

Las β -lactamasas de espectro ampliado (β LEA), son un grupo de enzimas de codificación plasmídica, derivadas de las β -lactamasas clásicas (TEM-1, TEM-2 y SHV-1). A diferencia de estas últimas, que confieren resistencia a amino y ureidopenicilinas, amplían el espectro hidrolítico a cefalosporinas de tercera generación y monobactames.

En 1983, se detectaron en Alemania los primeros aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y sensibles a cefoxitina. El análisis de estas cepas, demostró con posterioridad que la resistencia era debida a la producción de una β -lactamasa plasmídica transferible derivada de SHV-1 que se denominó SHV-2. Desde entonces, se han descrito por todo el mundo numerosas enzimas tipo TEM y SHV con este fenotipo de resistencia.

Las β LEAs hidrolizan amino y ureidopenicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactámicos; no hidrolizan carbapenemes. La acción hidrolítica de estas enzimas se ve contrarrestada por los inhibidores de las β -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam). En la clasificación de Bush *et al* de 1995 se las engloba en el grupo 2be, debido a sus características de hidrólisis (oxiimino- β -lactamasas) y a su origen en las β -lactamasas plasmídicas clásicas (TEM y SHV pertenecientes al grupo 2b).

También se han denominado como β LEAs las derivadas de TEM o SHV que confieren resistencia a inhibidores de las β -lactamasas. Estas enzimas difieren de las β -lactamasas clásicas TEM o SHV en que su acción hidrolítica sobre penicilinas no se ve inhibida por el ácido clavulánico. Su fenotipo es de resistencia a penicilinas y a combinaciones de penicilinas con inhibidores de las β -lactamasas y pertenecen al grupo 2br de la clasificación de Bush *et al* de 1995.

En los últimos años se han descrito nuevas β -lactamasas, también denominadas β -lactamasas de espectro ampliado que no derivan de TEM ni de SHV. Entre ellas se encuentran las cefalosporinasas derivadas de la integración del gen cromosómico de *ampC* en plásmidos, que confieren resistencia a todas las cefalosporinas, incluyendo cefamicinas; estas enzimas se han descrito en *K. pneumoniae* y *E. coli*. Otras nuevas β -lactamasas, también de espectro ampliado, son las carbapenemasas descritas recientemente en *Enterobacter cloacae* y *Serratia marcescens*.

Epidemiología de las enterobacterias productoras de β LEA

Las enterobacterias productoras de β LEA se han aislado con mayor frecuencia en muestras procedentes de pacientes hospitalizados, pero también pueden encontrarse en muestras de origen comunitario. Estos aislamientos pueden aparecer de forma esporádica, sin relación epidemiológica, o dar lugar a brotes nosocomiales. La mayoría de estas epidemias afectan a pocos pacientes (de 10 a 20) en un periodo corto de tiempo, pero cada vez es más frecuente la descripción de brotes nosocomiales más extensos.

La codificación plasmídica de este tipo de resistencia hace que sea fácilmente transferible por conjugación entre diferentes especies bacterianas. Además, estos plásmidos pueden llevar asociada resistencia a otros grupos de antimicrobianos por lo que nos encontramos con microorganismos multirresistentes. De este modo, podemos detectar brotes debidos a la diseminación de un plásmido (diferentes especies de enterobacterias- β LEA con un plásmido común), o bien a la diseminación de una cepa multirresistente (epidemia clonal).

El tubo digestivo actúa como reservorio de estos microorganismos multirresistentes; además es el nicho ecológico adecuado para que la resistencia se transmita a otras especies bacterianas. En casos de epidemia, la colonización fecal de los pacientes ingresados en unidades de riesgo puede llegar a más del 40%.

Dentro de las enterobacterias productoras de β LEA, *K. pneumoniae* es la especie que con mayor frecuencia causa brotes nosocomiales, seguida de *E. coli*. También se han encontrado otras especies como *Salmonella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, etc.

