

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA




Mayra Aracely Garrido Ortega

Química Bióloga

Guatemala, noviembre 2014

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, likely a saint or historical figure, surrounded by various symbols including a castle, a lion, and a column. The Latin motto "SALUTEM ALIENIS INTER CETERAS PLEBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**DETERMINACIÓN DE CARBAPENEMASAS EN AISLAMIENTOS DE
Escherichia coli y *Klebsiella* sp. AISLADAS EN EL HOSPITAL GENERAL SAN
JUAN DE DIOS**

Informe de Tesis

Presentado por

Mayra Aracely Garrido Ortega

Para optar al Título de

Química Bióloga

Guatemala, noviembre 2014

JUNTA DIRECTIVA

| | |
|--|------------|
| Osca Manuel Cobar Pinto, Ph. D. | Decano |
| Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A. | Secretario |
| Licda. Liliana Vides de Urizar | Vocal I |
| Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares | Vocal II |
| Lic. Rodrigo José Vargas Rosales | Vocal III |
| Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales | Vocal IV |
| Br. Julio Alberto Ramos Paz | Vocal V |

AGRADECIMIENTOS

A Dios

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Al grupo docentes de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, especial
agradecimiento a la Escuela de Química Biológica

Al Laboratorio de Bacteriología del Hospital General San Juan de Dios

A mis Asesores:

Lic. Martin Gil, Lic. Carlos Pérez de León y Dr. Luis Gonzáles Patzán

A mis Revisoras:

Dra. Karin Herrera, Licda. Keila Guerrero

ACTO QUE DEDICO

A Dios

A mis padres:

Sandra Griscelda Ortega y Victor Manuel Garrido

A mi esposo:

José Daniel García

A mis hijos:

Ángel Josué García y al pequeño ser en mi vientre

A mis hermanos:

Lilian Garrido y Edwin Garrido

A mis tías y tíos

A mis sobrinos y primos

ÍNDICE

| | Página |
|--|--------|
| I. RESUMEN | 1 |
| II. INTRODUCCIÓN | 3 |
| III. ANTECEDENTES | 5 |
| A. Familia <i>Enterobacteraceae</i> | 5 |
| B. <i>Escherichia coli</i> | 6 |
| C. <i>Klebsiella</i> sp. | 7 |
| D. Agentes antimicrobianos | 8 |
| E. Mecanismos de acción de los antimicrobianos | 9 |
| F. Resistencia bacteriana | 10 |
| G. Mecanismos de resistencia bacteriana | 10 |
| H. Carbapenemasas | 11 |
| I. Detección de Carbapenemasas | 14 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 16 |
| V. OBJETIVOS | 17 |
| VI. HIPÓTESIS | 18 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS | 19 |
| A. Universo | 19 |
| B. Muestra | 19 |
| C. Recursos | 19 |
| D. Procedimiento | 21 |
| E. Diseño de investigación | 24 |
| F. Análisis estadístico | 24 |
| VIII. RESULTADOS | 25 |
| IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 30 |
| X. CONCLUSIONES | 37 |
| XI. RECOMENDACIONES | 38 |
| XII. REFERENCIAS | 39 |

I. RESUMEN

La resistencia a múltiples antimicrobianos es un fenómeno biológico natural que se ha visto incrementado en los últimos tiempos, debido a la mala utilización que se hace de ellos. Los carbapenemes han sido los agentes antimicrobianos utilizados como último recurso en infecciones severas. Son antibióticos con amplio espectro de actividad bactericida y sumamente resistentes a las betalactamasas; sin embargo, este escenario se ha modificado en los últimos años ya que se han encontrado aislamientos de enterobacterias con resistencia a estos agentes antimicrobianos.

Debido a la importancia que ha cobrado este fenómeno de resistencia a nivel mundial, se realizó este estudio observacional descriptivo con el propósito de determinar la presencia de carbapenemasas, además de determinar su fenotipo en 62 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* resistentes a carbapenemes provenientes del Hospital General San Juan de Dios.

Para evidenciar la presencia de carbapenemasas y diferenciar su fenotipo, se observó para KPC el sinergismo entre el disco de imipenem y ácido borónico y para MBL el sinergismo entre el imipenem y utilizando la técnica de sinergia con doble disco. Los resultados se analizaron con el programa WHONET versión 5.6, se encontraron 14 (23%) aislamientos de *Klebsiella* sp. con presencia de carbapenemasas, de los cuales 13 (93%) productores de carbapenemasa tipo MBL y 1 (7%) productor de carbapenemasa tipo KPC. De éstos, la única especie del género *Klebsiella* que se identificó fue *K. pneumoniae*, de *E. coli* no se obtuvo ningún aislamiento con presencia de carbapenemasas.

La única cepa de *K. pneumoniae* con carbapenemasa tipo KPC obtenida, provenía de una muestra de urocultivo de la sala de Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría.

Con respecto a los aislamientos de carbapenemasas tipo MBL se encontró que en los servicios donde hubo mayor número de estos fue en la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos con 4 aislamientos (31%), la sala de Emergencia presentó 3 (23%) y Medicina

de Hombres 2 (15%), las Unidades de Cuidados Intensivos de Pediatría, Medicina de Mujeres, Cuidados coronarios y Cuidados progresivos tuvieron un aislamiento positivo por cada unidad (8% para cada sala). Con relación al tipo de muestra se encontró que provenían principalmente de orina 5 aislamientos (38%), secreciones varias 3 (23%), aspirados traqueales 2 (15%), únicamente se detectó un aislamiento positivo (8%) para cada una de las muestras de catéter, hemocultivos y heridas operatorias .

Según los perfiles de resistencia se observó que el aislamiento de *K. pneumoniae* con carbapenemasa tipo KPC presentaba una alta resistencia a todos los antibióticos probados, a excepción de amikacina. Respecto a los aislamientos con carbapenemasas tipo MBL se observó una alta multiresistencia, específicamente en carbapenemes y penicilinas queda como única opción terapéutica para éstas: amikacina, levofloxacina, gatifloxacina y tetraciclina debido a que fueron los antibióticos con menor porcentaje de resistencia.

Es necesario este tipo de estudios para que el personal de salud comprenda la necesidad del control sobre el uso adecuado y racional de los antibióticos que aún disponen de vida útil ante los agentes microbianos importantes a nivel hospitalario.

II. INTRODUCCIÓN

En Guatemala las infecciones nosocomiales se presentan con frecuencia. En el Hospital General San Juan de Dios, las unidades más afectadas son pediatría y neonatología, en donde el uso indiscriminado de antibióticos ha provocado la aparición de cepas multirresistentes (Felipe, 2006).

La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, se ha incrementado debido a la mala utilización que hace el hombre de los antibióticos y a la indiferencia ante este hecho. Esta resistencia genera dificultades para realizar un tratamiento adecuado, lo cual contribuye a aumentar la gravedad de las infecciones. Dicha resistencia es provocada por la aparición de genes de origen cromosómico y extracromosómico. En algunos países, cepas que poseen multirresistencia constituyen el 20% de todos los aislamientos nosocomiales (Gums, Yancey, Hamilton & Kubilis, 1999).

Los carbapenem son antibióticos generalmente utilizados como opción terapéutica en casos de resistencia bacteriana, según su estructura son agentes beta-lactámicos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana y presentan un amplio espectro de actividad antibacteriana. En la actualidad estos medicamentos se han reservado para pacientes con infecciones severas o para aquellas infecciones producidas por microorganismos resistentes a las penicilinas y cefalosporinas disponibles esto debido en gran parte a su estabilidad frente a la mayoría de las beta-lactamasas de importancia clínica (Forero, 1998).

Algunos tipos de beta-lactamasas ahora son capaces de hidrolizar a los carbapenem generando resistencia hacia estos agentes antimicrobianos, este es un evento poco común, especialmente en géneros de la familia Enterobacteriaceae. Sin embargo, en los últimos años han incrementado los reportes de cepas de Enterobacteriaceae con resistencia hacia los carbapenem (De la Lastra, Ulloa, Pinto, Vidal & Silva, 2010).

Las infecciones ocasionadas por géneros de la familia Enterobacteriaceae que presentan resistencia a estos agentes antimicrobianos, son productores de carbapenemasas,

lo cual ha emergido como un importante desafío a nivel mundial, siendo más comunes las causadas por *Klebsiella* sp. y *E. coli*.

Por lo anterior, es importante la investigación y monitoreo de estos dos géneros bacterianos productores de carbapenemasas, lo cual actualmente se está realizando a nivel mundial. Sin embargo, en Guatemala aún no se están llevando a cabo estudios al respecto.

El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de carbapenemasas en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. provenientes del Hospital General San Juan de Dios.

III. ANTECEDENTES

A. Familia Enterobacteriaceae

La familia Enterobacteriaceae es un grupo de bacterias que contiene más de 30 géneros y más de 100 especies. Los miembros de esta familia forman parte de la microbiota del intestino, de otros órganos del ser humano y de otras especies animales. Entre sus características generales, son bacterias gram negativo, en su mayoría bacilos, sin embargo también se conocen cocobacilos y bacilos pleomórficos; no son exigentes, por lo que son de fácil cultivo; carecen de la enzima citocromo oxidasa (excepto *Plesiomonas*), son capaces de reducir nitrato en nitrito, son anaeróbicos facultativos, fermentan los carbohidratos en condiciones anaeróbicas con o sin la producción de gas (en especial lactosa) y oxidan una amplia gama de sustratos en condiciones aeróbicas (Madigan, Martinico & Parker, 2006).

Las diferencias entre los nombres de los diversos géneros provienen de criterios más precisos, como la fermentación de los diferentes azúcares, la producción o no de azufre, la presencia de enzimas metabólicas (betagalactosidasas, desaminasas, descarboxilasas), etc. Serotipos de importancia médica y sanitaria se distinguen entre sí por la presencia o ausencia de antígenos en su constitución celular, tales como el lipopolisacárido (antígeno O), antígeno flagelar (antígeno H) o el antígeno capsular (antígeno K) (Madigan, Martinico & Parker, 2006).

