



Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Medicina

Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica
Trabajo Final Integrador

“Detección de Klebsiella spp. Multirresistente en un sanatorio de la ciudad de Resistencia, Chaco”



Alumno: Marcelo Schmidberger , Bq

Director: Dr. Marcelo Marin

Resistencia

2017

Introducción

Los microorganismos del género *Klebsiella* son bacilos gramnegativos inmóviles, anaerobios facultativos que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. La capa más externa de *Klebsiella* spp. está formada por una gran cápsula de polisacáridos. El género *Klebsiella* está formado por varias especies. Entre las que se encuentran *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola* y *K. terrigena*. Aproximadamente del 60 al 80% de los microorganismos del género *Klebsiella* aislados de muestras clínicas son *K. pneumoniae*¹.

El género *Klebsiella* presenta una amplia distribución en la naturaleza (aguas potables, residuales y de fábricas textiles, vegetales, suelos, etc.). Reviste especial importancia la presencia de *Klebsiella* spp. en pacientes de hospitales y sanatorios, que debido a su gran habilidad para extenderse por el ambiente hospitalario, estas bacterias tienden a causar brotes nosocomiales, estando la transmisión asociada con la manipulación frecuente de los pacientes (por ejemplo, en las unidades de cuidados intensivos)^{1,2,3}. Producen infecciones del tracto urinario, respiratorio, septicemias e infecciones de tejidos blandos⁴. El agua y los aerosoles contaminados pueden ser fuentes de estos microorganismos, como así también las soluciones jabonosas y desinfectantes.

Quienes se exponen a un riesgo mayor de infecciones son las personas con sistemas inmunitarios poco activos, como las personas ancianas o muy jóvenes, los pacientes con quemaduras o heridas extensas, los que están siendo sometidos a tratamientos inmunodepresores o los infectados por el VIH³. La colonización puede dar lugar a

infecciones invasivas y aumenta proporcionalmente con el tiempo de internación. El principal reservorio de *Klebsiella* lo constituye el tracto gastrointestinal y en menor medida la nasofaringe, siendo el más importante vehículo de transmisión las manos del personal hospitalario.

Una característica sobresaliente de esta especie es la resistencia natural que posee y la potencialidad para adquirir mecanismos de resistencia a varias de las familias de antimicrobianos más utilizadas en la clínica. Estas bacterias poseen al igual que las enterobacterias, resistencia intrínseca a los antibióticos betalactámicos, aunque también esta resistencia puede ser adquirida⁵. La producción de Betalactamasas constituye uno de los principales mecanismos de resistencia, produciendo la inactivación de los antibióticos betalactámicos, los más prescritos en todo el mundo y que constituyen la primera línea de defensa en contra de las infecciones por esta bacteria. La presencia de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Klebsiella* spp. ha sido ampliamente estudiada y descrita en todo el mundo^{6,7,8,9,10}. Las bacterias del género *Klebsiella* tienen una Betalactamasa cromosómica de amplio espectro, lo que las hace naturalmente resistentes a las amino y carboxipenicilinas. La mayoría de las cepas son sensibles al resto de los preparados betalactámicos, incluidos los monobactams. La especie *Klebsiella pneumoniae* se caracteriza por presentar una frecuencia extremadamente elevada de una Betalactamasa denominada SHV-1, reconocida como de codificación plasmídica en la mayoría de especies donde se ha detectado. La presencia de esta enzima las puede hacer resistentes a ureidopenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación. En los últimos años están apareciendo

cepas con sensibilidad disminuida o resistente a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactamos. Esta resistencia viene determinada por la presencia de Betalactamasas plasmídicas, mutantes de las Betalactamasas clásicas, que han extendido su espectro de acción a estos preparados y que se han diseminado de manera horizontal por numerosas especies de enterobacterias⁹. Así, dentro de la familia de las Betalactamasas, existen las Carbapenemasas, que, al ser producidas por las bacterias, confieren resistencia clínicamente significativa a antibióticos carbapenémicos (Imipenem, Meropenem, Doripenem, Ertapenem). Estas enzimas se dividen en diferentes clases, pero existen 2 tipos principales, las Metalobetalactamasas (Clase B de Ambler) que predominan en Bacilos Gram negativos no fermentadores como *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., etc; y las Serinocarbapenemasas (Clase A de Ambler) que predominan en Enterobacterias. Las Serinocarbapenemasas son comparables a las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), pero se diferencian de estas últimas en que su espectro se extiende a los carbapenemes, afectando a la totalidad de los antibióticos de la familia de los Betalactámicos¹¹. Dentro de este grupo de enzimas la que más ha llamado la atención en los últimos tiempos es la denominada *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC) producida fundamentalmente por *Klebsiella pneumoniae*, aunque también puede hallarse en otras Enterobacterias. Desde el año 2001 se han detectado en forma creciente en bacterias del género *Klebsiella* y posteriormente se han descrito en otras enterobacterias⁹. La detección de bacterias productoras de KPC tiene gran importancia, tanto en la elección del esquema de tratamiento antibiótico adecuado, como en la implementación de medidas de control

