

Cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido: origen, características e incidencia en el sur de la provincia de Alicante en el período 1999-2003

Alberto Yagüe^a, Laura Cebrián^b, Juan Carlos Rodríguez-Díaz^b, Nieves Gonzalo-Jiménez^a, Gloria Royo^b, Pilar Campillos^c y José María López-Lozano^d

^aLaboratorio de Microbiología. Hospital Comarcal Vega Baja. Orihuela. ^bServicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Elche. ^cServicio de Farmacia. Hospital Vega Baja. Orihuela. ^dUnidad de Medicina Preventiva. Hospital Vega Baja. Orihuela. Alicante. España.

INTRODUCCIÓN. En los últimos años observamos la aparición, cada vez más frecuente, de bacterias, y singularmente de *Escherichia coli*, productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), que confieren resistencia a las cefalosporinas (excepto cefamicinas) y aztreonam. Estas bacterias son frecuentemente resistentes también a antibióticos no betalactámicos, lo que plantea un importante problema clínico.

MÉTODOS. Estudio descriptivo de las cepas de *E. coli* productoras de BLEE aisladas en todo tipo de muestras en dos hospitales del sur de la provincia de Alicante en un período de 57 meses (de enero de 1999 a septiembre de 2003), con especial atención a su origen (intrahospitalario o extrahospitalario), a las coresistencias a antibióticos no betalactámicos y a la evolución cronológica de su incidencia.

RESULTADOS. Respectivamente, 3 y 2,25% de las cepas de *E. coli* aisladas en cada hospital son productoras de BLEE (3,83 y 2,85% de las cepas procedentes de ingresados y 2,74 y 2,1% de las de pacientes ambulatorios). El 30,73 y 24,58% de las cepas productoras de BLEE se aislaron en pacientes hospitalizados. En ambos hospitales se encontraron porcentajes de coresistencia a ciprofloxacino, gentamicina y cotrimoxazol muy superiores en cepas productoras de BLEE.

CONCLUSIÓN. El porcentaje de cepas de *E. coli* productoras de BLEE es elevado en nuestro medio, pero es más notable su clara tendencia al incremento. Es reseñable el elevado porcentaje de cepas productoras procedentes del ámbito extrahospitalario. Por último, resaltamos los elevados índices de coresistencia a antibióticos no betalactámicos.

Palabras clave: *Escherichia coli*. Resistencia a betalactámicos. Betalactamasas.

Expanded-spectrum beta-lactamase-producing strains of *E. coli*: origin, characteristics and incidence in Southern Alicante (Spain) in the period 1999-2003

INTRODUCTION. In the last years, we have verified the increasing emergence of bacteria, specially *Escherichia coli*, that produce expanded spectrum beta-lactamases (ESBL), enzymes which confer resistance to all cephalosporins (except cephamycins) and aztreonam. These bacteria are frequently resistant also to non-beta-lactam antibiotics, a fact which poses an important clinical problem.

METHODS. Descriptive study of ESBL-producing strains of *E. coli* isolated in all kind of specimens in two hospitals of Southern Alicante (Spain), throughout a period of 57 months (January 1999 to September 2003), paying a close attention to their origin (outpatients or admitted patients), co-resistance to non beta-lactam antibiotics and evolution of their incidence.

RESULTS. Respectively, 3% and 2.25% of *E. coli* strains isolated in each hospital produce ESBL (3.83% and 2.85% of strains from admitted and 2.74% and 2.1% from outpatients). 30.73% and 24.58% of strains ESBL were isolated in admitted patients. We found in both hospitals much higher percentages of co-resistance to ciprofloxacin, gentamicin and trimetoprim-sulfamethoxazole in ESBL-producing strains.

CONCLUSION. The percentage of ESBL-producing *E. coli* is high in our environment, but it is even more noteworthy its clear trend to increase. It is very remarkable the high percentage of ESBL-producing strains isolated from outpatients. Finally, we emphasize the high percentages of co-resistance to non-beta-lactam antibiotics.

Key words: *Escherichia coli*. Beta-lactam resistance. Beta-lactamases.

