas que no producen BLEE ya que las productoras de BLEE contienen mutaciones *gyrA*, solo o combinado con mutaciones *parC*.

Es también posible que los plásmidos que codifican las BLEE, o un plásmido adicional en la misma cepa, puedan contener un determinante parecido a *qnr* como el descrito para microorganismos expresando enzimas tipo AMPC, mediado por plásmidos (6).

Una explicación alternativa para la resistencia a las fluoroquinolonas en las cepas de *Klebsiella pneumoniae* BLEE positivo, es una decreciente permeabilidad de la membrana externa para estos antibióticos debido a alteraciones de las porinas. Las cepas BLEE negativo usualmente expresan las dos porinas (*OmpK35* y *OmpK36*) de las especies, por el contrario las cepas BLEE + comúnmente expresan solo a uno de estas porinas (normalmente *OmpK36*) o no la expresan (19).

Según lo planteado anteriormente, se puede concluir que se encontró una elevada incidencia de β -lactamasas de espectro extendido en las especies de enterobacterias aisladas de hemocultivos. De igual modo, se observó que las Enterobacterias productoras de BLEE presentaron elevadas resistencias a los aminoglicosidos probados y baja resistencia a las quinolonas estudiadas.

De igual forma se recomienda la caracterización de las BLEE utilizando metodologías especializadas para tal fin, a fin de conocer el tipo de BLEE que predomina en nuestro medio.

Referencias Bibliográficas

- (1) Murray, P.; Baron, E.; Jorgensen, J.; Tenover, M.; Tenover, M.; Tenover, R. Manual of Clinical Microbiology. (8va ed. American Society for Microbiology. Washington, DC. USA. 2003; vol. 1;384-404.
- (2) Jarlier, V.; Nicolas, M.; Fournier, G.; and Philippon, A. Extended broad-spectrum betalactamases conferring transferable resistance to newer B-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 1988; 10; 867-878.
- (3) Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J.; Turk, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. Am. J. Clin. Pathol. 1996; 45; 439-496.
- (4) Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A5 and international supplement M100-S10. 2006.
- (5) Mandel, G.; Douglas, R.; Bennett, J. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica 5ta Edición. Editorial Médica Panamericana. Tomo I. Buenos Aires. 2002.
- (6) Martínez, L.; Jacoby, G. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet. 1998; 351; 797-799.
- (7) Pineda, M.; Bonilla, X.; y Vargas, J. Resistencia Bacteriana. Boletín Informativo. Centro de Referencia Bacteriológica. Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo. 2004.
- (8) Comegna, M.; Guzmán, M.; Carmona, O.; Molina, M.; y grupo Colaborativo del Grupo Venezolano de Resistencia bacteriana. Resistencia Bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela. Nuevos hallazgos. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2000. Vol 20 (1).
- (9) Peña, C.; Pujol, M.; Ricart, A.; Ardanuy, C.; Ayats, J.; Linaire, J.; Garrigoza, F.; Ariza, J.; and Gudiol, F. Risk factors for faecal damage of *K. pneumoniae* producing extended-spectrum betalactamases in the intensive care unit. J. Hosp. Infec. 1997; 35; 16.
- (10) Richmond, M.; and Sykes, R. The B-lactamases of gramnegative bacteria and their possible physiological role. Adv. Microb. Physiol. 1973; 9; 31-88.
- (11) Paterson, D.; Mulazimoglu, L.; Casellas, J. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum B-lactamase producing in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteriemia. Clin Infect Dis. 2000; 30; 473-478.
- (12) Branger, C.; Lesimple, A.; Bronw, B.; Berry, P.; and Lambert, N. Long term investigation of the clonal dissemination of *K. pneumoniae* isolates producing extended-spectrum B-Lactamases in a university hospital. J. Med. Microbiol. 1998; 47; 210-219.
- (13) Wu, T.; Chia, J.; Su, L.; Huo, A.; Chu, C.; Chiu, C. Dissemination of Extended-Spectrum B-Lactamases producing *Enterobacteriaceae* in pediatric Intensive care Units. J. Clin. Microbiol. 2003; 41(10); 4836-38.
- (14) Yagi, T.; Kruokawa, H.; Shibata, N.; Shibayama, K.; and Arakawa, Y. Preliminary survey of extended-spectrum B-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol. Lett. 2000; 184; 53-56.

- (15) Daoud, J.; and Hakime, N. Prevalence and susceptibility patterns of extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general university hospital in Beirut. *Rev. Esp. Quimioterap.* 2003; 16(2); 233-38.
- (16) Jacoby, G. and Medeiros, A. More extended-spectrum β -lactamasas. *Antimicrob. Agents. Chemost.* 1991; 35; 1967-1704.
- (17) Poirel, L.; Le Thomas, I.; Naas, T. et al. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integrons in 52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44; 622-32.
- (18) Flournoy, D. Antimicrobial susceptibilities of bacteria from nursing home residents in Oklahoma. *Gerontology.* 1994; 40; 53-56.
- (19) Hernández, S.; Alberti, D.; Álvarez, D.; Doménech, A.; Martínez, I.; Gil, J.; Tomás, M.; and Benedí, J. Porin expresión in Clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology.* 1999; 145; 673-679.