Las primeras epidemias de infección hospitalaria por *K. pneumoniae* productora de β LEA fueron descritos en Francia a finales de los ochenta. Desde entonces se han documentado por todo el mundo numerosos brotes nosocomiales causados por enterobacterias productoras de β LEA. Un estudio multicéntrico realizado en Unidades de Cuidados Intensivos de 10 países europeos, demostró que el 22,8% de aislamientos de *Klebsiella* spp eran productoras de β LEA, siendo *K. pneumoniae* la especie más importante.

Entre los años 1988-1990 se detectaron en nuestro país los primeros aislamientos de enterobacterias productoras de β LEA. Se encontraron 59 aislamientos que producían una β LEA tipo SHV-2; el 61% eran cepas de *K. pneumoniae*, el 31% de *S. marcescens*, el 5% de *K. oxytoca* y el 3% de *E. coli*. El brote nosocomial más importante descrito hasta el momento en España, tuvo lugar entre los años 1993-1995 en el Hospital de Bellvitge. Esta epidemia fue debida a la diseminación clonal de una cepa de *K. pneumoniae* productora de β LEA. Este brote afectó a 150 pacientes, de los que el 69,6% estaban ingresados en UCI. La cepa epidémica era resistente a cefalosporinas de tercera generación, aztreonam, gentamicina y ciprofloxacina y producía dos tipos de β -lactamasas tipo SHV transferibles por conjugación.

La aparición de brotes nosocomiales debidos a estos microorganismos depende tanto de las condiciones ambientales (elevado consumo de cefalosporinas de tercera generación, manipulación de los pacientes, etc.) como de las características especiales del microorganismo (factores de virulencia, adherencia, etc). Los factores de riesgo para adquirir infección/colonización son el consumo de antibióticos (especialmente cefalosporinas) y la cateterización arterial y/o urinaria

Para el control de estos brotes nosocomiales se han aplicado medidas como restricción en el consumo de cefalosporinas de tercera generación, aislamiento cutáneo de los pacientes colonizados/infectados y educación de personal sanitario en el lavado de manos y en el cuidado de la manipulación de los pacientes. La restricción en el consumo de cefalosporinas se relaciona en muchas ocasiones con el control del brote, señalándose como la medida más efectiva. La descontaminación intestinal selectiva como medida de control en estos brotes, sugerida por algunos autores, pueden ocasionar el desarrollo de nuevas resistencias o la selección de otros microorganismos multirresistentes por lo que su utilidad está en entredicho y hoy día no se recomienda.

Detección de β -lactamasas plasmídicas de espectro ampliado.

El laboratorio de microbiología es imprescindible en la detección de aislamientos de enterobacterias productoras de β LEA y de posibles brotes nosocomiales. El microbiólogo debe estar alerta ante un fenotipo de resistencia a β -lactámicos poco habitual e intentar buscar la explicación al mismo. La detección precoz de estas cepas es importante para instaurar el tratamiento adecuado y las medidas de aislamiento de los pacientes, necesarias para evitar la diseminación.

Como se ha comentado, la producción de este tipo de enzimas, confiere un fenotipo de resistencia a amino y ureidopenicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactames. Las combinaciones de penicilinas con inhibidores de las β -lactamasa pueden ser activas, aunque se han descrito casos de resistencia por hiperproducción de β LEA o por producción conjunta de β LEA y SHV-1. A pesar de la capacidad hidrolítica de estas enzimas sobre cefalosporinas de tercera generación y monobactames, las CMI de los microorganismos que la producen podrían clasificarse en la categoría de sensible según los criterios del NCCLS. En estos casos, cuando se trata de microorganismos tradicionalmente muy sensibles a cefalosporinas de tercera generación como *E. coli* o *K.pneumoniae* se detecta una elevación en las CMI a cefalosporinas de tercera generación (CMI > 2 μ g/mL) respecto a las que tienen los aislamientos de estas especies cuando no producen β LEA. Otra característica que puede ayudar a sospechar la presencia de una β LEA es que, generalmente, son cepas multirresistentes debido a que los plásmidos que las codifican suelen llevar asociada resistencia a otros grupos de antimicrobianos.

