

Reportes de Casos

Coproducción de carbapenemasas: reto “in vitro” para los laboratorios de microbiología, desafío “in vivo” para galenos

Co-production of carbapenemases: “in vitro” challenge for microbiology laboratories, “in vivo” challenge for physicians

Acceso abierto

Citación

Linares-Flores C., Martínez-Freres G., Torres-Ponce A., et al. Coproducción de carbapenemasas: reto “in vitro” para los laboratorios de microbiología, desafío “in vivo” para galenos. **INSPILIP. 2023; Vol.7, Núm. 21**

Revista científica INSPILIP. Volumen 7, número 21, enero - abril de 2023.

El autor declara estar libre de cualquier asociación personal o comercial que pueda suponer un conflicto de intereses en conexión con el artículo, así como el haber respetado los principios éticos de investigación, como por ejemplo haber solicitado las autorizaciones de la institución donde se realizó el estudio, permiso para utilizar los datos, consentimientos informados y en caso de tratarse de estudio observacionales y ensayos clínicos, autorización de un CEISH, ARCSA, Medio Ambiente, entre otros, de acuerdo a la categoría. Además, la licencia para publicar imágenes de la o las personas que aparecen en el manuscrito. Por ello INSPILIP no se responsabiliza por cualquier afectación a terceros, tampoco el INSPI como entidad editora, ni el Editor, la responsabilidad de la publicación es de absoluta responsabilidad de los autores.

Patricio Vega Luzuriaga
EDITOR EN JEFE

-  Linares Flores Crilexis ^{a,b}, crilexis.linares@gmail.com
-  Martínez Freres Geomara ^a, lic.geo.martinez@gmail.com
-  Torres Ponce Aura ^a, torresponce@hotmail.com
-  Alcívar Murillo Sandra ^a, gailealcivar1@hotmail.com
-  Bravo Espinoza Rosa ^a, rosabravo10@gmail.com
-  Yépez Anchundia Shirley ^a, drashiryea@gmail.com

- a. Hospital de Infectología Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña, Guayaquil, Ecuador.
- b. Sociedad de Infectología del Guayas, Guayaquil - Ecuador.

Correspondencia: Crilexis Linares Flores **Email:** crilexis.linares@gmail.com

Identificación de la responsabilidad y contribución de los autores: Los autores declaran haber contribuido en idea original (todos los autores), parte metodológica (CL, GM, AT), redacción del borrador (CL, GM) y redacción del artículo (todos los autores).

Fecha de Ingreso: 04/07/2022 **Fecha de Aprobación:** 16/11/2022

Fecha de Publicación: 05/02/2023

Resumen

En Ecuador los primeros casos de resistencia a los carbapenémico por enterobacterias GRAM negativas datan del año 2010, el primer reporte fue un paciente de 24 años sometido a cirugía en un hospital de la provincia del Cañar, en donde se aisló una *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas tipo KPC. Actualmente la coproducción de carbapenemasas se ha descrito en América desde el año 2017 en Uruguay, 2020 en Argentina, y en el año 2021 en Guatemala, Paraguay y Ecuador. En este artículo se reportan 3 casos de pacientes con determinación de enterobacterias con producción de dos tipos de carbapenemasas en un hospital especializado en Infectología del Ecuador.

Palabras clave: PDR, RAM, Coproducción, Carbapenemasas, Resistencia bacteriana, EPC

Abstract

In Ecuador the first cases of resistance to carbapenem by GRAM-negative enterobacteria date from 2010, the first report was a 24-year-old patient undergoing surgery in a hospital in the province of Cañar, where a *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemases type KPC was isolated. Currently the co-production of carbapenemases has been described in America since 2017 in Uruguay, 2020 in Argentina, and in 2021 in Guatemala, Paraguay and Ecuador. This article reports 3 cases of patients with determination of enterobacteria with production of two types of carbapenemases in a hospital specialized in Infectology in Ecuador.

Keywords: PDR, RAM, co-production carbapenemases, bacterial resistance..