La mayoría de las especies pueden aislarse del intestino del hombre y de otros animales. Pueden ser parte de la microbiota o ser transitorias en la cavidad bucal, en las regiones húmedas de la piel, las fosas nasales y las vías genitales femeninas. Son abundantes en la naturaleza, en particular en medios húmedos y por ser expulsadas por las heces, funcionan como indicadores epidemiológicos de salubridad e higiene poblacional, poniendo de manifiesto deficiencias en la calidad microbiológica de un determinado alimento al realizarse un recuento de los coliformes totales y fecales en dicho alimento (Cabelli, Dufour, Cabe & Levin, 1982).

En ciertas oportunidades, estos microorganismos pueden resultar patógenos al actuar como oportunistas en infecciones urinarias, neumonía, septicemia, sobreinfecciones, en especial afectan a pacientes inmunosuprimidos, desnutridos y con uso frecuente de antibióticos (Sader, 2001).

Las Enterobacteriaceae incluyen a organismos patógenos para el humano como *E. coli* o *Salmonella* sp. las cuales se consideran de gran importancia en la mortalidad infantil en los países en vías de desarrollo, causando infecciones oportunistas en la mayor parte de los casos (Madigan, Martinico & Parker, 2006)).

“Todos lo bacilos de Enterobacteriaceae son resistentes a antimicrobianos comunes, tales como penicilina, meticilina, cefalosporinas de 1ª o 2ª generación, entre otros” (Famiglietti, 2005).

B. *Escherichia coli*

La *E. coli* vive normalmente en los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos y es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. Si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos actúa como un comensal formando parte de la microbiota intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas, después de la primera comida (Puerta & Mateos, 2010).

Como patógeno puede causar infecciones intestinales y extraintestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía (Madigan et al., 2006). Se distinguen seis cepas según su poder patógeno:

- *E. coli* enteropatógena (ECEP)
- *E. coli* enterotoxigénica (ECET)

- *E. coli* enteroinvasiva (ECEI)
- *E. coli* enterohemorrágica o verotoxigénica (ECEH)
- *E. coli* enteroagregativa (ECEA)
- *E. coli* adherencia difusa (ECAD)

C. *Klebsiella* sp.

Son bacilos rectos de 0.3-1.0 μm de diámetro y 0.6-6.0 μm de longitud. Las células se disponen individualmente, en parejas o en cadenas cortas. Son inmóviles, gram negativo y la mayor parte poseen cápsula. En los cultivos en medios sólidos, las cepas que producen cápsula permiten observar colonias mucosas de una consistencia viscosa. Al ser gram negativas, presentan el citoplasma envuelto por una membrana citoplasmática o interna, el peptidoglicano, el espacio periplásmico, y una membrana externa. Adicionalmente, algunas cepas poseen fimbrias. El periplasma queda circunscrito entre la membrana celular y la externa. Está formado por una matriz polipeptídica y polisacárida. Su función estaría centrada en la captación de solutos, la transformación de ciertos compuestos, como los antibióticos, y el control de la presión osmótica. La cápsula, que presentan muchas cepas de esta especie, es la capa más externa y está constituida por una trama laxa, hidratada y más o menos amorfa de carácter, es lo que da su mucosidad la hace densa y viscosa. Las fimbrias son estructuras proteicas filamentosas, su función principal es la adhesión a superficies (Podschun & Ullmann, 1998).

K. pneumoniae no había sido considerada como una especie patógena para el hombre. Sin embargo, debido al incremento en uso de antibióticos y al empleo de procedimientos diagnósticos más agresivos, en los últimos años su papel como agente etiológico responsable de patologías ha ido en aumento, sobre todo causando infecciones de origen nosocomial y representando una proporción muy significativa en las infecciones del tracto urinario, respiratorio, septicemias e infecciones de tejidos blandos (Levinson & Jawetz, 1992).

Las especies del género *Klebsiella* pueden ocasionar una amplia variedad de estados infecciosos. Entre las especies se destacan:

- *K. pneumoniae*: produce infecciones del tracto urinario, septicemia e infecciones de tejidos blandos.
- *K. ozaenae*: produce rinitis atrófica.
- *K. rhinoscleromatis*: produce infecciones en vías respiratorias, causando escleroma o rinoscleroma (enfermedad crónica granulomatosa que afecta inicialmente la mucosa de la cavidad nasal, después invade la faringe y en ocasiones se extiende a la laringe, tráquea y bronquios) (Levinson & Jawetz, 1992).

D. Agentes antimicrobianos

Un antibiótico ha sido definido como una sustancia química producida por un microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de otros microorganismos. Los antibióticos modificados por manipulaciones químicas aun se consideran como tales. Un agente antimicrobiano es activo contra los microorganismos y puede ser producido en forma natural por microorganismos o sintéticamente en el laboratorio (Blanch, Drew & Wang, 1985).

Los antibióticos pueden ser agentes bacteriostáticos o bactericidas. Los agentes bacteriostáticos tales como tetraciclina inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias y al ser expuestos a las células en una población susceptible cesan su división; sin embargo, si el agente es retirado, las células vuelven a multiplicarse. Los agentes bactericidas, como las fluoroquinolonas, no solo inhiben el crecimiento de las células, sino también desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular. Las acciones de los agentes bactericidas son irreversibles, por tanto una vez que las células susceptibles son expuestas al agente bactericida, éstas mueren (Blanch et al., 1985). Basados en su estructura los antibióticos se pueden dividir en agentes betalactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, tetraciclinas, polipeptídicos y polienos.

Los agentes betalactámicos presentan un anillo betalactámico que define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las betalactamasas. Los betalactámicos, que actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica. Se trata de compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. Su espectro se ha ido ampliando a lo largo de los años por la incorporación de nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gram negativo; pero la progresiva aparición de resistencias adquiridas ha limitado su uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones. Aun así, la penicilina sigue siendo el tratamiento de elección en un buen número de infecciones clásicas, las cefalosporinas lo son en la profilaxis quirúrgica y en infecciones comunitarias graves, las carbapenemas en infecciones nosocomiales mixtas y por bacterias multirresistentes y los inhibidores de betalactamasas permiten el uso eficaz de las amino y ureido penicilinas en infecciones severas (Salso, 2000).

E. Mecanismos de acción de los antimicrobianos

Los antibióticos destruyen o inhiben el crecimiento de las bacterias y para producir este efecto deben dañar o alterar una o varias estructuras del microorganismo. El mecanismo de acción de algunos antibióticos es el mismo, ya sea que actúen sobre bacterias gram positivo o gram negativo. Este mecanismo está condicionado por la anatomía bacteriana y sus constituyentes químicos. Los antibióticos para poder actuar deben penetrar a su sitio de acción y por lo tanto ser capaces de llegar a la pared, a la membrana o a otras estructuras de la bacteria. Todos los antibióticos aunque poseen un modo de acción primario, actúan de manera secundaria en otras partes de la anatomía o fisiología del microorganismo (Pinto, 2002). Los principales mecanismos de acción de los antimicrobianos son:

- Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana
- Alteración de la membrana celular
- Inhibición de la síntesis proteica
- Alteración de la síntesis de ácidos nucleicos

F. Resistencia bacteriana

Es la capacidad adquirida de un organismo para resistir los efectos de un determinado antibiótico al que es sensible habitualmente. La mayor parte de la resistencia a antimicrobianos es debida a genes de resistencia que se transfieren por intercambio genético. Esta resistencia es generada por la aparición de genes de origen cromosómico y extracromosómico, tanto de microorganismos de la misma especie como de otras, cuya diseminación a casi todas las especies bacterianas es debida entre otras causas al uso indiscriminado e inadecuado de todo tipo de antimicrobianos. La modificación en el genoma es debida a cambios en los procesos evolutivos bacterianos que llevan a mutaciones en los nucleótidos del ADN así como a fenómenos de mutación, duplicación, delección o transposición, siendo la causa de la dispersión de las cepas resistentes. La lectura interpretada del antibiograma en enterobacterias, a pesar de que la mayoría de los mecanismos de resistencia implicados se conoce con bastante detalle, continúa siendo objeto de discusiones y quedan todavía numerosos aspectos a determinar, sobre todo cuando se intenta predecir la respuesta clínica (Poole, 2004).

G. Mecanismos de resistencia bacteriana

Hay una serie de formas en que los microorganismos son resistentes a los agentes antimicrobianos. Éstos incluyen:

- Bombas de expulsión activa
- Disminución de la permeabilidad de la membrana
- Cambios estructurales de las proteínas de unión de penicilina (PBP)
- Alteración de las rutas metabólicas

- Producción de enzimas (betalactamasas)

H. Betalactamasas

Las betalactamasas son proteínas enzimáticas que catalizan la hidrólisis del anillo betalactámico separando el enlace amida, lo cual impide al antibiótico inhibir la síntesis de la pared celular (Sachie, 2003).

En las bacterias gram negativo, las betalactamasas se encuentran en el espacio periplásmico entre la pared celular y la membrana externa. Aunque todas las betalactamasas catalizan la misma reacción, se han aislado y caracterizado numerosos tipos de enzimas que se clasifican en forma diversa de acuerdo a su secuencia de aminoácidos, peso molecular o especificidad del sustrato. Las betalactamasas cromosómicas son universales en una bacteria específica mientras que las betalactamasas codificadas por plásmidos son variables y transferibles entre las diversas especies bacterianas (Martínez & Pascual, 2002).

La resistencia que desarrollan las bacterias frente a los betalactámicos representa un grave problema, pues es probablemente el grupo de antibióticos más utilizado. La producción de enzimas inactivantes es sin duda el mecanismo más importante de los betalactámicos ya que la adquisición de betalactamasas (plasmídicas o cromosómicas) es la causa más frecuente de resistencias. Las betalactamasas plasmídicas de gram negativos producen alto nivel de resistencia y están muy extendidas sobre todo entre las enterobacterias, algunas son de espectro ampliado y confieren resistencia prácticamente a la totalidad de los antibióticos betalactámicos (Gómez-Lus, Gill, Castillo & Rubio, 1992)

I. Carbapenemasas

Son betalactamasas capaces de hidrolizar significativamente carbapenemes junto con otras penicilinas y/o cefalosporinas. Las betalactamasas transferibles con actividad carbapenemasa pueden pertenecer a las clases A, B o D de Ambler (Anexo 1).