Correspondencia: Dr. A. Yagüe.
Laboratorio de Microbiología. Hospital Vega Baja.
Ctra. Almoradí, s/n. 03314 Orihuela. Alicante. España.
Correo electrónico: yague Alb@gva.es

Manuscrito recibido el 2-4-2004; aceptado el 2-9-2004.

Introducción

Las cefalosporinas de administración parenteral (ceftaxima, ceftazidima, ceftriaxona y otras) y un monobactam (aztreonam), con cadenas laterales oxiimino, poseen

un espectro de actividad mucho mayor que el de las cefalosporinas que existían hasta su aparición¹. Fueron introducidas en los años 1980 con la esperanza de que fueran eficaces los aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y otras enterobacterias, cuya resistencia a los betalactámicos se debía a betalactamasas plasmídicas como TEM-1 y SHV-1, que no hidrolizan los betalactámicos con la cadena lateral oxiimino². La presión selectiva ejercida por el uso (excesivo) de estos antibióticos ha influido probablemente en la aparición de nuevas variantes de betalactamasas¹, hecho que se ha podido demostrar en la práctica³. Debido a su espectro ampliado de actividad, especialmente contra las oxiimino-cefalosporinas, estas enzimas fueron llamadas betalactamasas de espectro extendido (BLEE)¹. Desde un punto de vista clínico, las cepas productoras de BLEE plantean un gran reto terapéutico, ya que el espectro de acción de estas enzimas incluye todas las penicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactámicos, y a ello hay que añadir que las cepas productoras de estas enzimas expresan con frecuencia resistencia a otros grupos de antibióticos, como aminoglucósidos, quinolonas y cotrimoxazol⁴.

Se presenta un estudio de la evolución de los aislamientos de cepas de *E. coli* productoras de BLEE (*E. coli*-BLEE) en dos hospitales a lo largo de 57 meses, mostrando aspectos como la procedencia hospitalaria o extrahospitalaria de las cepas, la evolución temporal de estos aislamientos y muy especialmente las corresistencias a no betalactámicos.

Métodos

1. *Área geográfica*. Áreas 19 y 20 de la Comunidad Valenciana, que engloban en su conjunto 550.000 personas. En estas áreas están situados los hospitales Vega Baja (Orihuela), de 350 camas, y el Hospital General Universitario de Elche que cuenta con 450.

2. *Período estudiado*. Desde enero de 1999 hasta septiembre de 2003.

3. *Detección de E. coli-BLEE*. El cribado se realizó con los sistemas expertos incorporados en dos dispositivos automatizados: MicroScan® (MicroScan, dade, EE.UU.; Hospital Vega Baja, empleando paneles CN1S para gramnegativos y CO1S para orinas) y Wider® (Francisco Soria Melguizo, S.A., Madrid; Hospital General Universitario de Elche, empleando paneles MIC/ID gramnegativos). Como método de confirmación se utilizó en ambos hospitales una prueba de difusión con doble disco⁵, y además en el Hospital General Universitario de Elche, con el panel MIC gramnegativos (Wider®), y los resultados se interpretaron según las normas elaboradas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)⁶.

4. *Detección de corresistencias*. Se detectó la corresistencia a ciprofloxacino, gentamicina y trimetoprima-sulfametoaxazol mediante el sistema de microdilución en caldo usando los mismos sistemas automatizados, y se aplicaron las normas elaboradas por el NCCLS⁶. Para estudiar si existía relación entre la producción de BLEE y la corresistencia a otros antibióticos se efectuó la prueba de chi cuadrado (χ^2) para tablas de contingencia por medio del programa SPSS 8 (www.spss.com).

5. *Evolución temporal*. Al objeto de detectar la posible existencia o no de una tendencia en la aparición de cepas productoras de BLEE se estudió el porcentaje mensual de *E. coli* productores de BLEE sobre el total de *E. coli* aislados cada mes y en cada hospital. Se ajustaron sendos modelos de regresión lineal en el tiempo por medio del programa SPSS 8 (www.spss.com).