Introducción

La resistencia antimicrobiana (RAM) representa un problema de salud pública (1). Más de setecientos mil muertes anuales se presentan en el mundo debido a infecciones por bacterias resistentes a los antimicrobianos, lo que se ha convertido en un problema de salud pública mundial, que podría ocasionar diez millones de muertes en los próximos 25 años y dejar pérdidas económicas que superarían los cien billones de dólares para 2050 (2). Para enfrentar esta realidad, detener la progresión y mitigar el impacto de la RAM, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) trabajan de forma unificada y coordinada, en una alianza tripartita a la que se sumó la Unión Europea (UE), que ejecuta un plan con diversas acciones para combatir la RAM, fomentar la investigación, el desarrollo y la innovación y convertirse en un modelo en materia de buenas prácticas con la visión de “una sola salud” (2).

La OPS realiza la vigilancia a microorganismos de importancia epidemiológica a través de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), red que en Ecuador por medio del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos (CRN-RAM) se encarga de realizar una evaluación periódica de RAM, del desempeño de los laboratorios de los hospitales del país y recopilar

la información para contribuir a la detección oportuna de mecanismos de resistencia emergentes y reemergentes, y así evitar la propagación de los mismos.

Reportes de casos

Caso 1: Paciente masculino de 55 años de edad, con diagnóstico de infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), quien cursó primera hospitalización en octubre 2020 por cuadro séptico por gangrena de Fournier, por lo que permaneció en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), donde intercurrió con colecistitis aguda, hemorragia digestiva alta, y neumonía intrahospitalaria (NIH) por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a piperacilina/tazobactam e intermedia a ceftazidima, recibió meropenem dosis: 1gr.cada 8 horas por 14 días. Se derivó a un hospital con servicio de cirugía plástica en diciembre 2020. Reingresó en enero 2021 se asoció sarcoma de Kaposi en lengua, esófago, estómago y duodeno, se realizó una serie de hemocultivos que determinaron *Escherichia coli* productora de carbapenemasa tipo KPC y OXA-48. Por lo que se indicó meropenem 2gr. cada 8 horas, amikacina 1gr. cada día y colistina 300mg 1ra dosis luego 100mg cada 12 horas, paciente quien evolucionó tórpidamente a pesar de tratamiento indicado, falleció en febrero de 2021.

Caso 2: Paciente masculino de 57 años de edad, con antecedente de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) por hábitos tabáquicos (60 cigarrillos/día por 35 años) e hipertensión arterial, con múltiples ingresos hospitalarios por episodios de broncoespasmo, quien ingresó en marzo de 2021, por EPOC más sobreinfección bacteriana a UCI, recibió piperacilina/tazobactam 4,5 gr. cada 6 horas, se realizó cultivo de aspirado traqueal que reportó: *Achromobacter dentrificans* multisensible. Intercurrió con infección del torrente sanguíneo por catéter venoso central (ITS/CVC), germen identificado *Escherichia coli* productora de carbapenemasa tipo KPC y OXA, se modificó antibioticoterapia a meropenem 1gr. cada 8 horas en infusión prolongada, amikacina 1gr. cada día, colistina 300 mg IV 1ra dosis luego 150mg cada 12 horas, controles de hemocultivos posterior a finalización del esquema estériles. Se asoció accidente cerebrovascular isquémico por lo cual se prolongó hospitalización e intercurrió con

NIH por *Pseudomonas aeruginosa* multisensible más infección del tracto urinario asociado a catéter urinario permanente (ITU/CUP) por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC. Falleció en noviembre de 2021.

Caso 3: Paciente femenino de 25 años, sin antecedentes patológicos. Ingresó en septiembre de 2021 a UCI, por planteamiento diagnóstico de meningococcemia y vasculitis, recibió piperacilina/tazobactam 4,5gr. Cada 6 horas y vancomicina 1gr. cada 12 horas, se realizó biopsia de piel que reportó: vasculitis de pequeños vasos sanguíneos crónica severa; ecocardiograma trasesofágico mostró esclerosis valvular micro-aórtica. Presentó contacto con paciente colonizado por EPC y estancia prolongada en UCI (10 días), por lo que se indicó realización de hisopado rectal que reportó: *Enterobacter cloacae* complex productor de carbapenemasa tipo KPC y NDM, fue manejada como colonización. Por mejoría clínica paciente egresó en octubre 2021.

