

Nota corta

Evaluación de un método rápido para la detección de betalactamasas de espectro extendido mediante una cefalosporina cromogénica

A. Yagüe¹, J.C. Rodríguez², D. Sandvang³, M. Ruiz² y G. Royo²

¹Servicio de Microbiología, Hospital La Plana, Villarreal (Castellón);

²Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario de Elche (Alicante);

³National Center for Antimicrobials and Infection Control, Statens Serum Institut (Dinamarca)

Las cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) representan un importante problema de salud pública, porque son resistentes a la mayoría de los betalactámicos y con frecuencia muestran corresponsencia a antimicrobianos de otras familias; además, se viene observando un incremento en su incidencia, incluso en el ámbito extrahospitalario (1-3).

A pesar de que la detección precoz de estas cepas tiene gran importancia, tanto para administrar al paciente el tratamiento adecuado como para controlar su transmisión, la mayoría de los métodos disponibles requieren al menos 24 horas de procesamiento (4, 5). Recientemente se ha desarrollado un sistema que proporciona resultados en 15 minutos, basado en la hidrólisis de una cefalosporina cromogénica (HMRZ-86). Este método, desarrollado por Kanto Chemical Co. Inc. (Japón), usa dos tiras de papel. La primera (*Cica Beta Test I*) se humedece con una solución de sustrato (HMRZ-86) y en ella se extienden algunas colonias. El cambio de color (de amarillo a rojo) significa resultado positivo e indica producción de BLEE o de metalobetalactamasas (MBL). En caso de resultado positivo, se humedece una segunda tira (*Cica Beta Test MBL*) con otro

sustrato (HMRZ-86 más un inhibidor específico de MBL). Un resultado positivo en la segunda prueba indica producción de BLEE (6).

Hemos evaluado este método en una colección de 154 cepas, de las cuales 102 (94 *Escherichia coli* y 8 *Klebsiella pneumoniae*) eran productoras de BLEE, y 52 (51 *E. coli* y una *K. oxytoca*) no presentaban dicho mecanismo de resistencia. La producción de BLEE se detectó mediante las tiras *ESBL-E-test* con ceftazidima y cefotaxima, con y sin ácido clavulánico (AB Biodisk, Suecia), y la prueba de discos de combinación (Oxoid, Reino Unido), usando ceftazidima (30 µg) y cefotaxima (30 µg) con y sin 10 µg de ácido clavulánico. En ambas pruebas utilizamos un inóculo de 0,5 McFarland en agar Mueller-Hinton, y los resultados se leyeron de acuerdo con los criterios establecidos por el CLSI (7). Las cepas que dieron resultado positivo con ambos métodos (n=102) fueron consideradas productoras de BLEE. Como controles negativo y positivo se utilizaron, respectivamente, *E. coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Se comprobó que todas las cepas de *E. coli* productoras de BLEE presentaban patrones genéticos diferentes, anali-

Tabla 1. Resultados de la detección de BLEE por el método cromogénico con *Cica Beta Test*.

	<i>Cica Beta Test</i>		
	Número	Positivas	Negativas
Cepas positivas			
Detección por ceftazidima y cefotaxima	37	28	9
Detección por ceftazidima	1	0	1
Detección por cefotaxima	64	61	3
Total	102	89	13
Cepas negativas	52	1	51

zando las cepas mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE). Tras la extracción del DNA genómico se realizó la digestión con la enzima XbaI; la electroforesis se hizo usando *1.0% Pulsed Field Certified Agarose Gel* (Biorad, USA) y los fragmentos se separaron mediante el sistema *CHEF-DRIII Electrophoresis* (Biorad, USA). Las imágenes de los geles fueron analizadas utilizando el *software Bionumerics* (Applied Maths, Belgium). En la comparación de las cepas sólo se utilizaron los fragmentos de restricción con un peso molecular entre 50 y 1000 kb. La agrupación de las cepas se realizó mediante *Unweighted Pair Group Method* utilizando UPGMA.

Los resultados se detallan en la Tabla 1. Observamos que este método presenta una sensibilidad no muy elevada (87,25%; IC95 entre 87,2 y 87,3), junto con una alta especificidad (98,07%; IC95 entre 98,0 y 98,1). Otra evaluación de este método realizada recientemente (8) muestra una especificidad similar (98,1%) y una mayor sensibilidad (95,5%).

Linscott y Brown (9) han evaluado otros cuatro sistemas comerciales (*Dried MicroScan ESBL plus ESBL Confirmation panels* [Dade Behring], *E-test ESBL* (AB BIO-DISK), *Vitek GNS-120* [bioMérieux] y *BD BBL Sensi-Disk ESBL Confirmatory Test disks* [BD Biosciences]) y comunican que las sensibilidades son superiores (oscilan entre el 96% y el 100%), pero las especificidades son variables (*BD BBL Sensi-Disk ESBL Confirmatory Test disks*, 100%; *MicroScan ESBL plus ESBL confirmation panel* y *VITEK 1 GNS-120*, 98%; *E-test ESBL*, 94%).

Debido a que el tratamiento inadecuado de las infecciones no urinarias producidas por estas bacterias se asocia con riesgo de muerte (10), consideramos que el sistema evaluado puede ser un complemento a los sistemas que requieren procesamiento de 24 horas, así como una herramienta muy útil para el cribado de cepas, aunque los resultados negativos deben verificarse con otro método.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a Kanto Chemical Co. Inc., Tokyo (Japón), por proporcionarnos los equipos de detección utilizados en este trabajo.

Correspondencia: Juan Carlos Rodríguez, Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario de Elche, 03203 Elche (Alicante). Tel.: 96 667 90 48; Fax: 96 667 91 08; e-mail: micro_elx@gva.es

BIBLIOGRAFÍA

- Gobernado, M. *Betalactamasas de espectro extendido en aumento*. Rev Esp Quimioterap 2005; 18: 115-117.
- Muñoz-Bellido, J.L. *Betalactamasas de espectro extendido: ¿Son hoy un serio problema en España?* Rev Esp Quimioterap 2004; 14: 314-316.
- Yagüe, A., Cebrián, L., Rodríguez-Díaz, J.C. y cols. *Cepas de Escherichia coli productoras de beta-lactamasas de espectro extendido: Origen, características e incidencia en el sur de la provincia de Alicante entre enero de 1999 y septiembre de 2003*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23: 76-79.
- Navon-Venezia, S., Ben-Ami, R., Schwaber, M.J. y cols. *Protocol for the accelerated detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae strains from blood cultures*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 200-202.
- Livermore, D.M., Brown, D.F. *Detection of beta-lactamase-mediated resistance*. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 59-64.
- Hanaki, H., Kubo, R., Nakano, T., Kurihara, M., Sunagawa, K. *Characterization of HMRZ-86: A novel chromogenic cephalosporin for the detection of extended spectrum beta-lactamases*. J Antimicrob Chemother 2004; 53: 888-889.
- Tenover, F.C., Raney, P.M., Williams, P.P. y cols. *Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during Project ICARE*. J Clin Microbiol 2003; 41: 3142-3146.
- Colodner, R., Reznik, B., Gal, V. y cols. *Evaluation of a novel kit for the rapid detection of extended-spectrum beta-lactamases*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 49-51.
- Linscott, A.J., Brown, W.J. *Evaluation of four commercially available extended-spectrum beta-lactamase phenotypic confirmation tests*. J Clin Microbiol 2005; 43: 1081-1085.
- Hyle, E.P., Lipworth, A.D., Zaoutis, T.E. y cols. *Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: Variability by site of infection*. Arch Intern Med 2005; 65: 1375-1380.