1. Carbapenemasas de clase A

Las carbapenemasas de la clase A pertenecen al grupo 2f de la clasificación funcional de Bush y comprenden cinco grupos que comprenden: SME, IMI, NMC, KPC y GES/IBC (Bush & Jacoby, 2010).

Los grupos SME, IMI y NMC son principalmente de codificación cromosómica y nunca se han detectado en las especies de *Pseudomonas* (Bush & Jacoby, 2010).

Las enzimas pertenecientes al grupo SME (1 a 3) se han hallado tan sólo en *Serratia marcescens* y las IMI (1 y 2) y NMC-A, en las especies de *Enterobacter*. En general, hidrolizan todos los betalactámicos, aunque la eficacia catalítica o de hidrólisis, que viene dada por el cociente k_{cat}/K_m , sobre las cefalosporinas de tercera y cuarta generación es bastante modesta (Sato & Nakae, 1991).

Las carbapenemasas tipo KPC se describieron por primera vez en *K. pneumoniae* (de ahí sus iniciales) en Carolina del Norte y se han ido detectando periódicamente y en diferentes variantes. Hasta ahora, hay descritas de la KPC-1 a la KPC-10, principalmente en enterobacterias y se han detectado prácticamente en todo el mundo con mayor frecuencia en Norteamérica. Son transferibles por un plásmido en asociación con otros genes de resistencia. Aunque sus genes no están en forma de casetes genéticos en integrones, sí están asociados a elementos móviles como secuencias de inserción o transposones y dada su presencia predominante en *K. pneumoniae*, un microorganismo cuya capacidad como vector de diseminación de determinantes de resistencia es bien conocida, han llegado a ser las más extendidas dentro del grupo funcional. Su espectro de hidrólisis incluye todos los betalactámicos, si bien la eficacia de hidrólisis sobre los carbapenemes y las monobactames es hasta 10 veces menor que sobre las penicilinas y las cefalosporinas (Forero, 1998).

Las carbapenemasas tipo GES/IBC se describieron por primera vez, casi en paralelo, en dos variantes: GES-1 (siglas procedentes de *Guiana extended spectrum*, por su país de origen) en una cepa de *K. pneumoniae*, e IBC-1 (del inglés *integron borne*

cephalosporinase) en un aislado de *Enterobacter cloacae* en Grecia, ambas en el año 2000. Difieren en sólo un aminoácido y fueron definidas como BLEE con unas tasas de hidrólisis de carbapenemas prácticamente nulas. El hallazgo de las GES no es tan frecuente como el de otras carbapenemasas, aunque se han aislado prácticamente en todo el mundo (Normann & Poirel, 2002).

2. Carbapenemasas de clase B

Las carbapenemasas de clase B son conocidas como MBL (metalobetalactamasas) son probablemente el grupo más relevante de carbapenemasas, tanto por diversificación en diferentes variantes aminoacídicas como por su diseminación mundial y en diferentes microorganismos (Andrade, 2005).

Todas las MBL tienen también en común su inhibición por quelantes metálicos como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Dentro de ellas, se distinguen ocho grupos: IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, AIM, DIM y KHM (Franklin, Liolios, & Peleg, 2006).

VIM-2 es probablemente la carbapenemasa más común en todo el mundo, un híbrido entre VIM-1 y VIM-2 sólo se ha detectado en enterobacterias; VIM-19, sólo hallada en *K. pneumoniae* y VIM-23, sólo en *E. cloacae* (Chirinos, 2002).

3. Carbapenemasas de clase D

Las betalactamasas tipo OXA se detectan principalmente en *A. baumannii* habitualmente como casetes en integrones situados en plásmidos o transposones, aunque también, en ciertos casos, asociadas a secuencias de inserción. Sin embargo, también se han hallado más raramente en *P. aeruginosa* y otras especies próximas como *Ralstonia* o *Aeromonas* (Suárez, Kattán, Guzmán & Villegas, 2006).

J. Detección de carbapenemasas

El mecanismo de carbapenemasas es el de mayor importancia epidemiológica y clínica por ser fácilmente transmisible, conferir resistencia clínicamente significativa y estar asociado a alta mortalidad. Por lo tanto, su detección en el laboratorio es fundamental. Hasta la fecha no existe consenso sobre la mejor manera de hacer un diagnóstico sencillo y certero sobre la presencia de carbapenemasas (Frankin, Liolios & Peleg, 2006).

Para las guías de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) si bien se proponen test de tamizaje a partir del año 2009, recién para el año 2011 se realizaron ajustes que optimizarían la detección. Actualmente, se considera cepa sospechosa de producción de carbapenemasas a aquellas Enterobacterias que presenten una concentración inhibitoria mínima (CIM) >1 para imipenem o meropenem y $CIM > 0.25$ para ertapenem. Asimismo, se toma un halo menor a 23 mm para cualquier carbapenem para sospechar la presencia de carbapenemasas. Si bien la CLSI sugiere la realización de test modificado de Hodge para la confirmación de estos casos, se sabe claramente que hasta un 25% de los casos pueden ser falsos positivos (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2011). Para las cepas no productoras de cefalosporinas de clase C (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella spp*) se propone la realización de test de sinergia con discos de ácido borónico y EDTA junto a un carbapenem (Anexo 2) (Pasteran, Méndez, Rapaportand, Guerriero & Corso, 2010).

Actualmente en países como Chile (Lastra et al., 2010), Argentina (Pasteran, et al., 2010), España (Miró, Alonso, Navarro & Mirelis, 1995) y EEUU (Bradford, Urban, Mariano, Projan, Rahal, & Bush & Jacoby, 2010; Bratu et al., 2005), se están realizando métodos de screening para detectar presencia de carbapenemasas utilizando técnicas de reacción en cadena de la polimerasa para la detección de los genes que codifican para las diferentes carbapenemasas (Franklin et al., 2006).

Lo anterior tiene la desventaja de la baja disponibilidad de esta tecnología en los laboratorios de Guatemala y los costos asociados a la detección de múltiples variantes enzimáticas.

IV. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha observado un importante incremento de la resistencia a carbapenems por parte de las enterobacterias responsables de infecciones graves como sepsis, meningitis, además de infecciones del tracto respiratorio y urinario, entre otras. Las enterobacterias productoras de carbapenemasas son resistentes a casi todos los antibióticos disponibles y la infección con estas ha sido asociada con altas tasas de morbilidad y mortalidad, especialmente en los pacientes con internación prolongada y en pacientes críticos multiinfectados (ventilación mecánica, catéteres, etc.). La aparición de dichas enzimas se ha descrito desde el 2001 en varios lugares del mundo con un comportamiento endémico y epidémico. Su importancia radica en la capacidad que posee de transmitir resistencia a todos los antibióticos betalactámicos limitando las opciones terapéuticas (Suárez, Kattán, Guzmán & Villegas, 2006).

En Guatemala la Organización Panamericana de la Salud (OPS) lanzó una alerta epidemiológica por la diseminación de carbapenemasas en *K. pneumoniae* en Latinoamérica en julio del año 2010 por lo que se envió una alerta a la red hospitalaria través del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) (Anexo 3), con ello se inició con la búsqueda de este mecanismo de resistencia en todas las cepas de enterobacterias referidas por los laboratorios de la red nacional al área de Bacteriología de la Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del LNS. Durante esta vigilancia se identificaron dos cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenems las cuales presentaron mecanismo tipo MBL; sin embargo, no se ha realizado ningún estudio investigativo para la búsqueda y detección de este mecanismo de resistencia en el Hospital General San Juan de Dios. Por esta razón es importante la realización del primer estudio para la determinación y posterior clasificación de carbapenemasas en *E. coli* y *Klebsiella* sp. aisladas en muestras de dicho hospital.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Determinar la presencia de carbapenemasas en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. aisladas de muestras del Hospital General San Juan de Dios.

B. Objetivos específicos

1. Detectar la producción de metalobetalactamasas (MLB) en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. por medio del método de doble disco sinérgico imipenem-EDTA.
2. Detectar la producción de carbapenemasas tipo KPC en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. por medio del método de doble disco sinérgico imipenem-ácido borónico.
3. Determinar la frecuencia de carbapenemasas MLB y KPC en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. distribuidas por muestra y por unidad referida del Hospital General San Juan de Dios.
4. Evaluar la reducida susceptibilidad antibiótica a carbapenem reportada por el equipo automatizado Walk Away (Microscan)[®] por medio del control con disco de imipenem en cepas que hayan sido reportadas como resistentes a algún carbapenem por dicho equipo.

VI. HIPÓTESIS

Este estudio no presenta hipótesis por ser de tipo observacional-descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Cepas de *E. coli* y *Klebsiella* sp. reportadas como resistentes o intermedios a imipenem o ertapenem por el equipo automatizado Walk Away (Microscan)[®], provenientes del Hospital General San Juan de Dios.

B. Muestra

Sesenta y dos aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. resistentes o intermedios a imipenem y ertapenem, obtenidos de pacientes del Hospital General San Juan de Dios recolectados de enero a diciembre del 2011.

C. Recursos

1. Humanos

- Br. Mayra Aracely Garrido de García (tesista)
- Lic. Martín Nestor Fernando Gil Carrera (asesor)
- Lic. Carlos Crescencio Pérez De León (co-asesor)
- Dr. Luis Demetrio González Patzán (co-asesor)

2. Institucionales

Laboratorio de Bacteriología del Hospital General San Juan de Dios.

