

Métodos para detectar enterococos productores de β -lactamasa

Los enterococos productores de β -lactamasa fueron descritos por primera vez por B. Murray en 1983, y su diseminación por varios estados de los EE.UU. constituyó un motivo de significativa preocupación. El problema radicaba en que estas bacterias no sólo resistían la actividad de las penicilinas, sino que también eran portadoras de la enzima bifuncional AAC6' - APH2", que comprometía la actividad sinérgica de los β -lactámicos y los glucopéptidos con los aminoglucósidos. En la Argentina se detectaron seis aislamientos clonales a lo largo de un solo año y en un solo hospital. Después de 16 años, se volvió a encontrar un aislamiento de *Enterococcus faecalis* productor de β -lactamasa (resultados por publicarse) siguiendo las pautas de trabajo marcadas en 1990: observación de una diferencia mayor de 4 mm entre los halos de ampicilina y ampicilina-sulbactama, sobre todo cuando los halos de ampicilina son menores de 20 mm (Figura 1). En nuestro hospital, desde 1990 hasta 1992 y luego, en 1997, se ensayó un total de 568 aislamientos de enterococos en forma comparativa con el método de nitrocefín con lectura diferida. Sólo los seis β -lactamasa positivos publicados y la cepa HH22 de B. Murray dieron diferencias de halos de inhibición mayores de 4 mm. La prueba de nitrocefín puede fallar si no se emplean inóculos grandes y no se incuba en cámara húmeda hasta 24 horas (Figura 2). La confirmación fenotípica se puede realizar empleando un método microbiológico ideado por nosotros (Figura 3), que tiene mayor sensibilidad que los métodos microbiológicos comúnmente utilizados, como por ejemplo el de Hodge.

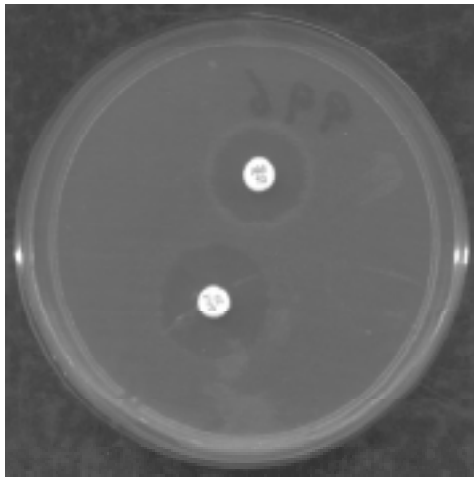


Figura 1. Prueba de sensibilidad por difusión a ampicilina (AMP) y ampicilina-sulbactama (AMS), según recomendaciones de CLSI para ampicilina. Halos de inhibición para AMS con diámetros que superan en más de 4 mm a los obtenidos con discos de AMP = resultado presuntamente positivo. Halos de AMS con diámetros que no superan en 4 mm a los obtenidos con AMP = resultado negativo (ausencia de β -lactamasa).

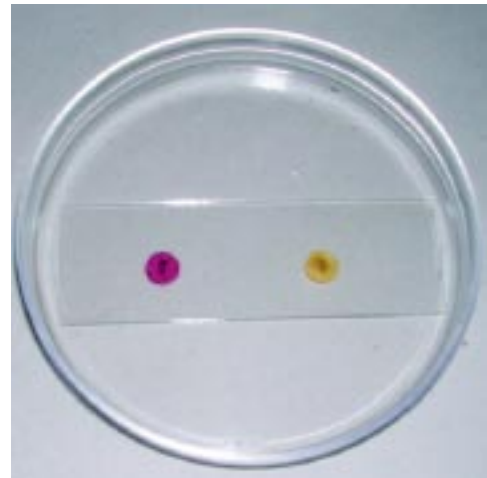


Figura 2. Método de nitrocefín. Se coloca una gota de solución fisiológica sobre un disco de nitrocefín (Cefinase[®], BD BBL, EE. UU.) apoyado sobre un portaobjetos. Se frota el disco con un inóculo denso tomado de un cultivo en medio sólido del enterococo que se va a ensayar. Se hace lo mismo con ambas cepas de enterococos de referencia, una β -lactamasa positiva y la otra β -lactamasa negativa. Se incuba en cámara húmeda hasta 24 h, con lecturas seriadas. Coloración roja = prueba positiva (presencia de β -lactamasa) y coloración amarilla = prueba negativa (ausencia de β -lactamasa).

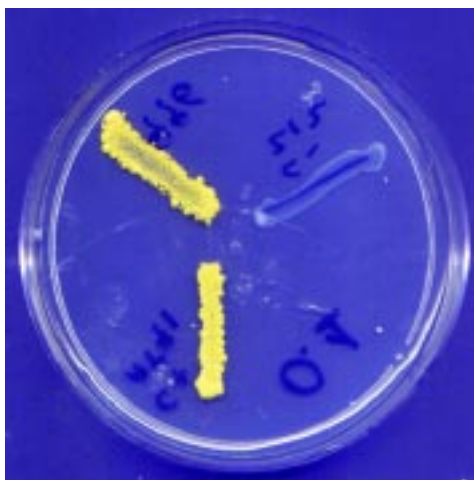


Figura 3. Método microbiológico. Se prepara una placa de agar Mueller Hinton con el agregado a 50 °C de una suspensión de *Micrococcus luteus* ATCC 9341 de turbiedad equivalente al tubo N.º2 de la escala de McFarland y de 0,1 μ g/ml de penicilina G. Una vez solidificado el medio, se efectúan estrías con las cepas de referencia y con la cepa que se desea ensayar. Se deja incubar 48 a 72 horas y se observa la coloración del desarrollo en cada estría:

- 1) Coloración amarilla que denota el desarrollo de la cepa de *M. luteus* auxiliada por la β -lactamasa producida por alguno de los enterococos = prueba positiva.
- 2) Color blanco-grisáceo, típico del desarrollo de los enterococos = prueba negativa.

H. Lopardo, A. Blanco
Servicio de Microbiología,
Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan",
Combate de los Pozos 1881
(1245) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
E-mail: hlopardo@garrahan.gov.ar