Universidad Nacional del Nordeste

Carrera de especialización en Bacteriología Clínica

Marcelo Schmidberger, Bq

de infecciones ya que poseen una gran capacidad de diseminación debido a que son codificadas por plásmidos (elementos móviles y transmisibles entre bacterias del mismo o distinto género⁹).

Según datos de los Laboratorios de microbiología de la red WHONET - Argentina, durante el periodo 1997-2000 (n=118.119), se pudo observar que *Klebsiella pneumoniae* esta tercera en frecuencia (7,5%) después de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Si tomamos solamente los aislamientos provenientes de las salas de terapia intensiva del mismo periodo (n=8.511), *Klebsiella pneumoniae* (11%) mantiene su lugar compartido con *Staphylococcus coagulasa negativo*¹¹.

Justificación:

Es importante conocer la presencia de *Klebsiella* spp en la microbiota local de cada institución de salud debido a las características de morbimortalidad de este microorganismo y su resistencia a antibióticos. Esto redundaría en un correcto manejo de la terapéutica antibiótica de los pacientes por parte de los médicos, y lleva a una mejora del éxito terapéutico de los pacientes y también ahorros económicos para la administración del sanatorio¹².

El control de bacterias multiresistentes en hospitales públicos de la ciudad de Resistencia se encuentra a cargo del departamento de microbiología del Hospital Perrando, , sin embargo no se tienen datos de los sanatorios privados de dicha ciudad.

Universidad Nacional del Nordeste

Carrera de especialización en Bacteriología Clínica

Marcelo Schmidberger, Bq

Este trabajo pretende dar una idea de la prevalencia de klebsiella multiresistente en un sanatorio privado de esa ciudad y arrojar datos que sirvan para una mejor terapéutica y profilaxis de las infecciones nosocomiales.

Hipótesis

H₀: Existiría circulación de Klebsiella multirresistente en la población de pacientes internados en sanatorios privados de la ciudad de Resistencia.-

H₁: No existiría circulación de Klebsiella multirresistente en la población de pacientes internados en sanatorios privados de la ciudad de Resistencia.-

Objetivos

Objetivo General:

- Obtener información epidemiológica acerca de la infección por *Klebsiella* spp en la población de pacientes internados en un sanatorio privado de la ciudad de Resistencia.

Objetivos Específicos

- Analizar la presencia de *Klebsiella* spp según métodos bioquímicos tradicionales.
- Evaluar susceptibilidad antibiótica y búsqueda de multirresistencia específicamente
- Relacionar con datos clínicos y epidemiológicos, locales, nacionales e internacionales.

Materiales y Métodos

Se desarrolló un estudio observacional retrospectivo de registros de análisis bioquímicos de muestras pertenecientes a pacientes con características clínicas de enfermedad infecciosa, internados en el Sanatorio Sagrada Familia, de la ciudad de Resistencia, durante el período 2013 – 2015.

Estas muestras eran de diversas procedencias, comprendiendo urocultivos, hemocultivos, retrocultivos, esputo, muestras de abscesos , heridas quirúrgicas, punta de catéter y líquidos pleurales y ascíticos .-

La detección de la bacteria se realizó por siembra de las muestras en agar sangre o Levine, de acuerdo a la procedencia de la muestra, y posterior incubación en estufa a 35°C en aerobiosis o microaerofilia.

Posteriormente las bacterias fueron sometidas a identificación bioquímica por métodos convencionales, esto incluyo las pruebas de: Catalasa, TSI, SIM, hidrolisis de la urea, utilización de citrato y descarboxilacion de lisina . La identificación realizada llevó a la detección de bacteria hasta el género únicamente.

Para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de difusión en agar con discos y se adoptaron como base las recomendaciones del National Committee for Clinical

Laboratory Standards (NCCLS) de los EEUU, y según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) .La elección de antibióticos se realiza siguiendo la recomendación de la Red WHONET -Argentina y la Subcomisión de

Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínica (SADEBACC) según su actualización del año 2016¹³.

