

# INFECCIÓN DE ÚLCERA POR *ENTEROBACTER AEROGENES* MULTIRRESISTENTE. CASO 340

Mujer de 80 años de edad ingresada en el servicio de cirugía cardiovascular por presentar úlceras infectadas en las extremidades inferiores. Tras varios episodios de infección en los que se aisló *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se le toma una nueva muestra de exudado que se remite al laboratorio de microbiología. En la tinción de Gram directa se observan abundantes leucocitos polimorfonucleares y bacilos gramnegativos. La muestra se siembra en placas de agar CNA, agar chocolate y agar MacConkey y después de 24 horas de incubación se obtiene un crecimiento abundante en agar chocolate y agar MacConkey. Las colonias presentan una morfología compatible con enterobacterias y son oxidasa negativa, por lo que se realiza la identificación y antibiograma mediante el sistema WalkAway (paneles Combo Neg 1S). El aislamiento fue identificado como *Enterobacter aerogenes* y presentó el siguiente patrón de sensibilidad: ampicilina >16 mg/L; piperacilina >64 mg/L; amoxicilina-ácido clavulánico >16/8 mg/L; piperacilina-tazobactam ≤16 mg/L; cefoxitina >16 mg/L; cefotaxima 8 mg/L; ceftazidima >16 mg/L; cefepima 2 mg/L; aztreonam >16 mg/L; ceftazidima-ácido clavulánico ≤0,5/4 mg/L; imipenem ≤1 mg/L; meropenem ≤4 mg/L; gentamicina ≤4 mg/L; tobramicina ≤4 mg/L; amikacina ≤8 mg/L; ciprofloxacino 1 mg/L; ofloxacino 2 mg/L y cotrimoxazol >2/38 mg/L. Tras recibir este informe, el médico responsable de la paciente decide tratar la infección de forma intravenosa con imipenem 500 mg/6 h. Pasadas 2 semanas con este tratamiento la paciente abandonó el hospital.

## 1. ¿Cuál es el mecanismo de resistencia a beta-lactámicos más probable en el caso descrito?

La producción de beta-lactamasas constituye el mecanismo más importante de resistencia a beta-lactámicos en enterobacterias. En el género *Enterobacter* la resistencia a cefalosporinas de amplio espectro depende fundamentalmente de la hiperproducción de la beta-lactamasa AmpC cromosómica a diferencia de lo que sucede en otras enterobacterias, como *E. coli* o *K. pneumoniae*, en las que las enzimas responsables de esta situación suelen ser las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs). En el caso descrito, el aislamiento de *E. aerogenes* presentaba resistencia a cefalosporinas que revertía con ácido clavulánico, sugiriendo así la presencia de una BLEE. Mediante conjugación se demostró que esta resistencia era transferida a una cepa recipiente de *E. coli* multisensible. Las CMI de los antibióticos estudiados en los transconjugantes fueron las siguientes: cefoxitina ≤0,125 mg/L; cefotaxima 8 mg/L; cefotaxima-ácido clavulánico ≤0,5/4 mg/L; ceftazidima 32 mg/L; ceftazidima-ácido clavulánico ≤0,5/4 mg/L; cefepima 0,25 mg/L; imipenem 0,06 mg/L; meropenem ≤0,015 mg/L; gentamicina 1 mg/L; amikacina 2 mg/L; ciprofloxacino ≤0,03 mg/L. Esto confirmó que los transconjugantes (y por tanto la cepa parental) contenían al menos una BLEE de codificación plasmídica. El estudio de las beta-lactamasas mediante isoelectroenfoque permitió identificar 3 bandas cuyos puntos isoeléctricos fueron de 5,4; 8,2 y 9,4 respectivamente. El análisis mediante PCR con cebadores específicos para CTX-M dio resultado negativo, lo que unido al relativo escaso efecto en la CMI de cefotaxima de los transconjugantes descartaba un enzima del tipo CTX-M, que es una de las familias de BLEE más

frecuentemente detectada en nuestro medio. Por el contrario, la PCR específica para genes de los tipos TEM y SHV produjo, en ambos casos, un resultado positivo. La posterior secuenciación de los genes amplificados puso de manifiesto la presencia de SHV-12 (pI = 8,2) y TEM-1 (pI = 5,4). El punto isoeléctrico de 9,4 correspondería con la enzima AmpC cromosómica.