La acción hidrolítica de estas β LEAs hace que en algunas ocasiones generen CMI más elevadas a ceftazidima que a cefotaxima, y en otras ocurra lo contrario; por tanto es recomendable probar estos dos antibióticos en la determinación de la sensibilidad antibiótica a enterobacterias. Cuando se detecte la producción de β LEA se debe informar como resistente a cefalosporinas de tercera generación y monobactames para tomar las medidas epidemiológicas adecuadas y evitar que estos antibióticos se usen en el tratamiento. Como es lógico, se han descrito fallos terapéuticos en el curso del tratamiento con cefalosporinas de tercera generación de infecciones graves causadas por enterobacterias productoras de β LEA.

Técnica de la doble difusión con discos.

La identificación de cepas productoras de β LEA se detecta mediante la técnica de la sinergia del doble disco descrita por Legrand *et al.* Se realiza por difusión en agar utilizando una placa de Mueller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana ajustada al patrón de 0,5 de la escala McFarland; sobre ella se colocan, discos con carga estándar (30 mg) de cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima y aztreonam dispuestos a una distancia de 25-30 mm de discos de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 mg). Se considera sinergia positiva y, por tanto, presencia de una β LEA, cuando se observa una ampliación del halo de inhibición en alguna de las cefalosporinas o del aztreonam.

Esta técnica es de fácil realización y accesible a cualquier laboratorio de Microbiología Clínica. En aquellos casos que en la determinación de la sensibilidad antibiótica se utilice la técnica de difusión con discos, colocando cerca del disco de amoxicilina/ácido clavulánico los discos de cefalosporinas de tercera generación podemos detectar fácilmente las cepas productoras de β LEA.

Técnica de E-test

También se pueden utilizar tiras comerciales de E-test especialmente diseñado para la detección de cepas productoras de β LEA. Este E-test es una tira de papel impregnada con antibióticos, la mitad consta de una concentración decreciente de ceftazidima desde 32 μ g/mL hasta 0,5 μ g/mL; la otra mitad de la tira contiene ceftazidima/ácido clavulánico (2:1) en concentraciones decrecientes desde 8 μ g/mL hasta 0,12 μ g/mL, se considera positiva la sinergia con ácido clavulánico cuando se observa una disminución de dos o más diluciones de la CMI de ceftazidima cuando se le añade ácido clavulánico.

Esta técnica, accesible y de fácil realización, está limitada cuando la cepa sospechosa de producir β LEA tiene poca acción sobre ceftazidima. En estos casos las CMI de ceftazidima de la cepa a probar pueden estar por debajo de 0,5 μ g/mL y por tanto no detectables..

Técnica de la sinergia con inhibidores de las β -lactamasas

También se puede detectar la presencia de una β LEA mediante la realización de una CMI por micro o macrodilución de cefalosporinas de tercera generación con y sin inhibidor de β -lactamasa. Algunos paneles comerciales de microdilución llevan incorporada esta CMI. La realización de la prueba sólo con un antibiótico (p.e. ceftazidima) puede tener los mismos problemas que en el caso del E-test.

Problemas en la realización de estas técnicas

Estas técnicas tienen algunas limitaciones pues la hiperproducción de algunas β -lactamasas por algunos microorganismos concretos pueden dar positiva la sinergia con el ácido clavulánico:

1. La hiperproducción de la β -lactamasa cromosómica de *Proteus vulgaris*, *P. penneri* o *Citrobacter diversus* que es una cefuroxímasa inhibida por el ácido clavulánico puede dar un ampliación del halo con la cefuroxíma, cefotaxíma y ceftriaxona. La hiperproducción de esta enzima confiere resistencia a cefuroxíma, ceftriaxona y cefotaxíma, en cambio permanece sensible la ceftazidíma y el aztreonam.
2. La hiperproducción de la β -lactamasa K1 de *Klebsiella oxytoca* produce ampliación del halo con cefuroxíma, ceftriaxona, aztreonam y cefotaxíma, nunca con ceftazidíma. La hiperproducción de esta β -lactamasa confiere resistencia a cefuroxíma, ceftriaxona, cefotaxíma, aztreonam pero no a ceftazidíma. Por tanto, para diferenciar una cepa de *K. oxytoca* hiperproductora de K1 de una productora de β LEA habrá que fijarse en la CMI de este último antibiótico y si ésta se reduce en presencia de ácido clavulánico.
3. La hiperproducción de SHV-1 en *K. pneumoniae* causada por la presencia de múltiples copias del plásmido que las codifica también puede dar un fenotipo compatible con producción de β LEA. En estos casos se incrementan las CMIs a ceftazidíma (4-8 μ g/mL) y aztreonam (1-2 μ g/mL) mientras que afecta escasamente a las CMIs de cefotaxíma, cefepíme y ceftipíroma.
4. La producción de L2 de *Stenotrophomonas maltophilia* da sinergia positiva con aztreonam debido a que la acción hidrolítica de esta enzima sobre aztreonam se ve inhibida por el ácido clavulánico. Esto no debe confundirse con la presencia de una β LEA.