Los discos utilizados fueron:

- Cefotaxima (CTX)
- Amoxicilina/Ac.Clavulanico(AMC)
- Ceftazidima(CAZ)
- Imipenem(IMP)
- Piperacilina/Tazobactam (PIP)
- Ciprofloxacina(CIP)
- Amikacina(AKN)
- Trimetroprima/Sulfometoxasol

Todos los discos de antibióticos y medios de cultivo utilizados son de laboratorios Britania. En lo que respecta a la búsqueda y detección fenotípica de Betalactamsas de Espectro Extendido (BLEE), la misma fue llevada a cabo mediante el método de aproximación de discos¹¹, colocándose los discos de Cefotaxima y Ceftazidima, a 25-30 mm de centro a centro con respecto al disco de Amoxicilina/Clavulanico (figura 1). También se colocó junto al disco de Ceftazidima, a 20mm de distancia de centro a centro, el disco de Imipenem con el fin de detectar BLEE del tipo GES, PER u otras¹⁴.-

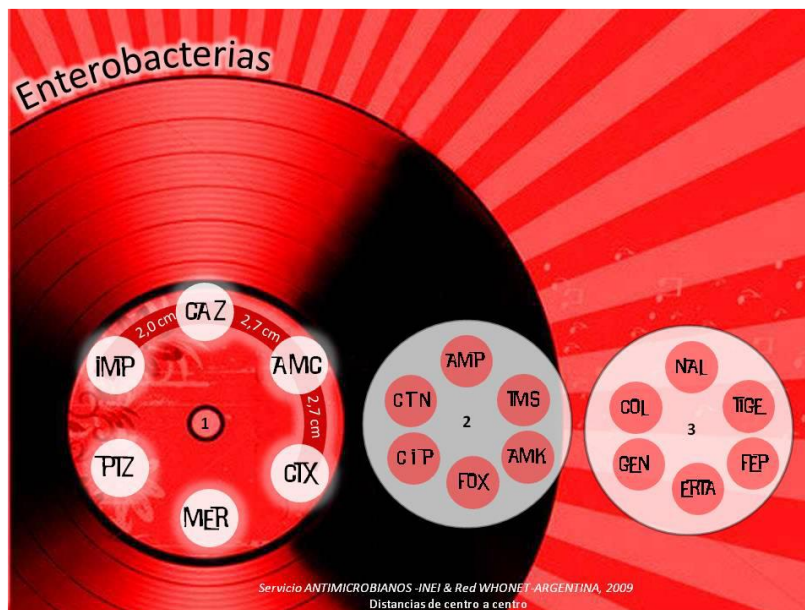
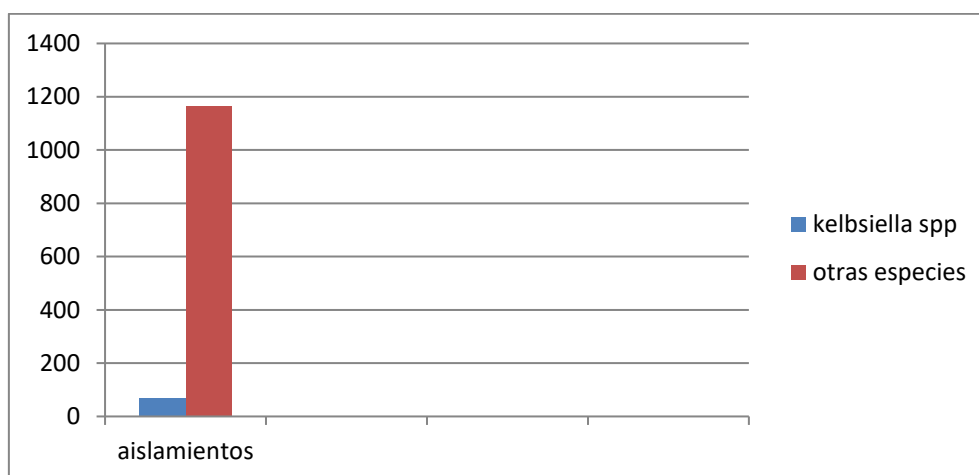


Figura 1.(sólo a modo ilustrativo)

Se analizaron 1233 muestras bacteriológicas que fueron remitidas al laboratorio del Sanatorio de la Sagrada Familia desde diciembre del año 2013 hasta octubre del año 2015. Todas las muestras correspondieron a pacientes internados.