3. Físicos

a. Equipo

- Autoclave
- Balanza analítica
- Campana de flujo laminar tipo II
- Congelador a -20°C
- Incinerador de asas
- Incubadora a 35°C
- Mechero Bunsen
- Mezclador Vórtex
- Potenciómetro
- Refrigerador a 4°C

b. Materiales

- Asas bacteriológicas
- Balón aforado de 100 mL
- Beaker de 25 mL
- Cajas de petri plásticas estériles
- Calculadora
- Discos de papel filtro estériles
- Erlenmeyer de 250 mL
- Espátulas de metal
- Etanol al 70%
- Frascos estériles
- Gradillas
- Guantes
- Hisopos estériles
- Marcador permanente

- Papel mayordomo
- Papel parafilm
- Pinzas de metal
- Pipeta automática de 2-20 μ L
- Pipetas estériles con algodón de 10 mL y bulbo para pipetas
- Probetas de 100 mL 250 mL y 1000 mL
- Puntas amarillas estériles
- Regla
- Tubos de microcentrífuga estériles de 2 mL

c. Reactivos

- Agar Chocolate
- Agar Mueller-Hinton
- Agua destilada estéril
- Aislamientos de enterobacterias
- Caldo Trypticase Soya
- Discos de ácido 3'-amino-fenil-borónico (300 μ g)
- Discos de imipenem (10 μ g)
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- Estándar 0.5 de McFarland
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 32% p/v
- Hipoclorito de Sodio al 5.25%
- Soluciones de EDTA 0.1M
- Solución salina estéril
- Viales con caldo tioglicolato

D. Procedimiento

Para estos aislamientos y para *E. coli* ATCC 25922 como control negativo, se utilizó el algoritmo de trabajo establecido por el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos Malbrán de Argentina (Anexo 4), el cual establece que se realice un tamizaje inicial utilizando el tamaño de la zona de inhibición del imipenem por el método de difusión de disco, considerando como sospechosas de producción de carbapenemasas a todas las cepas con halos menores o iguales a 22 mm. Seguidamente se realizó la fenotipificación para detectar la presencia de carbapenemasas tipo MLB por el método de doble disco sinérgico, utilizando para ello imipenem y EDTA. La prueba de sinergia con imipenem y ácido 3'-amino-fenil-borónico fue utilizada para el mecanismo de resistencia del tipo KPC (Pasteran et al., 2010).

1. Recolección de cepas

Se recopilaron aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* sp. en un periodo de 1 año de muestreo comprendido de enero a diciembre de año 2011. Estos aislamientos provenían de distintas salas del Hospital General San Juan de Dios, fueron ingresadas al Laboratorio de Bacteriología y fueron procesados si se reportaron como resistentes o intermedios a imipenem, meropenem o ertapenem por el equipo automatizado Walk Away (Microscan)®.

2. Almacenamiento de aislamientos sospechosos

Los aislamientos recopilados fueron almacenados en la refrigeradora del Área de Bacteriología. Estos aislamientos fueron puestos semanalmente en viales con caldo tioglicolato y almacenados a -20 °C.

3. Preparación de la solución de EDTA 0.1M

Se realizó una dilución 0.1M con 0.372 g de EDTA disódico dihidratado en 10 mL de agua destilada estéril, el pH fue ajustado a 8 con hidróxido de sodio al 32% p/v.

4. Impregnación de discos con solución de EDTA

Se impregnaron los discos de papel filtro con 5 μ L de la solución de EDTA 0.1M a cada disco, los cuales se dejaron secar y se refrigeraron a 4°C bajo condiciones de esterilidad.

5. Revitalización de aislamientos

Se tomó una azada del aislamiento y se inoculó en cajas de agar chocolate. Luego se incubó a 35°C por 24 horas. Fue necesario se realizar una resiembra más para captar a la bacteria en óptimas condiciones.

6. Antibiograma para detección de carbapenemasas

- a) Se preparó un estándar de McFarland 0.5 (Anexo 5).
- b) Se inoculó con hisopo estéril y en forma de tapete las cajas con agar Mueller Hinton.
- c) Se colocaron los taxos de EDTA 0.1M / imipenem / ácido 3' amino-fenilborónico en la forma establecida (Anexo 2).
- d) Se incubó a 35°C por 24 horas (Pasteran et al., 2010)

7. Interpretación de placas

La interpretación de las placas se realizó en base a dos parámetros:

- a) Presencia de sinergismo de imipenem y EDTA (0.1M) se tomó como resultado positivo para carbapenemasa tipo MBL y la ausencia de este sinergismo como resultado negativo.
- b) Presencia de sinergismo de imipenem y ácido 3' amino-fenil-borónico se tomó como resultado positivo para carbapenemasa tipo KPC y la ausencia de sinergismo como resultado negativo (Pasteran et al., 2010).

F. Diseño de la investigación

Se realizó un estudio observacional descriptivo, de tipo transversal en una muestra no probabilística por conveniencia de aislamientos de enterobacterias que se recolectaron en un período de 1 año (enero-diciembre del 2011) los cuales fueron reportados como resistentes o intermedios a imipenem o ertapenem. La información de los aislamientos se obtuvo de la base de datos proporcionada por el Hospital General San Juan de Dios.

G. Análisis estadístico

Se realizó con el programa WHONET versión 5.6 el cual lleva a cabo un análisis de frecuencia para descripción de la muestra. Los resultados se colocaron en tablas de datos basándose en porcentajes y se determinó la frecuencia de carbapenemasas tipo KPC y MBL en los aislamientos de cada microorganismo.

VIII. RESULTADOS

Del total de los aislamientos recolectados por alerta a presencia de carbapenemasas (62), se confirmó la presencia de éstas en 14 aislamientos (23%) y 48 aislamientos (77%) representaron falsos positivos según la metodología establecida.

De los 62 aislamientos obtenidos con alerta a producción de carbapenemasas, 53 (85%) correspondían a *K. pneumoniae* y 9 aislamientos (15%) a *E. coli*.

Únicamente *K. pneumoniae* mostró presencia de carbapenemasas en este estudio, los aislamientos de *E. coli* resultaron falsos positivos.

De los 53 aislamientos de *K. pneumoniae* que presentaron resistencia a algún carbapenem, se confirmó producción de carbapenemasas en 14 aislamientos (26%) y 39 aislamientos (74%) presentaron falsos positivos.

De los 14 aislamientos de *K. pneumoniae* que mostraron presencia de carbapenemasas, 13 presentaron actividad tipo MBL (93%) y una presentó actividad tipo KPC (7%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tipo de carbapenemasa presente en los aislamientos de *K. pneumoniae*

| Tipo de carbapenemasa | | Total |
|-----------------------|--------|------------------------------|
| MBL | KPC | (Presencia de carbapenemasa) |
| 13 (93%) | 1 (7%) | 14 (100%) |

Fuente: Datos obtenidos del equipo Walk Away (Microscan)[®] y analizados con el programa WHONET 5.6.

La única cepa de *K. pneumoniae* con carbapenemasa tipo KPC obtenida, provenía de una muestra de urocultivo de la sala de Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría.

Con respecto a la procedencia de las muestras, del total de los 13 aislamientos de *K. pneumoniae* que presentaron carbapenemasas tipo MBL, 3 correspondieron a muestras de secreciones varias (23%), 1 a muestra obtenida de catéter (8%), 5 a orina (39%), 1 a herida operatoria (8%), 1 de hemocultivo (8%) y 2 de aspirados traqueales (15%) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Aislamientos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasa tipo MBL por tipo de muestra, (n=13).

| Tipo de Muestra | Frecuencia de aislamientos con carbapenemasa tipo MBL | % de aislamientos positivos por tipo de muestra |
|------------------------|--|--|
| Orina | 5 | 38 |
| Secreciones | 3 | 23 |
| Aspirado traqueal | 2 | 15 |
| Catéter | 1 | 8 |
| Hemocultivos | 1 | 8 |
| Herida operatoria | 1 | 8 |
| Total | 13 | 100 |

Fuente: Informe de Microbiología del equipo Walk Away (Microscan)[®] del Hospital General San Juan de Dios.

Referente a la sala hospitalaria de donde provenían las muestras con presencia de carbapenemasas tipo MBL (n=13), se observó que de los aislamientos de *K. pneumoniae* con este tipo de carbapenemasas, 4 provenían de la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (31%), 1 de la Unidad de Cuidados intensivos de Pediatría (8%), 2 de a la Unidad de Medicina de Hombres (15%), 1 a la Unidad de Medicina de Mujeres (8%) y 3 provenían de la Emergencia de Adultos (23%) 1 de la Unidad de Cuidados Coronarios (8%) y 1 de la Unidad de Cuidados Progresivos (8%) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Aislamientos de *K. pneumoniae* con MBL por servicio

| Servicio | Frecuencia de aislamientos con MBL | % de aislamientos positivos por servicio |
|--|---|---|
| Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos | 4 | 31 |
| Emergencia de Adultos | 3 | 23 |
| Medicina de Hombres | 2 | 15 |
| Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría | 1 | 8 |
| Medicina de Mujeres | 1 | 8 |
| Unidad de Cuidados Coronarios | 1 | 8 |
| Unidad de Cuidados Progresivos | 1 | 8 |
| Total | 13 | 100 |

Fuente: Informe de Microbiología del equipo Walk Away (Microscan)[®] del Hospital General San Juan de Dios.

El aislamiento de *K. pneumoniae* con carbapenemasas tipo KPC presentó resistencia a la mayoría de los antibióticos estimados por el equipo automatizado Walk Away (Microscan)®, presentando sensibilidad únicamente a amikacina y sensibilidad intermedia hacia tetraciclina (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resistencia de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC a distintos antibióticos

| Antibiótico | Interpretación | Antibiótico | Interpretación |
|-------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Amikacina | S | Ciprofloxacina | R |
| Amoxicilina Acido Clavulónico | R | Ertapenem | R |
| Ampicilina Sublactam | R | Gatifloxacina | R |
| Ampicilina | R | Gentamicina | R |
| Aztreonam | R | Imipenem | R |
| Cefalotina | R | Levofloxacina | R |
| Cefazolina | R | Nitrofurantoína | R |
| Cefepima | R | Piperaziclina/ Tazobactam | R |
| Cefoaxima | R | Tetraciclina | I |
| Ceftaxima Acido clavulónico | R | Ticarcilina/Acido Clavulónico | R |
| Ceftazidima | R | Ciprofloxacina | R |
| Ceftazidima Acido clavulónico | R | Ertapenem | R |
| Ceftriaxona | R | Gatifloxacina | R |
| Cefuroxima | R | Trimetoprim Sulfametoxasol | R |
| Tobramicina | R | Trimetroprim | R |

R: Resistente, S: Susceptible, I: Intermedio.

Fuente: Informe de Microbiología del equipo Walk Away (Microscan)® del Hospital General San Juan de Dios.

