

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
ESCUELA DE GRADUADOS**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAGÍSTER EN CIENCIAS, MENCIÓN MICROBIOLOGÍA**

**β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO
PRESENTES EN CEPAS HOSPITALARIAS
Y EXTRAHOSPITALARIAS DE
*Klebsiella pneumoniae***

Natalia Trabal Fernández

CONCEPCIÓN, CHILE

2004

RESUMEN

Actualmente, en la especie bacteriana *Klebsiella pneumoniae*, se reconocen tres subespecies íntimamente relacionadas: *pneumoniae*, *ozanae* y *rhinoscleromatis*, consideradas patógenos oportunistas de significación clínica, cuya incidencia como causantes de enfermedades infecciosas se ha incrementado en las últimas dos décadas. Este incremento se debe, principalmente, a la expresión de β -lactamasas de espectro extendido (β LEEs), enzimas que confieren a dicha bacteria la capacidad de resistir la acción de cefalosporinas de tercera generación (C3G), como cefotaxima y ceftazidima, además, de monobactámicos como el aztreonam. Actualmente se considera a *K. pneumoniae* como uno de los principales microorganismos productores de β LEEs derivadas de las familias TEM, SHV, y enzimas emergentes como CTX-M, PER y OXA. Además, constituye uno de los principales reservorios de genes que codifican resistencia a un amplio rango de antibióticos como β -lactámicos, aminoglicósidos, cloranfenicol y tetraciclina, que tienen la capacidad de ser transferidos a otros grupos bacterianos. La emergencia y diseminación de cepas productoras de este tipo de enzimas constituye un serio problema en el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por este microorganismo, lo que, en gran medida, explica la alta incidencia de brotes epidémicos causados por cepas de *K. pneumoniae* a lo largo de todo el mundo, en los últimos diez años.

Considerando la importancia de *K. pneumoniae* como causante de serias enfermedades infecciosas en Chile, la alta incidencia de aislamientos de cepas resistentes a C3G por producción de β LEEs en el ambiente hospitalario y el desconocimiento que existe, a nivel mundial, de la frecuencia y tipo de β -lactamasas en el ambiente extrahospitalario, el objetivo general de este trabajo fue determinar la presencia y tipo de β LEEs en subespecies de *K. pneumoniae* de origen hospitalario y no hospitalario. Se identificaron 102 cepas hospitalarias y 51 extrahospitalarias aisladas en ciudades del centro y sur de Chile en los años 1998, 2002 y 2003. A estas cepas, se les determinó los patrones y niveles de resistencia a diferentes antibióticos β -lactámicos (NCCLS, 2002). La presencia de β LEEs se estudió mediante *test screening* y *test* confirmatorio siguiendo las recomendaciones del NCCLS (2002). La genotipificación de las cepas productoras de β LEEs se realizó por

electroforesis de campo pulsado y RFLP con *Xba*I. Los genes que codifican para las diferentes β -lactamasas se detectaron a través de PCR.

En las cepas hospitalarias y extrahospitalarias, un 92 % y 90 %, respectivamente, correspondió a la subespecie *pneumoniae*, las subespecies *rhinoscleromatis* y *ozaenae* fueron muy poco frecuentes. Las principales fuentes de aislamiento fueron orina, secreción bronquial y heridas. El 83 % de las cepas hospitalarias fue resistente a ampicilina; en cambio, la resistencia a cefalosporinas fue menor: 39,4 % a cefalotina, 27,7 % a cefuroxima y aproximadamente, un 23 % a cefpodoxima, cefotaxima y ceftazidima. No se aislaron cepas resistentes a imipenem. Los niveles más altos de resistencia fueron encontrados en las cepas de la subespecie *pneumoniae*.

Las cepas hospitalarias de *K. pneumoniae* presentaron una frecuencia de síntesis de β LEEs del 24,5 %. La mayoría de esas cepas fueron resistentes al menos a una de las C3G. No obstante, se encontraron tres cepas que fueron susceptibles a dichos antibacterianos. Se encontraron 4 cepas de *K. pneumoniae* de origen extrahospitalario que sintetizan β LEEs. La mayoría de las cepas, tanto hospitalarias como extrahospitalarias, que presentaron β LEEs, pertenecen a aislamientos genéticamente diferentes.

Mediante PCR e IEF, se detectaron β LEEs de los grupos: TEM, PER, SHV, CTX-M y GES en las cepas de origen nosocomial, mientras que los grupos: TEM y CTX-M, fueron detectados en las cepas de origen extrahospitalario.

Las enzimas del tipo TEM y PER-2 fueron las encontradas con mayor frecuencia en las cepas hospitalarias de *K. pneumoniae*, las frecuencias fueron de 20/23 y 12/13, respectivamente. De las 23 cepas analizadas, 11 presentaron enzimas tipo SHV de espectro extendido y 7 presentaron β -lactamasas de la familia CTX-M. Una cepa hospitalaria de *K. pneumoniae* amplificó positivamente para el gen *bla*_{GES}. En las cepas de la comunidad, se encontraron enzimas del tipo TEM de espectro extendido, SHV-1 y CTX-M. Las cepas hospitalarias de *K. pneumoniae* presentan patrones enzimáticos compuestos al menos por dos β LEEs y algunas de ellas incluso, poseen patrones compuestos por 4 enzimas de este tipo. Se encontró, además, una cepa de origen hospitalario resistente a cefoxitina y que presenta el gen *bla*_{AmpC}.

En general, de los resultados obtenidos, se concluye que la subespecie *pneumoniae* fue predominante tanto en los hospitales como fuera de ellos. Por otra parte, las cepas de las tres subespecies de origen hospitalario presentan bajas frecuencias de resistencia frente a C3G, siendo las cepas de la comunidad mayoritariamente susceptibles. La producción de β LEEs es una propiedad observada, principalmente, en las cepas hospitalarias, alcanzando frecuencias, claramente inferiores, a la informada para América del Sur. El hallazgo de cuatro cepas extrahospitalarias productoras de β LEEs constituye un hecho importante, en la diseminación de este tipo de enzimas entre cepas aisladas de la comunidad.

La resistencia presente en las cepas de *K. pneumoniae* intra y extra hospitalarias frente a las cefalosporinas de tercera generación y cuarta generación, está basada en la síntesis de un complejo enzimático constituido, generalmente, por más de un tipo de β LEEs. Los genes que codifican para β LEEs en *K. pneumoniae* parecen ser diseminados horizontalmente, ya que las cepas constituyen aislamientos genéticamente diferentes.