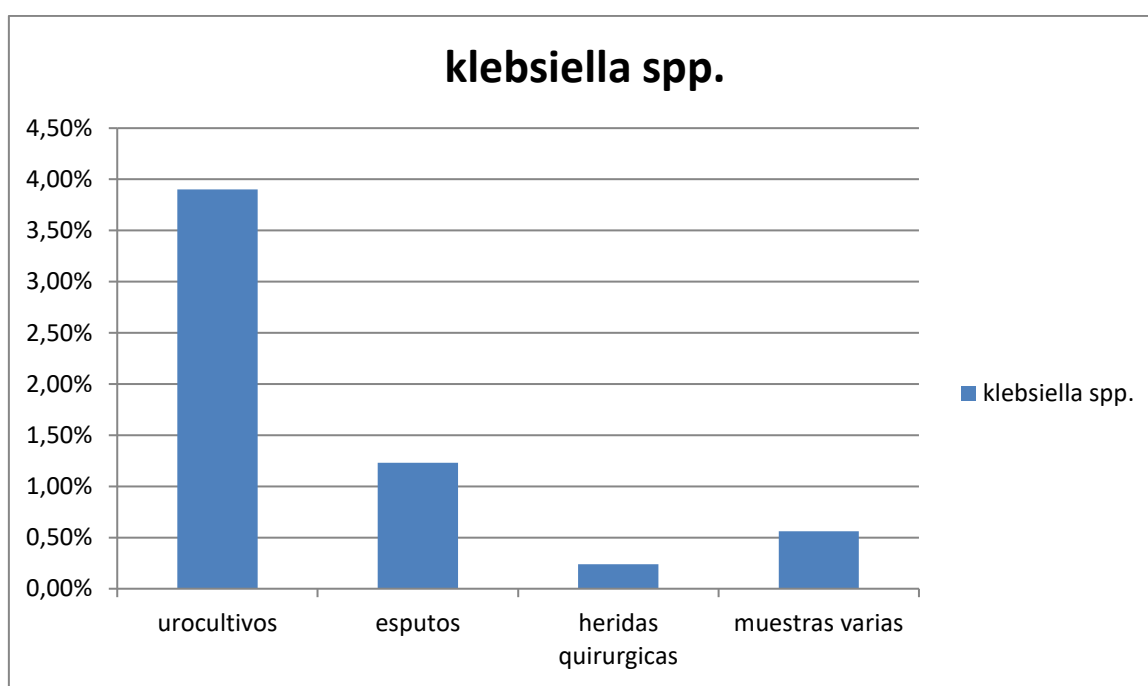
Se detectó la presencia de *Klebsiella* en 69 (5.59%) muestras de un total de 1233 (grafico 1), esto se aproxima a lo hallado por Galas y col en los laboratorios de hospitales pertenecientes a la red WHONET- Argentina donde se expone que *Klebsiella* aparece en 7,5% de los casos de infecciones nosocomiales. También es equivalente a la frecuencia de aparición en otros países como España, según el informe ENVIN-HELICS, donde *Klebsiella* spp aparece en alrededor del 10% de infecciones nosocomiales. Estos datos pueden ser comparables a pesar de tratarse de instituciones de salud pública versus sanatorios privados.

Grafico 1 :Presencia de *Klebsiella* spp en muestras estudiadas.-



Las muestras donde fueron aisladas *Klebsiella* se resumen en el gráfico 2: 3.9 % urocultivos (49), 1.23% esputos (10), 0.56% muestras varias (7) ,0.24% heridas quirúrgicas (3).

Gráfico 2: Distribución de aislamientos de *Klebsiella* spp. según el tipo de muestra.



Se detectó la presencia de multirresistencia (BLEE) en 58 muestras, lo que corresponde al 84 % de las *Klebsiellas* encontradas. Esto se corresponde con lo hallado en otros trabajos donde la estadística demuestra la presencia de 78% aproximadamente de BLEE sin discriminación de tipo de muestras¹⁵.