Los aislamientos de *K. pneumoniae* con carbapenemasas tipo MBL presentaron un patrón de resistencia a un alto número de antibióticos mostrando un 100% de resistencia a las cefalosporinas y otros betalactámicos; los antibióticos con un menor porcentaje de resistencia fueron amikacina, que no presentó resistencia, levofloxacina 31%, gatifloxacina con 38% y 43% tetraciclina. Con respecto a los carbapenemes tanto ertapenem e imipenem presentaron alto porcentaje de resistencia, el mayor es para ertapenem con el 100% y 77% para imipenem (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo MBL a los distintos antibióticos analizados, (n=13).

| Antibiótico | Resistencia (%) |
|-------------------------------|-----------------|
| <i>Aminoglucósidos</i> | |
| Amikacina | 0 |
| Tobramicina | 85 |
| Gentamicina | 62 |
| <i>Cefalosporinas</i> | |
| Ceftazidima | 100 |
| Cefalotina | 100 |
| Cefepima | 100 |
| Cefotaxima | 100 |
| Ceftriaxona | 100 |
| Cefuroxima | 100 |
| <i>Otros betalactámicos</i> | |
| Ticarcilina/Ácido clavulánico | 92 |
| Piperacilina/Tazobactam | 92 |
| Amoxicilina/Ácido clavulánico | 75 |
| Ampicilina/Sulbactam | 100 |
| Aztreonam | 100 |
| <i>Quinolonas</i> | |
| Ciprofloxacina | 100 |
| Levofloxacina | 31 |
| Gatifloxacina | 38 |
| <i>Sulfonamidas</i> | |
| Trimetoprim/Sulfametoxazol | 100 |
| <i>Nitrofuranos</i> | |
| Nitrofurantoína | 71 |
| <i>Carbapenemes</i> | |
| Imipenem | 77 |
| Ertapenem | 100 |
| <i>Tetraciclina</i> | |
| | 43 |

Fuente: Datos obtenidos del equipo Walk Away (Microscan)[®] y analizados con el programa WHONET 5.6.

IX. DISCUSIÓN

Las especies de *K. pneumoniae* y *E. coli* mostraron alerta a posible presencia de carbapenemasas. Sin embargo, únicamente *K. pneumoniae* fue portadora de carbapenemasas en este estudio. Este hecho concuerda con datos epidemiológicos de estudios realizados en Grecia y en Chile en donde se demostró que esta bacteria es la principal enterobacteria con resistencia a carbapenémicos. Por este motivo, se ha convertido en un patógeno intrahospitalario importante, ya que además las carbapenemasas le confieren resistencia contra los antibióticos utilizados como última opción terapéutica.

E. coli también es una importante productora de carbapenemasas por adquisición del plásmido de resistencia, sin embargo, en ninguno de los aislamientos obtenidos en este estudio se demostró la presencia de carbapenemasas. Esto pudo deberse a que la aparición de *E. coli* productora de carbapenemasas aún es poco frecuente. Hay pocos informes de dicho microorganismo en Estados Unidos, Israel, Brasil, Francia y Perú (Lastra et al., 2010).

En este estudio se obtuvieron 14 aislamientos de *K. pneumoniae* con presencia de carbapenemasas (26%). Realmente no se puede determinar la prevalencia de estos productores de carbapenemasas, ya que en muchos países aún no han establecido protocolos para su detección. La prevalencia puede diferir sustancialmente dependiendo del país, encontrándose prevalencias estimadas en Francia entre el 3% y el 5% y en la India con más del 80%, en países de Latinoamérica no se encontraron datos de prevalencias estimadas, debido a que únicamente se han dado reportes aislados (Jean & Hsueh, 2011; Morejón, 2012).

Se encontró que 39 aislamientos (74%) representaron falsos positivos por parte de los aislamientos resistentes a ertapenem con probable presencia de carbapenemasas, dicha resistencia no fue confirmada para fines de este estudio, por lo que el aislamiento al presentar susceptibilidad a imipenem fue descartado para la determinación de presencia de

carbapenemasas y tomado como falso positivo para presencia de dichas enzimas (Pasteran, Méndez, Guerriero, Guerriero, Rapaportand & Corso, 2009).

Se considera que la búsqueda e identificación de estas enzimas debe realizarse en aislamientos de cualquier enterobacteria que presente ligera disminución en la susceptibilidad a cualquier carbapenem según un estudio realizado en el Hospital de la Universidad de Pensilvania (Shannon, McGettigan, Kathleen, Andreatchio & Edelstein, 2009).

Se detectaron 13 aislamientos (93%) con presencia de carbapenemasas tipo MBL y solamente se encontró un aislamiento (7%) con actividad tipo KPC (Cuadro 1 y Anexo 6). Con esto se deduce que en el Hospital General San Juan de Dios predomina la producción de carbapenemasas tipo MBL. Con respecto a otras investigaciones realizadas en Guatemala, en el área de Bacteriología de la Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del LNS se encontraron dos aislamientos con producción de enzimas tipo MBL de enterobacterias referidas por los laboratorios de la red nacional (Centro Nacional de Enlace en Guatemala, 2011).

En otros países hay productores de carbapenemasas de diferentes tipos, por ejemplo en Grecia hay mayor producción de tipo VIM y KPC, en el Sub continente Indio se han encontrado carbapenemasas tipo MBL, KPC y OXA-181, en Estados Unidos KPC, Francia, Alemania, España y Turquía OXA-48 (Gupta, Limbago, Patel, & Kallen, 2011).

La mayor cantidad de aislamientos con presencia de carbapenemasas tipo MBL se presentó como infecciones del tracto urinario seguidamente de secreciones y aspirados traqueales (Cuadro 2). Este resultado concuerda con estudios realizados en 13 hospitales de Medellín y su área Metropolitana durante los años 2007-2008, que demuestran que *K. pneumoniae* portadora de carbapenemasas se aisló en un alto porcentaje de infecciones del tracto urinario así como en bacteremias y en infecciones del tracto respiratorio donde se ha observado que las causas de infecciones intrahospitalarias por enterobacterias eran

ocasionadas principalmente por *K. pneumoniae* (Grupo para el Estudio de la Resistencia a Antibióticos en Medellín, 2009).

Se obtuvieron 13 aislamientos (93%) con presencia de carbapenemasas tipo MBL, siendo alto este número debido a que las infecciones urinarias son uno de los tipos más frecuentes de infección y su presentación varía desde la bacteriuria asintomática hasta el shock séptico de la pielonefritis. Este tipo de infecciones está muy relacionado con la utilización de dispositivos urinarios, fundamentalmente el sondaje vesical (Gupta et al., 2011).

En las muestras de secreciones varias se encontraron 3 aislamientos con carbapenemasas MBL (23%) debido a que en este tipo de muestra se agrupan todo tipo de secreciones obtenidas de distintas partes del cuerpo, lo cual lamentablemente no permite diferenciar una muestra en especial. En general pueden ser causa de infecciones de localización quirúrgica (superficiales o profundas), infecciones intrabdominales (habitualmente en el contexto de una infección de localización quirúrgica) así como infecciones de catéteres u otros dispositivos endovasculares (Gupta et al., 2011).

Las infecciones respiratorias presentaron 2 aislamientos positivos con carbapenemasas MBL (15%), dichas infecciones son uno de los tipos más relevantes por su frecuencia y gravedad, fundamentalmente cuando se expresa como neumonía asociada a ventilación mecánica en las Unidades de Cuidados Intensivos, situación que se asocia a una alta tasa de mortalidad (Gupta et al., 2011).

El conocer el origen de la muestra que posee mayor cantidad de enterobacterias con presencia de carbapenemasas tipo MBL en el Hospital San Juan de Dios, permite saber qué tipo de infecciones deben ser tratadas cuidadosamente para evitar la inducción de este mecanismo. Se debe llevar un monitoreo constante del tratamiento de estos pacientes, para evitar posibles brotes.

Se encontraron 4 aislamientos de *K. pneumoniae* con carbapenemasas tipo MBL en la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (31%), seguidamente la unidad de Emergencia de Adultos presentó 3 aislamientos (23%) y Medicina de Hombres 2 aislamientos (15%) (Cuadro 3). Estos resultados concuerdan con estudios realizados en el Hospital P. Piñero de Buenos Aires Argentina donde encontraron que *K. pneumoniae* portadoras de carbapenemasas se encontraban en mayor proporción en pacientes de las unidades de cuidados intensivos lugar en donde se tiene el riesgo de desarrollar infección nosocomial de 5 a 10 veces más que en otras áreas, además el 20% del total de las infecciones intrahospitalarias ocurren en este tipo de unidades, que sólo representan el 8% de las camas hospitalarias (Amalfa et al., 2010).

Lo anterior se debe a que los pacientes atendidos en estas salas se encuentran inmunocomprometidos, cateterizados, con ventilación mecánica, con pérdida de la conciencia y sometidos a tratamientos con una variedad de antibióticos. Todos estos factores colocan a estos pacientes en un alto riesgo de contraer este tipo infecciones. Con respecto a los aislamientos positivos obtenidos de la sala de emergencia, podría decirse que son aislamientos que provienen de la comunidad ya que son pacientes que en efecto no han sido ingresados como pacientes internos, sin embargo no se tiene conocimiento si los pacientes han sido expuestos a internación previa o terapias antimicrobianas agresivas.

La resistencia a carbapenémicos en aislamientos de pacientes ambulatorios, como en el caso de la Unidad de Medicina de Hombres, si bien es baja debido a que presentó 2 aislamientos (15%), es preocupante ya que las opciones terapéuticas están mucho más limitadas, sobre todo en lo que se refiere a las vías de administración de los antibióticos de última línea, además de no tener conocimiento de si estos pacientes estuvieron en algún momento en terapia intensiva (Amalfa et al., 2010).

Otro factor que favorece la propagación de este microorganismo en estas unidades, es que *K. pneumoniae* es una enterobacteria que coloniza el tracto digestivo, especialmente el recto y de allí se transfiere a la piel, formando parte de estos pacientes que son manipulados constantemente por el personal de salud y si estos no siguen buenas prácticas

de higiene, facilitan la diseminación de este microorganismo de un paciente a otro (Siegel, Rhinehart, Jackson & Chiarello, 2007).