Resultados

Datos totales

1. *Hospital Vega Baja (Orihuela)*. Se aislaron 7.678 cepas de *E. coli* y se detectó producción de BLEE en 231 (3,0%). En pacientes hospitalizados se aislaron 71 de las cepas (30,73%), y 160 (69,26%) en ambulatorios. Producían BLEE el 3,83% de las cepas procedentes de pacientes ingresados (71/1.851), y el 2,74% de las originarias de pacientes ambulatorios (160/5.827).

2. *Hospital General Universitario de Elche*. Se aislaron 10.654 cepas, con 240 productoras de BLEE (2,25%), de las que 59 (24,58%) procedían de pacientes hospitalizados y 181 (75,41%) de extrahospitalarios. Producían BLEE el 2,85% de las cepas de pacientes ingresados (59/2.065) y el 2,1% de las originarias de ambulatorios (181/8.589).

Evolución temporal

La distribución anual del total del número de aislamientos de *E. coli*-BLEE en los hospitales de Orihuela y Elche fue como sigue: año 1999, 30 y 9 cepas, respectivamente (12,98 y 3,75% del total); año 2000, 13 y 17 (5,62 y 7,08%); año 2001, 29 y 57 (12,55 y 23,75%); año 2002, 57 y 76 (24,67 y 31,66%), y año 2003 (hasta septiembre), 102 y 81 (44,15 y 33,75%). Se observa una tendencia creciente significativa en ambas áreas de Salud (fig. 1). En Orihuela el coeficiente de regresión estimado fue de 0,09 ($p < 0,0001$) ($r^2 = 0,83$) mientras que en Elche el coeficiente estimado fue de 0,076 ($p < 0,0001$) ($r^2 = 0,90$). No se observó estacionalidad en ninguna de las dos series temporales. El porcentaje mensual de cepas *E. coli*-BLEE alcanza su máximo en agosto de 2003 en Orihuela (11,45%) y en julio de 2003 en Elche (7,76%). Los porcentajes anuales observados para 1999, 2000, 2001, 2002 y 2003 fueron respectivamente 2,06, 0,95, 1,74, 3,41 y 7,16 en Orihuela y 0,49, 0,77, 2,73, 2,96 y 4,1 en Elche.