Alternativas terapéuticas en infecciones por enterobacterias productoras de β LEA

Sólo algunos β -lactámicos conservan su actividad frente a enterobacterias productoras de β LEA. Las cefamicinas, como cefoxitina, son frecuentemente activas y podrían ser usadas, pero estos antibióticos desarrollan fácilmente resistencia por alteraciones en la permeabilidad, por lo que no se recomiendan. Otra opción terapéutica es el uso de combinaciones de penicilinas con inhibidores de las β -lactamasas: su uso dependerá de las CMIs que presente el microorganismo a tratar, ya que se han descrito casos de resistencia por hiperproducción de β LEA y por producción conjunta de una β LEA y una β -lactamasa tipo TEM-1. La combinación de una cefalosporina de tercera generación con un inhibidor de las β -lactamasas se ha utilizado con éxito en algunos casos para el tratamiento de sepsis causada por *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de β LEA.

El uso de cefalosporinas de tercera generación en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias productoras de β LEA está desaconsejado aún cuando las CMIs de estos microorganismos se incluyan dentro del intervalo de sensibilidad, ya que se han descrito fracasos terapéuticos. Por esta razón el laboratorio de microbiología debe informar como resistentes las cefalosporinas de tercera generación y alertar de la presencia de una cepa multirresistente.

Los carbapenemes son los antibióticos β -lactámicos más activos frente a enterobacterias productoras de β LEA. Estos antibióticos son muy resistentes a la hidrólisis por estas β -lactamasas. El uso de antibióticos carbapenémicos debería ser moderado puesto que se ha descrito aumento de la resistencia a estos antibióticos en otras especies bacterianas como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en aquellos hospitales donde se ha usado extensamente para el tratamiento de infecciones. La combinación de la disminución de permeabilidad junto con la hiperproducción de enzimas hidrolíticos ha generado resistencia en algunas especies de enterobacterias. Estos hallazgos nos alertan de la necesidad del uso racional de los antibióticos carbapenémicos para prevenir la aparición de nuevos microorganismos multirresistentes.

Conclusiones

El desarrollo de nuevos antibióticos resistentes a la hidrólisis por β -lactamasas (cefalosporinas de tercera generación) o de combinaciones de penicilinas con un inhibidores de las β -lactamasas, ha generado la aparición de nuevas enzimas de espectro ampliado por parte de las enterobacterias. El elevado consumo de cefalosporinas de tercera generación ha favorecido la aparición de importantes brotes nosocomiales causados por enterobacterias productoras de β LEA. La detección precoz de estas cepas y la aplicación de medidas de control adecuadas favorece la erradicación o control de estos brotes nosocomiales. El laboratorio de microbiología debe estar alerta en la detección de estos microorganismo multirresistentes. La prueba de la sinergia de doble difusión con doble disco es un método rápido, económico y sensible para la detección de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro ampliado.

Bibliografía

Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.

Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-1704.

Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol* 1994; 32:691-696.

Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:557-584.

Shah PM, Stille W. *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains more susceptible to cefoxitin than to third generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 1983; 11:597-601.

Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. J Antimicrob Chemother 1995; 36 (Suppl A):19-34.

Smith CE, Tillman BS, Howell AE, Longfield RN, Jorgensen JH. Failure of ceftazidime-amikacin therapy for bacteremia and meningitis due to *Klebsiella pneumoniae* producing an extended-spectrum β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34:1290-1293.