Al observar el perfil de resistencia que presenta el aislamiento con carbapenemasa tipo KPC (Cuadro 4), se aprecia multirresistencia y presenta susceptibilidad únicamente al más amplio de los aminoglucósidos, amikacina. Este tipo de carbapenemasas, pertenece a la variedad de Serinocarbapenemasas clase A, que hidrolizan carbapenémicos y son parcialmente inhibidos por el ácido clavulónico. El nivel de resistencia de los productores de KPC puede variar notablemente, son generalmente resistentes a múltiples fármacos (especialmente a todos los betalactámicos) y las opciones terapéuticas para el tratamiento de infecciones relacionadas a KPC son limitadas (Forero, 1998).

Los genes de KPC se encuentran normalmente en elementos genéticos móviles, especialmente un transposón conocido como Tn4401, que facilita la transferencia entre plásmidos y a través de distintas especies bacterianas, se han encontrado asociados genes que codifican para otras betalactamasas (por ejemplo, BLEEs, BLEAs) y también genes que confieren resistencia a los antibióticos no betalactámicos como **qnr** (resistencia plasmídica a quinolonas) y a enzimas modificantes de aminoglucósidos. Esta formidable acumulación de genes de resistencia produce habitualmente un fenotipo de resistencia extrema asociado a cepas productoras de KPC, como lo observado en este estudio (Pasteran et al.,2009).

En el perfil de resistencia que presentan los aislamientos de *K. pneumoniae* con carbapenemasas de tipo MBL se aprecia multirresistencia, donde se observa que presentan un 100% de resistencia a todas las cefalosporinas. También presentaron más del 61% de resistencia a los aminoglucósidos gentamicina y tobramicina. Sin embargo, para todos los aislamientos amikacina fue susceptible, representando el menor porcentaje de resistencia con el 0%; Dichos aislamientos presentaron más del 75% de resistencia a otros betalactámicos como aztreonam e inhibidores betalactámicos; de las quinolonas solamente para ciprofloxacina se presentó un alto porcentaje; también presentó un 100% de resistencia a sulfonamidas como trimetoprim sulfametoxazol; se mostró un 71% para nitrofurantoína y

tetraciclina solamente un 43%; para los carbapenemes, ertapenem presentaron el mayor porcentaje de resistencia con 100% aunque imipenem también tuvo un alto porcentaje (77%) (Cuadro 5).

Esta multiresistencia observada, se debe a que las metalobetalactamasas son en su mayoría del tipo integron Verona, codificante para metalobetalactamasas del tipo VIM, IMP y actualmente NDM-1. Estas enzimas hidrolizan todos los betalactámicos excepto aztreonam. Su actividad se inhibe por EDTA, pero no por ácido clavulónico y son resistentes a múltiples fármacos. El nivel de resistencia de los productores de NDM-1 a los carbapenemicos pueden variar, ya que plásmidos que contengan el gen *bla_{NDM-1}* son diversos y pueden albergar un gran número de genes de resistencia asociados con otros genes de carbapenemasas (de tipo Oxa-48 y VIM), genes para cefalosporinas mediados por plásmidos, genes BLEE, genes de resistencia a aminoglucósidos, genes de resistencia a macrólidos, rifampicina y a la resistencia a genes sulfametoxazol como fuente de resistencia a múltiples fármacos (Nordman, Poirel, Toleman & Walsh, 2011).

Como se mencionó anteriormente las metalobetalactamasas no hidrolizan el aztreonam, lo cual difiere con el resultado obtenido en este estudio debido a que mostró un 100% de resistencia, este resultado puede ser consecuencia otro mecanismo de resistencia asociado, como BLEE o AmpC (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011).

La detección de productores de carbapenemasas en infecciones clínicas se basa en el resultado de pruebas de sensibilidad obtenidas por difusión de disco o sistemas automatizados y otras pruebas específicas se pueden utilizar para la identificación fenotípica de las carbapenemasas. El método de doble disco sinérgico utilizado en este estudio ha sido reportado como un método fenotípico simple de realizar, barato y altamente sensible, además de poseer una buena especificidad. Es por ello que esta metodología podría implementarse fácilmente en laboratorios clínicos e introducirse en la rutina de los mismos (Pasteran et al., 2010).

Además de determinar la presencia de carbapenemasas y su identificación fenotípica, el presente trabajo tuvo como propósito servir de precedente para futuras investigaciones, lo que es crucial para el tratamiento óptimo de pacientes con este tipo de infecciones, así como para el control de la diseminación de esta clase de resistencia a antimicrobianos. Por lo tanto, los laboratorios microbiológicos deben ponerse en alerta y detectar estos microorganismos, ya que su pronta detección es crítica para prevenir la diseminación de este mecanismo de resistencia tan preocupante.

X. CONCLUSIONES

1. Se encontraron 14 aislamientos (23%) con presencia de carbapenemasas en *K. pneumoniae* en el Hospital General San Juan de Dios.
2. Únicamente *Klebsiella pneumoniae* mostró presencia de carbapenemasas; los aislamientos de *Escherichia coli* representaron falsos positivos.
3. Se demostró que el tipo de carbapenemasas que predomina en los aislamientos de *K. pneumoniae* en el Hospital General San Juan de Dios durante el año 2011 es del tipo MBL con 13 aislamientos (93%) de MBL y uno de KPC (7%).
4. Las muestras predominantes con presencia de carbapenemasas tipo MBL fueron las muestras de orina con 5 aislamientos (38%), secreciones varias con 3 (23%), aspirados traqueales con 2 (15%), 1 de catéter (8%), 1 herida operatoria (8%) y 1 de hemocultivo (8%).
5. Se encontraron 4 aislamientos (31%) con presencia de carbapenemasas de tipo MBL en la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos, 3 (23%) en Emergencia y 2 (15%) en la Unidad de Medicina de Hombres, 1 de la Unidad de Cuidados intensivos de Pediatría (8%), 1 a la Unidad de Medicina de Mujeres (8%), 1 de la Unidad de Cuidados Coronarios (8%) y 1 de la Unidad de Cuidados Progresivos (8%).
6. El único aislamiento de *K. pneumoniae* con carbapenemasa tipo KPC obtenida, provenía de una muestra de urocultivo de la sala de Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría.
7. Los aislamientos con carbapenemasas de tipo MBL presentan multirresistencia especialmente a cefalosporinas y otros betalactámicos, quedando como opción terapéutica amikacina, levofloxacina, gatifloxacina y tetraciclina, que fueron antibióticos con menor porcentaje de resistencia.
8. El perfil de resistencia del aislamiento de *K. pneumoniae* con carbapenemasa tipo KPC presenta susceptibilidad únicamente al más amplio de los aminoglucósidos, Amikacina.

XI. RECOMENDACIONES

1. Implementar en el laboratorio clínico del Hospital General San Juan de Dios la detección fenotípica de carbapenemasas en enterobacterias para utilizarla como una herramienta que ayude controlar la multirresistencia a antibióticos.
2. Realizar más estudios para detección fenotípica de la producción de carbapenemasas en enterobacterias en todos los hospitales del país para prevenir posibles brotes y evitar la diseminación de este mecanismo de resistencia.
3. Es fundamental la confirmación fenotípica de carbapenemasas tipo KPC y MBL realizando el método de sinergia con doble disco, la cual es una técnica sencilla que evidencia una muy buena correlación con los métodos moleculares.
4. Implementar un programa para instruir al personal de salud acerca de la importancia que representa esta problemática para prevenir la propagación de este mecanismo de resistencia que está representando una alta tasa de mortalidad en otros países.
5. Monitorear el historial clínico del paciente con aislamiento positivo de enterobacterias con presencia de carbapenemasas para tener mejor control epidemiológico de los casos reportados.
6. Realizar un estudio más prolongado para obtener un mayor número de muestras y de esta manera determinar si realmente aún no hay cepas de *E. coli* productoras de carbapenemasas en Guatemala.

XII. REFERENCIAS

- Amalfa, F., Lucero, C., Manzoni, G., Pasterán, F., Erschen, A., Angeleri, P., López, G. & Ballester, D. (2010). Emergencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de Kpc-carbapenemasa en un hospital de agudos. Hospital General de Agudos “Parmenio Piñero” Servicios Antimicrobianos. INEI- ANLIS “Dr. C. Malbrán”.
- Andrade, V. (2005). Emergencia de la resistencia a carbapenemes en *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalo- β -lactamasa. *Asociación mexicana de bioquímica clínica*, 30, 53-58.
- Blanch, H.W., Drew, S., & Wang, D.C. (1985). The practice of Biotechnology: Current Commodity Products. *Comprehensive Biotechnology*, vol. 3. Pergamon Press, 3, 112-120.
- Bradford, P., Urban, C., Mariano, N., Projan, S., Rahal, J., & Bush, K. (1997). Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41, 563-569.
- Bratu, S., Landman, D., Haag, R., Recco, R., Eramo, A., Alam, M. & Quale, J. (2005). Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Archives of Internal Medicine*, 165, 1430-1435.
- Bush, K. & Jacoby, G.A. (2010). Updated Functional Classification of β lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, 969-976.
- Cabelli, V.J., Dufour, A.P., Mc Cabe, L.J. & Levin, M.A. (1982). Swimming Associated Gastroenteritis and Water Quality. *American Journal of Epidemiology*, 115, 606-616.
- Centro Nacional de Enlace en Guatemala. (2011). *Alerta epidemiológica por el aislamiento de cepas de Klebsiella pneumoniae multiresistente por carbapenemasa tipo Nueva Delhi Metallo-betalactamasa (NDM) en el país*. Guatemala: Autor.
- Chirinos, J. (2002). Los mecanismos de la resistencia microbiana. *Revista Médica del C.I.E.M Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Santa María y de San Agustín, Arequipa*, 45, 856-860.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2011). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. (M-100-S20). Atlanta: Autor.
- D'Alincourt Carvalho-Assef A.P., Leão, R.S., da Silva, R.V., Ferreira, A.G., Seki, L.M., Asensi, M.D., *et al.* (2010). *Escherichia coli* productora de KPC-2 carbapenemasas: primer informe en Brasil. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 68, 337-338
- De la Lastra, V., Ulloa, M., Pinto, M., Vidal, M., Silva, F. (2010). Serinocarbapenemasas de clase A en enterobacterias. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile*, 21, 232-237
- Famiglietti, J. (2005). Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. *Revista Argentina de Microbiología*, 37, 57-66.
- Felipe, E. (2006). Determinación de metaloenzimas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes del Hospital General San Juan de Dios. Guatemala, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Forero, J. (1998). Betalactamasas de espectro extendido en pediatría. Bucaramanga, Colombia. *Unidad de Cuidado intensivo Pediátrico y neonatal*, 24, 133-138.
- Franklin, C., Liolios, L., & Peleg, A. (2006). Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-beta-lactamase producing Gram negative bacilli in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 3139-3144.
- Gómez-Lus R, Gil J, Castillo J, & Rubio MC. (1992). Impacto de los inhibidores de beta-lactamasas en la susceptibilidad antibiótica de los patógenos más frecuentes: Betalactamasas su importancia para el clínico. Madrid: Smith Kline & French.
- Grupo para el Estudio de la Resistencia a Antibióticos en Medellín (GERMEN). Perfiles de sensibilidad de *Klebsiella pneumoniae*. (2009). Perfiles de sensibilidad de *Klebsiella pneumoniae*. Datos obtenidos en los años 2007 y 2008 de 13 instituciones hospitalarias del Área Metropolitana del valle de Aburrá. Medellín: Autor.
- Gums, J., Yancey, R., Hamilton, C.A. & Kubilis, P.S. (1999). A randomized, prospective study measuring outcomes after antibiotic therapy intervention by a multidisciplinary consult team. *Pharmacotherapy*, 19, 1369-1377.