## **2. ¿Cómo pueden detectarse las beta-lactamasas de espectro extendido en especies de *Enterobacter*?**

La producción de BLEEs mediadas por plásmidos es un mecanismo de resistencia poco frecuente en *Enterobacter*. Además, su detección puede estar dificultada por la coexistencia de una desrepresión del gen que codifica la cefalosporinasa cromosómica AmpC. Por estos motivos, y debido a la importancia clínica que tienen las beta-lactamasas plasmídicas, el laboratorio de microbiología debe hacer una interpretación muy cuidadosa del antibiograma en este tipo de microorganismos. Podemos sospechar la presencia de una BLEE en *Enterobacter* cuando presente resistencia a alguna cefalosporina de tercera o cuarta generación o al aztreonam, que revierte en presencia de ácido clavulánico. Igualmente, ayudan a sospechar este fenotipo la combinación de resistencia a piperacilina y sensibilidad a piperacilina-tazobactam y la resistencia asociada a otros antibióticos cuya resistencia también esté mediada por plásmidos (aminoglucósidos, cotrimoxazol, cloramfenicol, tetraciclina, quinolonas, etc.). Aunque el CLSI (anteriormente NCCLS) no contempla un método fenotípico estandarizado de confirmación de BLEEs en el género *Enterobacter*, se pueden realizar ciertas pruebas por homología con las recomendaciones para *E. coli* y *Klebsiella*. Tanto el método de utilización de discos de ceftazidima y cefotaxima con y sin ácido clavulánico, como la clásica prueba de sinergia con doble disco pueden dar resultados falsamente negativos cuando la BLEE se acompaña de una hiperproducción de AmpC, debido a que esta última no es inhibible por ácido clavulánico. Por este motivo es aconsejable utilizar discos o E-test o microdilución con cefepima o cefpiroma solas y en combinación con ácido clavulánico, ya que las cefalosporinas de cuarta generación no se afectan por la AmpC. Otra opción sería realizar la prueba de la sinergia con doble disco utilizando agar Mueller Hinton con 500 mg/L de cloxacilina. Este antibiótico inhibiría el efecto de la beta-lactamasa AmpC permitiendo así que se produjera el efecto sinérgico entre el clavulánico y las cefalosporinas de tercera generación. Por desgracia, aún existen pocos estudios en los que se haya evaluado la utilidad y fiabilidad de estos métodos en las especies de *Enterobacter*.

Si el laboratorio dispone de los medios necesarios se puede realizar el estudio del punto isoeléctrico de las enzimas producidas por la cepa y confirmar posteriormente la presencia de la BLEE mediante PCR utilizando cebadores dirigidos a los principales grupos como SHV, TEM, CTX-M y OXA. La secuenciación del gen amplificado permitiría la caracterización de la beta-lactamasa responsable (1).

## **3. ¿Consideraría que la cepa descrita es sensible o resistente a quinolonas? ¿Cuáles son los mecanismos implicados**

## **habitualmente en la resistencia a estos antibióticos en enterobacterias?**

Si consideramos los criterios de interpretación de la CMI propuestos por el CLSI el aislamiento de *E. aerogenes* descrito sería sensible a quinolonas. Según el grupo español Mensura, sin embargo, sería resistente, mientras que para la Sociedad Francesa de Microbiología entraría dentro de la categoría intermedia. No existe por tanto un acuerdo global, aunque muchos autores opinan que un aislamiento no debe considerarse sensible si se demuestra que contiene alguno de los mecanismos de resistencia a quinolonas conocidos.

La resistencia a quinolonas ha sido atribuida tradicionalmente a dos mecanismos: alteraciones en sus dianas (ADN girasa y/o topoisomerasa IV) y alteraciones en la acumulación del antibiótico en el interior de la bacteria (por sobreexpresión de bombas de expulsión activa o por pérdida de porinas). Ambos mecanismos están producidos por mutaciones cromosómicas. Sin embargo, se está empezando a conocer la importancia de la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos. Esta resistencia está codificada por genes de la familia *qnr*, de los que el más importante es *qnrA*. Por sí solo, *qnrA* confiere resistencia al ácido nalidíxico y aumenta la CMI de fluoroquinolonas sin alcanzar la categoría de resistencia (según CLSI). Sin embargo, es capaz de elevar significativamente los niveles de resistencia cuando interacciona con mecanismos cromosómicos. Diferentes estudios han demostrado que el gen *qnrA* se encuentra localizado en el entorno genético de integrones de clase 1 en lo que se conoce como integrones tipo-sul1 complejos, habiéndose descrito su presencia en varias especies de enterobacterias, incluyendo *Enterobacter*. La presencia de este gen en plásmidos, formando parte de integrones, puede explicar la frecuente asociación que existe entre resistencia a quinolonas y otros grupos de antibióticos como beta-lactámicos o aminoglucósidos (2).

Ante la posibilidad de hallar *qnrA* en el aislamiento de *E. aerogenes* que se describe se realizó una PCR utilizando cebadores específicos para *qnr*. El resultado fue negativo, lo que explicó el hecho de que no se transmitiera aumento de la CMI de quinolonas a la cepa recipiente en la conjugación.

El estudio mediante secuenciación de posibles mutaciones cromosómicas en los genes habitualmente implicados en la resistencia a quinolonas permitió detectar una sustitución del aminoácido 83 en GyrA, lo que podría explicar el aumento en la CMI de estos antibióticos.

## **4. ¿Considera que el tratamiento con imipenem fue la elección más acertada?**

En la actualidad se considera a los carbapenems como el tratamiento de elección de infecciones causadas por microorganismos productores de BLEEs. Además, estos antibióticos escaparían también a la acción de la betalactamasa AmpC cromosómica en el caso de que existiera una hiperproducción de la misma. Conviene tener presente, sin embargo, que cuando se utilizan carbapenems existe un riesgo de selección de mutantes resistentes debido a alteraciones en las porinas. Por este motivo, y teniendo en cuenta las limitadas opciones terapéuticas disponibles en estos casos, es muy recomendable seguir con atención la evolución del paciente y su respuesta al tratamiento.

## **Bibliografía**

- 1 Cantón R, Oliver A, Coque TM, Varela MC, Pérez-Díaz JC, Baquero F. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a 12-year period. J Clin Microbiol 2002;40:1237-43.
- 2 Rodríguez-Martínez, JM. Mechanisms of plasmid-mediated resistance to quinolones. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005;23:25-31.

## **Caso descrito y discutido por:**

M<sup>a</sup> Eliecer Cano García  
Servicio de Microbiología  
Hospital Universitario  
Marqués de Valdecilla  
Santander

Correo electrónico: marielic@euskalnet.net

**Palabras Clave:** *Enterobacter aerogenes*, Resistencia a antibióticos, Infección piel y/o tejidos blandos,