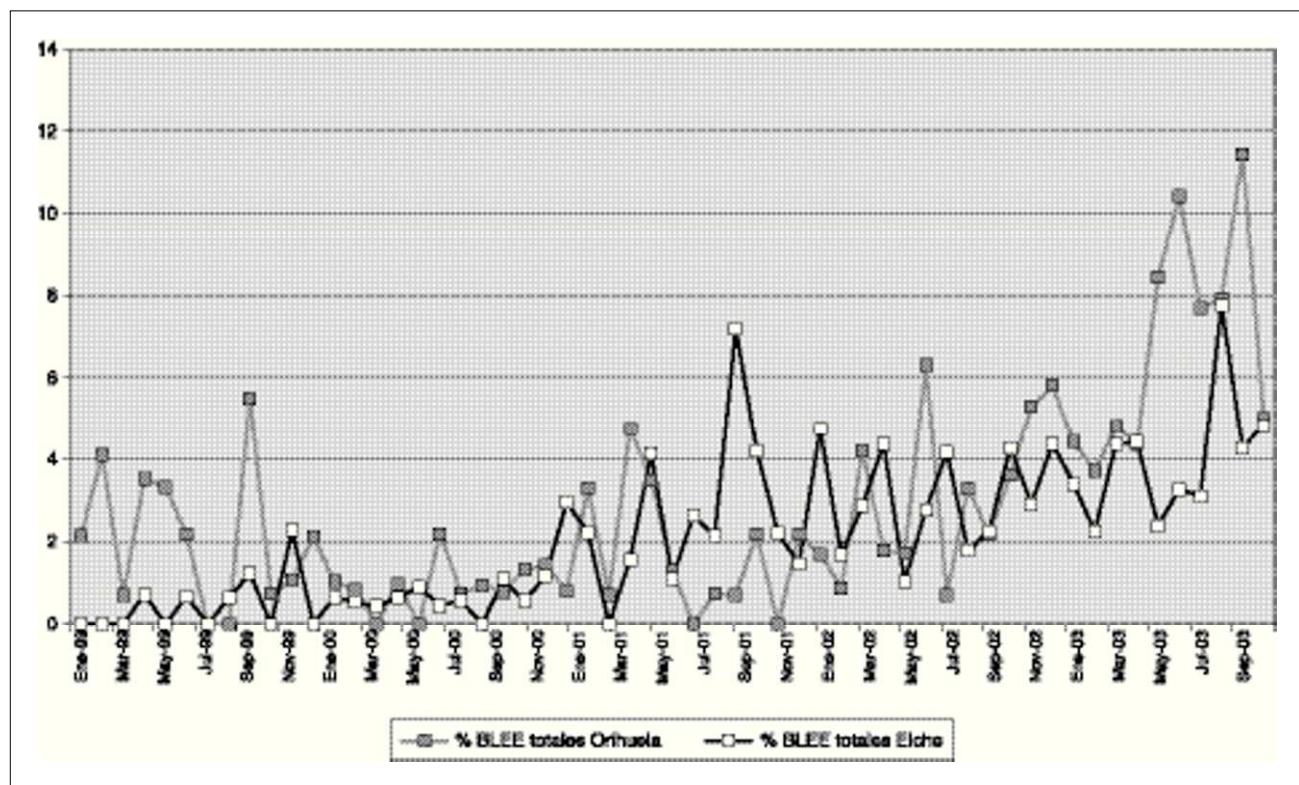
Corresistencias

Al analizar la corresistencia a gentamicina, ciprofloxacino y trimetoprima-sulfametoaxazol se observa que las cepas con este mecanismo de resistencia son también más resistentes a los otros antibióticos estudiados (tabla 1).

Discusión

Nuestro trabajo muestra que la incidencia de *E. coli*-BLEE en nuestro medio es más elevada que en otras zonas de nuestro país. Así, Sabaté et al⁷ comunican el hallazgo de tan sólo 10 cepas de un total de 7.054 (0,14%), porcentaje muy bajo aunque utilizaron un sistema de detección muy sensible, basado en técnicas de biología molecular. Con la misma metodología, Sierra et al⁸ comunican un 0,14% de cepas de *E. coli*-BLEE. En un trabajo multicéntrico en España publicado recientemente⁹, y en el que se evaluaron cepas recogidas en el año 2000, se detectó un porcentaje global de cepas de *E. coli*-BLEE del 0,5%. Fleites et al¹⁰, también con técnicas fenotípicas, sólo encuentran entre 2.752 cepas de *E. coli*, el 0,9% productoras de BLEE.

Destacamos también el hecho de que muchas de nuestras *E. coli*-BLEE son de origen extrahospitalario; esta circunstancia ha sido destacada en algunas ocasiones^{9,11}, si bien hay autores que encuentran resultados opuestos¹⁰.

Figura 1. Evolución mensual de los porcentajes de aislamientos de *E. coli*-BLEE en los hospitales de Orihuela y Elche.TABLA 1. Corresistencias de las cepas de *Escherichia coli* productoras y no productoras de BLEE y razón entre sus frecuencias