- Gupta N, Limbago B., Patel J., & Kallen A. (2011). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clinical Infectious Diseases: Oxford Journals*, 53(1), 60-67.
- Jean, S.S., & Hsueh, P.R., (2011). High burden of antimicrobial resistance in Asia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37,291-295.
- Levinson, E., & Jawetz, E. (1992). *Medical Microbiology and Immunology*. (2^aed). Inglaterra: Prentice Hall.
- Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. (2006). *Biología de los microorganismos* (10^a ed). Madrid: Pearson Educación S.A.
- Martínez, L., & Pascual, A. (2002). *Mecanismos de resistencia a las carbapenemes en Pseudomonas aeruginosa* (2^a ed). España: Pearson Educación S.A.
- Morejón, M., (2012). Carbapenemasas, una amenaza actual. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, 11(4) 2613-2618
- Miró, E., Alonso, C., Navarro, F., & Mirelis, B. (1995). Resistencia al imipenem en *Enterobacter aerogenes*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 13, 278-282.
- Nordmann, P., Poirel, L. (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clinical Microbiology Infection*, 8, 321-331.
- Nordmann, P., Poirel, L., Toleman, M., & Walsh, T. (2011). La Resistencia de betalactamicos de amplio espectro debido a la NDM-1 anuncia el fin de la era de los antibióticos para el tratamiento de las infecciones por bacterias Gram negativas. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy: Oxford Journals*, 66, 689-692
- Pasteran, F., Méndez, T., Guerriero, L., Rapaportand, M., & Corso, A. (2009). Sensitive Screening Tests for Suspected Class A Carbapenemase Production in Species of Enterobacteriaceae. *Journal Clinical Microbiology*, 47(6), 1631-1639
- Pasteran, F., Mendez, T., Rapaportand, M., Guerriero, L., & Corso, A. (2010). Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class a carbapenemase in species of enterobacteriaceae by incorporating boronic acid. *Journal Clinic Microbiology*, 48, 1323-1332.
- Pinto, M. (2002). Resistencia antimicrobiana en Chile hoy. *Revista Chilena de Infectologia*, 19, 213-218.

- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* sp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinic Microbiology Review*, 11(4), 589-603.
- Poole, K. (2004). Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Molecular Life Scientific*, 61, 2200-2223.
- Puerta, A., & Mateos, F. (2010). Enterobacterias de Enfermedades Infecciosas: Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.
- Sachie, Y. (2003). Presence of *P. putida* strains harboring plasmids bearing the metallo β -lactamase gene *bla_{IMP}* in a Hospital in Japan. *Japan Clinic Microbiology*, 41, 1536-1538.
- Sader, H. (2005). Antimicrobial Surveillance Program Report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. *Brazil Infection Disease*, 8, 25-79.
- Salso, S. (2000). Mecanismo de acción de los antimicrobianos. *Revista Española Quimioterapia*, 40, 328-333.
- Sato, K., & Nakae, T. (1991). Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 28, 35-45.
- Siegel, J. D., Rhinehart, E., Jackson, M., Chiarello, L. (2007). *Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings*. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Atlanta: Autor
- Shannon, E. McGettigan, Kathleen, A. & Paul H., (2009). Specificity of Ertapenem Susceptibility Screening for Detection of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(3), 785-786.
- Suárez, C., Kattán J., Guzmán, A. & Villegas, M. (2006). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infections*, 10, 85-93.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 1. Clasificación de las Betalactamasas

| Clase Molecular | Bush-Jacoby-Medeiros (2009) | Substrato | Inhibido por AC ó TZ | Inhibido por EDTA |
|-----------------------------|-----------------------------|--|----------------------|-------------------|
| A (serina penicilinasas) | 2a | Penicilina | Si | No |
| | 2b | Penicilina y cefalosporinas de corto espectro | Si | No |
| | 2be | Penicilina y cefalosporinas de espectro corto y espectro extendido | Si | No |
| | 2br | Penicilina | No | No |
| | 2ber | Penicilina cefalosporinas de espectro extendido, monobactam | No | No |
| | 2c | Carbecilina | Si | No |
| | 2ce | Carbecilina, cefepime | Si | No |
| | 2e | Cefalosporinas de espectro extendido | Si | No |
| B (metalobetalactamasas) | 2f | Carbapenemes | Variable | No |
| | 3a | Carbapenemes | No | Si |
| C (cefalosporinasas) | 3b | Carbapenemes | No | Si |
| | 1 | Cefalosporinas | No | No |
| C (cefalosporinasas) | 1e | Cefalosporinas | No | No |
| D (oxacilinasas) | 2d | Cicloxacilina | Variable | No |
| | 2de | Cefalosporinas de espectro extendido | Variable | No |
| | 2df | carbapenemes | Variable | No |
| No clasificadas | 4 | | | |

AC: ácido clavulónico, TZ: tazobactam.

Fuente: Bush, K. & Jacoby, G.A. (2010). Updated Functional Classification of B lactamasas. *Antimicrob agents and chemotherapy*, 54, 969-976.

ANEXO 2

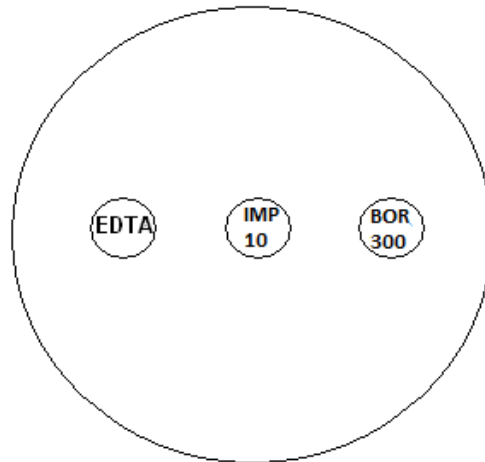
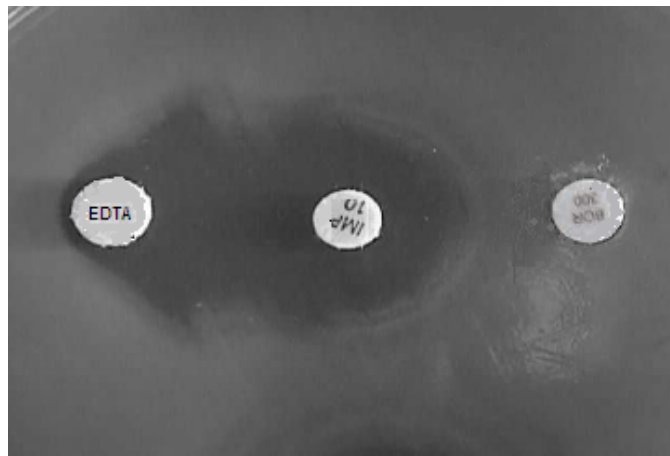


Figura 1. Colocación de taxos para detección de carbapenemasas tipo MBL y KPC.

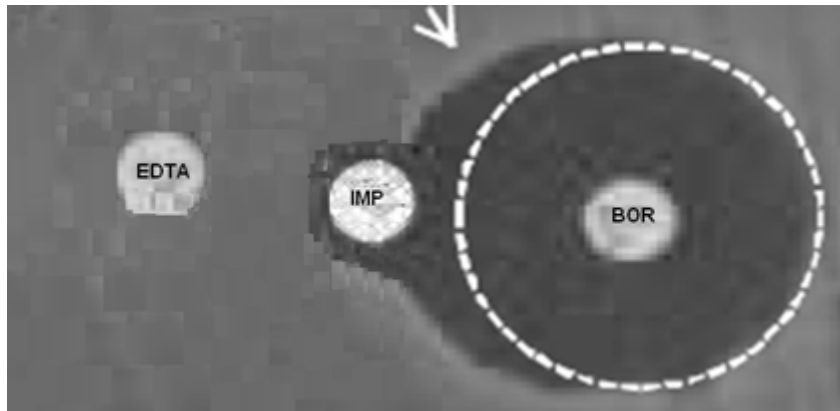
Imp: taxos de Imipenem 10 μg , EDTA: taxos de papel filtro con 0.5 μL de EDTA, APB: taxos de ácido 3'aminofenil-borónico 300 μg .



Fuente: (Famiglietti, J. (2005). Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. *Revista Argentina de Microbiología*, 37, 57-66.)

Fotografía 1. Producción de carbapenemasa tipo Metalobetalactamasa.

EDTA: taxos de EDTA, IMP: Imipenem, BOR: ácido 3'aminofenil-borónico 300 μg .



Fuente: Pasteran, F., Mendez, T., Rapaportand, M., Guerriero, L., & Corso, A. (2010). Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class a carbapenemase in species of enterobacteriaceae by incorporating boronic acid. *Journal Clinic Microbiology*, 48, 1323-1332.

Fotografía 2. Producción de carbapenemasas tipo KPC.

EDTA: taxos de EDTA, IMP: Imipenem, APB: ácido 3'aminofenil-borónico 300 µg.