Metodología del laboratorio microbiológico:

Se determinó el agente causal bacteriano del proceso patológico infeccioso por medio de cultivo microbiológico, siendo el método diagnóstico de elección, y a partir de allí se estableció la susceptibilidad mediante exposición de una concentración estandarizada del germen a diversos fármacos y se realizó pruebas de diferenciación en los casos de cepas productoras de carbapenemasas de acuerdo a los algoritmos recomendados. Las pruebas fenotípicas aportan identificación bacteriana con relación costo-beneficio, reservándose los métodos genotípicos para microorganismos que no se pueden identificar con métodos convencionales.

a. Cultivos:

Los casos 1 y 2 (tabla 1) fueron recuperados a partir de un set (muestra) de hemocultivos mediante el sistema automatizado BacT/ALERT 3D (bioMérieux) se observó bacilos GRAM negativos y se subcultivó en agar MacConkey; el caso 3 (tabla 1) fue recuperado por método convencional mediante caja biPetri compuesta de agar cromogénico (mSuperCARBA) para

carbapenemasas y agar MacConkey reformulado con meropenem respectivamente, acorde al procedimiento operativo estándar institucional.

b. Pruebas de identificación y susceptibilidad antimicrobiana:

De los subcultivos de los casos 1 y 2 fueron identificados como *Escherichia coli* mediante el sistema automatizado Vitek 2-compact (bioMérieux), y el caso 3 como *Enterobacter cloacae* complex. Por medio del sistema automatizado Vitek 2-compact (bioMérieux) se evidenció la resistencia (resultados interpretados acorde con los criterios establecidos por el Clinical & Laboratory Standards Institute “CLSI”) a carbapenémicos (tabla 2) de los tres casos, se complementó con pruebas de captura y de diferenciación para confirmar la presencia de EPC (Enterobacteriales Productores de Carbapenemasas).

c. Prueba fenotípica de captura:

Método fenotípico confirmatorio de presencia de carbapenemasas, prueba basada en que los microorganismos productores de carbapenemasas degradan el meropenem impregnado en un disco y provocan su hidrólisis e inactivación, al sacar el disco y ser enfrentado con una cepa de susceptibilidad a carbapenémicos conocida (*Escherichia coli* ATCC 25922) no ocurrió la inhibición. En los tres casos se realizó el método de inactivación del carbapenémico (mCIM) acorde a los criterios establecidos por CLSI.

d. Prueba de diferenciación:

Se realizó prueba de diagnóstico rápido (PDR) o inmunocromatografía donde se distinguió el tipo de carbapenemasa presente en cada uno de los casos. Se utilizó los K-SeT quintuples NG-Test CARBA 5 (NG biotech, Guipry Francia) según las instrucciones del fabricante. El caso 1 y 2 resultaron positivos para *Escherichia coli* KPC y OXA-48 (figura 1). El caso 3 resultó positivo para KPC y NDM (tabla 1, figura 2).

Tabla 1: Consolidado de resultados de inmunocromatografía para determinación de carbapenemasa.

Caso	Tipo de muestra	Microorganismo	Método de Inactivación del carbapenémico	Carbapene masa de tipo 'VIM'	Carbapene masa de tipo 'KPC'	Carbapene masa de tipo 'OXA-48'	Carbapene masa de tipo 'IMP'	Carbapene masa de tipo 'NDM'
1	Hemocultivos (un set)	<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-
2	Hemocultivos (un set)	<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-
3	Hisopado rectal	Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	+	-	-	+