	Orihuela					Elche				
	<i>E. coli</i> total	<i>E. coli</i> -BLEE	<i>E. coli</i> no BLEE	p	Razón <i>E. coli</i> -BLEE /no BLEE	<i>E. coli</i> total	<i>E. coli</i> -BLEE	<i>E. coli</i> no BLEE	p	Razón <i>E. coli</i> -BLEE /no BLEE
Número	7.678	231	7.447			10.654	240	10.414		
CIP-R (%)	29,34	65,36	28,22	< 0,001	2,31	24,27	64,16	23,35	< 0,001	2,74
TSU-R (%)	35,45	62,33	34,61	< 0,001	1,8	34,40	64,16	33,71	< 0,001	1,9
GM-R (%)	10,36	16,45	10,17	0,02	1,61	8,29	27,08	7,86	< 0,001	3,44
CIP + TSU-R (%)	15,31	45,45	14,38	< 0,001	3,16	16,75	46,25	16,07	< 0,001	2,87
CIP + GM-R (%)	8,88	13,41	8,74	< 0,05	1,53	6,52	20,83	6,19	< 0,001	3,36
TSU + GM-R (%)	7,54	12,12	7,39	< 0,01	1,64	5,64	15,41	5,35	< 0,001	2,88
CIP + TSU + GM-R (%)	7,02	9,95	6,92	NS	1,43	4,74	12,5	4,56	< 0,001	2,74
CIP + TSU + GM-S (%)	54,83	17,31	55,99	< 0,001	0,3	57,28	16,25	58,23	< 0,001	0,27

BLEE: betalactamasas de espectro extendido; CIP: ciprofloxacino; TSU: trimetoprima/sulfametoazol; GM: gentamicina; R: resistente; S: sensible; NS: no significativo.

Quizá nuestros resultados se puedan explicar en parte por su relación con el porcentaje de muestras de una u otra procedencia que se procesan en cada laboratorio, ya que más del 50% de las muestras que procesamos proceden del ámbito extrahospitalario, o con el hecho de que una gran mayoría de las cepas productoras se haya aislado en orina, la muestra más frecuente en el laboratorio y que proviene mayoritariamente del ámbito extrahospitalario. De cualquier modo, esto plantea cuestiones de gran interés epidemiológico, ya que revela que estas cepas están circulando ampliamente en la comunidad, y no se hallan confinadas en el ámbito hospitalario, que se presume sometido más intensamente a la presión de antibióticos de amplio espectro, singularmente cefalosporinas de tercera generación. No obstante, existe la posibilidad de que un

factor de riesgo importante para la existencia de esta gran bolsa de *E. coli*-BLEE extrahospitalarias sea un uso comunitario de ciertos antibióticos de amplio espectro mucho más abundante de lo que sería aconsejable. No se han estudiado las relaciones clonales entre las cepas. Los estudios de contactos realizados en los pacientes hospitalizados no han revelado la existencia de brotes y, en cuanto a los pacientes extrahospitalarios, no disponemos de un sistema que nos permita confirmar o descartar la relación entre pacientes.

Por último, se han estudiado las tasas de corresistencia a ciprofloxacino, gentamicina y cotrimoxazol de nuestras *E. coli*-BLEE. En muchos estudios se pone de manifiesto que estos microorganismos presentan unas proporciones de resistencia a no betalactámicos más elevadas que los

no productores^{3,12-14}. Las tasas detectadas por nosotros coinciden con las publicadas por otros autores¹⁵⁻¹⁷.

La existencia de estas elevadas tasas de corresistencia a no betalactámicos plantea dos interesantes cuestiones: por una parte, la posibilidad de que las cepas de *E. coli*-BLEE puedan ser seleccionadas por el uso excesivo no sólo de betalactámicos, sino también de antibióticos no relacionados con ellos³. Estudios recientes muestran que el uso previo de ciprofloxacino puede ser un factor de riesgo para la aparición infecciones por *Klebsiella pneumoniae* resistente a ceftazidima^{11,18}. La fuerte asociación entre la producción de BLEE y la resistencia a ciprofloxacino puede ser el resultado de la persistencia de las cepas resistentes a ciprofloxacino y las portadoras de BLEE ante la presión antibiótica: las primeras podrían adquirir factores de resistencia (producción de BLEE) por transmisión horizontal a partir de las segundas; además, la presencia de plásmidos de resistencia puede favorecer el desarrollo de resistencia a ciprofloxacino por mutación cromosómica¹⁹. La resistencia asociada a cotrimoxazol y gentamicina puede tener relación con la presencia en muchas de las cepas estudiadas de integrones de clase 1, que se asocian con multirresistencia y cuya presencia podría incrementar la probabilidad de adquisición de genes adicionales de resistencia¹⁹, como los que codifican la producción de BLEE. Por otra parte, significa que es frecuente que el problema terapéutico que representa la presencia de una cepa productora de BLEE²⁰ resulte agravado por la resistencia añadida a antibióticos no relacionados, que podrían ser tratamientos alternativos, como ocurre con las fluoroquinolonas¹³.