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana se detallan en la Tabla 2. No se encontró ningún aislamiento resistente a Imipenem y Amikacina. Se encontró solamente un aislamiento con sensibilidad intermedia a piperacilina /tazobactam y el resto sensible al mismo, esto tal vez se debe a una técnica deficiente al realizar el antibiograma.-Este porcentaje de presencia de BLEE en las bacterias aisladas es comparable a lo hallado en otras partes del mundo (Chile,Brasil, India,Estados Unidos,Iran.) donde la aparición de este mecanismo de resistencia es alto , con valores que van del 45 al 80% ^{5,8,12,3,11}

Tabla 2: Resultados de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de Klebsiella estudiados.-

	Sensible	Intermedio	Resistente	% Resistencia
Cefotaxima	11	0	58	84.05
Amoxicilina/Clavulanico	0	0	69	100
Ceftazidima	14	0	55	79.71
Imipenem	69	0	0	0
Piperacilina/Tazobactam	68	1	0	0
Ciprofloxacina	11	1	57	82.60
Amikacina	69	0	0	0

Se puede apreciar que el 100% de los aislamientos son sensibles a imipenem, piperacilina/tazobactam y amikacina siendo estos los antibióticos de elección en el tratamiento de infecciones por klebsiella multiresistente. De aquí se desprende la importancia de una correcta identificación del germen y su mecanismo de resistencia a antibióticos para así corregir la terapia antimicrobiana, ya que en una primera instancia se suelen usar cefalosporinas de 3era generación en forma empírica hasta tener el resultado del cultivo y antibiograma.-

Conclusiones:

A partir de nuestro hallazgo se puede concluir que existe circulación de Klebsiella.spp en la institución, y a pesar de ser de baja frecuencia de aparición , debe ser correctamente identificada y establecido su nivel de resistencia a antimicrobianos. Esto es fundamental para disminuir los fracasos terapéuticos y las complicaciones clínicas de las personas infectadas por este microorganismo.

Este tipo de información respecto de instituciones privadas debe ser considerado y agregado a los datos epidemiológicos de las instituciones públicas.

Referencias bibliográficas:

1. Abbott S. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter and Serratia. En Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenoer F, Editores. Manual of Clinical Microbiology. 7° Edición. American Society for Microbiology. 1999, p. 475.
2. Prats G. Bacteriología. En Prats W, Editor. Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. 2005, p. 33-68.
3. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. Mayo Clin Proc. 2015; 90(3):395-403.
4. Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Guzmán-Blanco M. Gram-negative infections in adult intensive care units of latin america and the Caribbean. Crit Care Res Pract. 2014; 480 -463.
5. González Romero., Gil G., Solórzano R M, Cruz J. G., Puig J.B., Suárez M.S., Nieves B, Brote por Klebsiella Pneumoniae multiresistente y productora de beta lactamasa de espectro extendido en una unidad de alto riesgo neonatal. Rev. chil. infectol.2011; (28) 1: 28-34.
6. Tängdén T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. J Intern Med. 2015; 277(5):501-12.
7. Vuotto C, Longo F, Balice MP, Donelli G, Varaldo PE. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in Klebsiella pneumoniae. Pathogens. 2014; 53(3):743-58.
8. Rugini CL, Sobottka AM, Fuentefria DB. Occurrence and sensitivity profile of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae at a tertiary hospital in Southern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2015; 48(6):692-8.
9. Echeverri-Toro L M, Rueda Z M, Maya W, Agudelo Y, Ospina S. Klebsiella pneumoniae multi-resistente, factores predisponentes y mortalidad asociada en un hospital universitario en Colombia. Rev Chil Infect 2012; 29 (2): 175-182.
10. Joaquín Gómez Elisa García-Vázquez Alicia Hernández-Torres. Los betalactámicos en la práctica clínica,. . Rev Esp Quimioter 2015;28(1): 1-9

11. Marcelo Galas¹ y Red WHONET-Argentina. Servicio ANTIMICROBIANOS. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” Buenos Aires, Argentina, boletín -13, pdf
12. Organización Panamericana de la Salud. Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención. Washington, DC.: OPS; 2000, 84-96.
13. Nastro M, Piazza L, Saposnik E, Garcia S, Barberis C, Vay C, Rodríguez C, Famiglietti A. Resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias sin Amp-C inducible. Evaluación de los nuevos puntos de corte. Rev. Argent. Microbiol. 2012; 44 (1): 30-35.
14. R.M. Parveen, M.A. Khan,* G.A. Menezes, B.N. Harish, S.C. Parija, and J.P. Hays Extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* from blood cultures in Puducherry, India. Indian J Med Res. 2011 Sep; 134(3): 392–395.
15. Eftekhari F, Naseh Z. Extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase production among burn and non-burn clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Iran J Microbiol. 2015; 7(3):144-9.