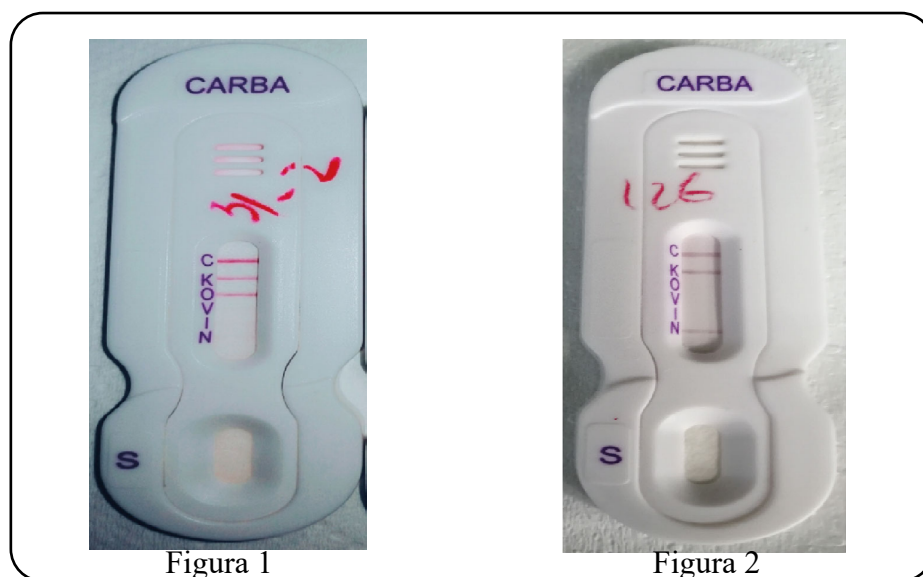


Figura 1: resultado positivo para carbapenemasas de tipo KPC y OXA-48 por medio de la PDR (Prueba de diagnóstico rápido) realizó al aislamiento de *Escherichia coli*. **Figura 2:** resultado positivo para carbapenemasas de tipo KPC y NDM por medio de la PDR realizó aislamiento de Complejo *Enterobacter cloacae*.

Discusión

Entre los patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS “prioridad crítica 1” se encuentran los Enterobacteriales resistentes a carbapenémicos y productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs) que son los microorganismos más frecuentemente aislados en unidades de cuidados intensivos en Latinoamérica (9). Las carbapenemasas tienen una distribución mundial, pero existe una gran variabilidad sustancial a nivel continental, nacional, regional, e incluso entre los distintos niveles de atención (10).

El hallazgo de cepas productoras de carbapenemasas

no antes descritas o de carbapenemasas dobles/múltiples debe ser considerado de alto riesgo epidemiológico, por el impacto en el sistema sanitario, riesgo de infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) y aumento de la morbimortalidad hospitalaria (8,11). Por ello, se requiere del máximo esfuerzo de todos los integrantes de los equipos de salud, en especial del Comité de Control de Infecciones, autoridades de salud humana, veterinaria y ambiental, que permitan el control precoz y minimice su impacto negativo con la rápida detección y contención del mecanismo de resistencia (8,11,12).

Las cepas fenotípicamente identificadas como co-productoras KPC más carbapenemasas del tipo metalo- β -lactamasas (MBL) deben ser confirmadas por métodos moleculares o inmuno-cromatográficos (métodos de referencia) (11). El apoyo a los laboratorios con recursos limitados, que no cuentan con los reactivos y equipos necesarios para la aplicación de técnicas moleculares que permitan

la detección del gen específico que produce la carbapenemasa debe ser una prioridad (13). En Ecuador el CRN-RAM es el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), encargado de realizar la confirmación, vigilancia de patógenos de importancia epidemiológica por medio de las derivaciones de cepas obtenidas en laboratorios miembros.

Las cepas productoras de KPC pueden presentar un grado de resistencia heterogéneo a los carbapenémicos, dificultando su detección, y consiguientemente la pesquisa, resultando en alta mortalidad en las infecciones provocadas por estos aislados debido al retraso de un tratamiento oportuno (14).