El estudio de la evolución de los porcentajes de cepas de *E. coli*-BLEE desde 1999 hasta 2003 (fig. 1) mediante una agregación mensual permite observar con claridad cómo a partir de 2001 se produce un incremento paralelo en ambos hospitales. Desconocemos a qué se debe este incremento, que muestra la necesidad de realizar un análisis epidemiológico más profundo; probablemente el estudio cuantitativo y cualitativo del uso previo o concomitante de ciertos antibióticos, datos que se pueden obtener de las farmacias hospitalarias y de las direcciones de atención primaria, nos puede proporcionar algunas claves de interés. Consideramos muy importante el estudio diacrónico, mediante agregación mensual, de los aislamientos productores de BLEE, puesto que permite apreciar la aparición de fenómenos epidémicos que de otro modo pasarían desapercibidos.

Bibliografía

- Bradford P. Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.
- Jacoby GA. Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino- β -lactams. *Infect Dis Clin North America* 1997;11:875-87.
- Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:597-608.
- Pujol M, Peña C. El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro ampliado. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003;21:69-71.
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867-78.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. Fifth Edition. January 2002.
- Sabaté M, Miró E, Navarro F, Vergés C, Aliaga R, Mirelis B, et al. β -lactamases involved in resistance to broad-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates collected between 1994 and 1996 in Barcelona (Spain). *J Antimicrob Chemother* 2002;49:989-97.
- Sierra M, Lite J, Gasós A, Ardanuy C. Grupo de Microbiólogos de Hospitales Comarcals de Cataluña. Incidencia de cepas portadoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en los hospitales comarcals de Catalunya (1996-1998). *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002;20(Supl 1):104-11.
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003;21:77-82.
- Fleites A, Venero P, Cahue I, Sierra G, Del Castillo M, Santos MJ. Detección de β -lactamasas de espectro extendido en *E. coli* y *K. pneumoniae* de origen hospitalario y ambulatorio. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002;20(Supl 1):S104.
- Rodríguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniaín MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:1089-94.
- Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strains by the E-test ESBL screen. *Clin Microbiol* 1996;34:1880-4.
- Wong-Beringer A. Therapeutic challenges associated with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy* 2001;21:583-92.
- Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000;30:473-8.
- Hernández JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Romero L, Pascual A, GEIH (Grupo de Estudios de Infección Hospitalaria). Proyecto GEIH-BLEE 2000: Relación clonal y estudio de sensibilidad a antimicrobianos de interés clínico en *E. coli* productor de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en hospitales españoles. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002;20(Supl 1):S104.
- Hernández JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Romero L, Pascual A, GEIH (Grupo de Estudios de Infección Hospitalaria). Proyecto GEIH-BLEE 2000: Relación clonal y estudio de sensibilidad a antimicrobianos de interés clínico en *K. pneumoniae* productora de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en hospitales españoles. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002;20(Supl 1):S104.
- Martino MV, García-Riestra C, Ordóñez P, Varela E, Aguilera A, Zabarte AG, et al. Multirresistencia antibiótica en cepas de *E. coli* productoras de BLEE en el área sanitaria de Santiago. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002;20(Supl 1):S104.
- Bermejo J, Lesnaberres P, Arnesi N, Gianello M, Notario R, Borda N, et al. Factores de riesgo asociados a infecciones por *Klebsiella pneumoniae* resistentes a ceftazidima. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003;21:72-6.
- Leverstein-Van Hall MA, Blok HEM, Rogier A, Donders T, Paauw A, Fluit AD, et al. Multidrug resistance among *Enterobacteriaceae* is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. *J Infect Dis* 2003;187:251-9.
- Rahal JJ. Extended-spectrum β -lactamases: how big is the problem? *Clin Microbiol Infect* 2000;6(Suppl 2):2-6.