ANEXO 3

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL 

OFICIO CIRCULAR No. 18-2011

A: DIRECTORES Y EPIDEMIOLOGOS DE ÁREA DE SALUD Y HOSPITALES

De: Dr. Francisco Javier Ardón Palencia
Director
Centro Nacional de Epidemiología



cc. Dr. Francisco Theissen, Coordinador General de Hospitales
dd. Dra. Xiomara Castañeda, Directora del SIAS

FECHA: Guatemala, 17 de noviembre de 2011

ASUNTO: ALERTA EPIDEMIOLOGICA por aislamiento de cepas de Klebsiella pneumoniae multiresistente por carbapenemasa tipo Nueva Delhi Metallo-betalactamasa (NDM) en el País.

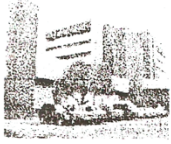
-
- El Laboratorio Nacional de Salud (LNS) informa del aislamiento de dos cepas de *K. pneumoniae* multiresistente por carbapenemasa tipo Nueva Delhi Metallo-betalactamasa (NDM) en muestras enviadas por Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación (HIIR) y por Hospital General San Juan de Dios (HGSJD).
 - Dicho hallazgo es un evento inusitado ya que hasta la fecha no se ha publicado la existencia de este mecanismo de resistencia en Latinoamérica.
 - Por las repercusiones de salud pública que tiene dicho hallazgo en nuestro país,

El Centro Nacional de Epidemiología (CNE) recomienda:

- Notificación inmediata de brotes y epidemias de infecciones adquiridas en el hospital
- Fortalecer las actividades de vigilancia epidemiológica de infecciones adquiridas en los hospitales.
- Actualización del perfil bacteriológico y de susceptibilidad antimicrobiana de cepas aisladas en hospitales.
- Socialización de sala situacional de infecciones adquiridas en el hospital al interior de cada nosocomio y con el área de salud.
- Socializar las medidas de prevención y control que incluyen buenas prácticas clínicas.
- Cumplir las indicaciones del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) en cuanto a la referencia al mismo de las cepas aisladas en los Servicios de Salud.
- Fortalecer las medidas de control de infecciones en los servicios de salud.

6ª. Avenida 3-45 zona 11. Anexo 3er Nivel
Telefax: (502) 2471 5680
<http://epidemiologia.mspas.gob.gt>





HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS
Unidad de Epidemiología
1ª. Avenida 10-50, Zona 1
Teléfono: 2321-9191 Ext. 7009

CIRCULAR No. 10/2011

A: Jefes de Departamentos:

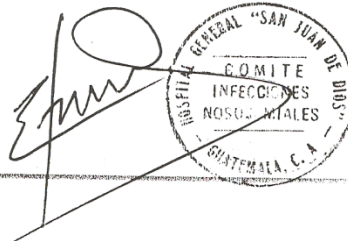
- Medicina Interna
- Intensivo de Adultos
- Pediatría
- Emergencia de Adultos
- Ginecobstetricia
- Traumatología y Ortopedia
- Cirugía
- Departamento de Nefrología y trasplante renal.
- Neurocirugía
- Jefatura de Laboratorio de Microbiología
- Dirección Ejecutiva
- Sub-dirección Medica
- Sub-dirección Técnica
- Comité de farmacoterapia

DE: Comité central de prevención y control de infección nosocomial
Departamento de Epidemiología, HGSJD.

Fecha: 18/11/2011

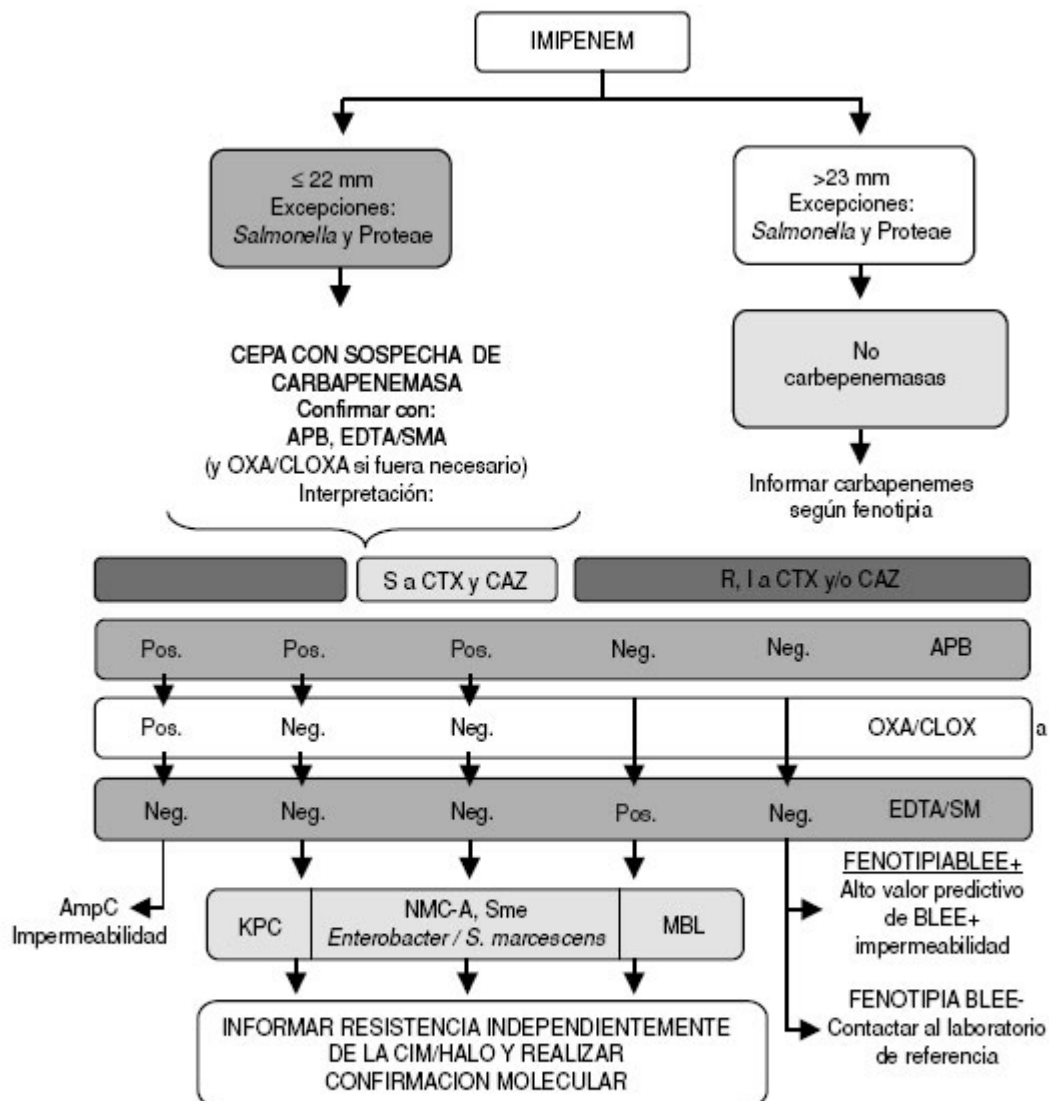
ASUNTO: **ALERTA EPIDEMIOLOGICA** POR AISLAMIENTO DE CEPAS DE *K. pneumoniae* multiresistente por carbapenemasas tipo Nueva Delhi, Metalobetalactamasas (NDM) en el país.

Estimados colegas como parte del proceso de vigilancia Epidemiologica y microbiológica en coordinación con el laboratorio de microbiología de esta institución, el Laboratorio Nacional de Salud y el Instituto Malbran de Argentina, se ha documentado la presencia en nuestra institución de *K.pneumoniae* con las características de resistencia indicadas, por lo que se hace necesario atender las recomendaciones indicadas en el anexo según oficio circular No. 18-2011 del Centro Nacional de Epidemiología.



ANEXO 4

FIGURA 2. Esquema actualizado propuesto para la búsqueda de carbapenemasa grupo A y MBL en enterobacterias



Esquema basado en los referencias 8 y 9.

APB: ácido 3 aminofenilborónico; EDTA: ácido etilendiaminotetraacético; SMA: mercaptoacetato de sodio; OXA: oxacilina; CLOXA: cloxacilina; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftacídima; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa; MBL: metalobetalactamasas; BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

^a Método de Hodge "doble modificado" para detectar carbapenemasas en aislamientos productores de AMP-C (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia* spp., *Providencia* spp. y *Morganella* spp).

Fuente: Pasteran, F., Mendez, T., Rapaportand, M., Guerriero, L., & Corso, A. (2010). Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class a carbapenemase in species of enterobacteriaceae by incorporating boronic acid. *Journal Clinic Microbiology*, 48, 1323-1332.

ANEXO 5

Preparación de estándar de McFarland 0.5

- Seleccionar 5 colonias bien aisladas de igual morfología de la placa de cultivo. Preparar una suspensión en 5mL de caldo tripticasa soya tocando la parte superior de cada colonia.
- Ajustar la turbidez del inóculo con caldo hasta 0.5 de la escala de McFarland, por comparación visual con el estándar (proporcionado por el Departamento de Microbiología en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala). Para ello, los tubos se compararon contra un fondo blanco con una línea negra como contraste.

ANEXO 6



Fuente: datos experimentales

Fotografía 3.: Fotografía del resultado positivo de *K. pneumoniae* con producción de carbapenemasas de tipo KPC.

BOR: ácido 3'aminofenil-borónico 300 µg, IMP: Imipenem, EDTA: taxos de EDTA



Fuente: Datos experimentales

Fotografía 4: Fotografía de uno de los resultados positivos de *K. pneumoniae* con producción de carbapenemasas de tipo MBL.

BOR: ácido 3'aminofenil-borónico 300 µg, IMP: Imipenem, EDTA: taxos de EDTA

Br. Mayra Garrido
Autora

Lic. Martín Gil
Asesor

Dr. Luis González Patzán
Asesor

Lic. Carlos Pérez de León
Asesor

Licda. Keila Guerrero
Revisora

Dra. Karin Herrera
Revisora

M.A. María Eugenia Paredes
Directora

Dr. Oscar Cobar Pinto
Decano