El comportamiento epidemiológico en la distribución de la co-producción de KPC + MBL es un fenómeno dinámico que requiere seguimiento y una vigilancia periódica, debido a las implicancias tanto en la selección de tratamientos, medidas de control de infecciones y pronóstico de los pacientes (15). El retraso en la determinación de enterobacterias productoras de carbapenemasas se traduce en una mayor morbi-mortalidad, con incremento en la necesidad de recursos y costos institucionales que abarca personal técnico, insumos e incremento de la estancia hospitalaria. El reporte oportuno influye directamente sobre la toma de decisiones terapéuticas en cuanto a tratamiento específico del personal médico tratante y las medidas para la contención de estos microorganismos de importancia epidemiológica.

Conclusión

El creciente aumento de microorganismos con resistencia antimicrobiana, hace necesario mantener la vigilancia activa en las salas de hospitalización y los laboratorios. La determinación de productores de múltiples carbapenemasas en un mismo aislado, es posible si los laboratorios están abastecidos de todos los dispositivos que permitan una pesquisa fenotípica de calidad con alta sensibilidad y especificidad, mismas que se traducen en un “costo-beneficio” para la institución y el estado, considerando a las IAAS como un problema de salud pública que conlleva a un aumento de la estancia hospitalaria y la morbimortalidad.

Revisión por pares El manuscrito fue revisado

por pares ciegos y fue aprobado oportunamente por el Equipo Editorial de la revista INSPILIP.

Disponibilidad de datos y materiales.

Los datos que sustentan este manuscrito están disponibles bajo requisición al autor correspondiente.

Aspectos éticos.

Previo a realizar el presente estudio de caso, se efectuó la firma del respectivo consentimiento informado voluntario del representante del paciente respetando las normas de bioética y protección de identidad.

Fuente de financiamiento.

Este estudio fue autofinanciado. Conflicto de intereses Los autores declaran no tener conflictos en la publicación del presente manuscrito.

Agradecimientos:

Incani Renzo Nino.

Referencias bibliográficas:

1. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Who.int. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3QEsmhA>
2. Paho.org. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3c3vK6n>
3. Pintos-Pascual I, Cantero-Caballero M, Rubio EM, Sánchez-Romero I, Asensio-Vegas Á, Ramos-Martínez A. Epidemiología y clínica de las infecciones y colonizaciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital de tercer nivel. *Rev Esp Quimioter.* 2020;33(2):122–9.
4. Yang YJ, Wu PJ, Livermore DM. Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1990;34(5):755–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.34.5.755>
5. Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Yang Y, Hare R, O’Gara C, et al. Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1996;40(9):2080–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.40.9.2080>
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1995;39(6):1211–33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
7. Edu.ec. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3dLy8zq>
8. Oct 22. Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacterales en Latinoamérica y el Caribe - 22 Octubre 2021 [Internet]. Paho.org. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3T0uqBZ>
9. Paho.org. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3c5oc33>
10. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence* [Internet]. 2017;8(4):460–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2016.1222343>
11. Servicio E, Malbrán CG. Programa nacional de control de calidad en bacteriología [Internet]. Com.ar. [citado el 19 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3dIyN4j>
12. Touchet NM, Busignani S, Dunjo P, Brítez M, Kawabata A, Silvagni M. Primer reporte de Enterobacterales dobles productores de carbapenemasas en hospitales de Paraguay. *Mem Inst Investig En Cienc Salud* 1 de diciembre de. 2021;19(3):35–43.
13. Requena SD, Vásquez CY, Cedeño GTA, Delgado CJM. Detección fenotípica y genotípica de la producción de carbapenemasas tipo NDM-1 y KPC en enterobacterias aisladas en un laboratorio clínico en Maracay, Venezuela. *Venezuela Rev Chil Infectol* abril de. 2021;38(2):197–203.
14. Vera-Leiva A, Barria-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al., editor. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev Chil Infectol.*; octubre de 2017; 34(5):476-84.
15. Remolina G, Conde M, Escobar C, Leal C, Bravo O, Saavedra R. Tipos de carbapenemasas expresadas en *Klebsiella* spp., y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos en seis hospitales de alta complejidad de la Ciudad de Bogotá - Colombia. *Rev Chil Infectol* octubre de. 2021;38(5):720–3.