

Especialización

Reporte de *Citrobacter freundii* productor de carbapenemasa de tipo ndm-1

Autores: de Torres M*, Díaz M, Del Barco L, Brau V. Laboratorio de Bacteriología, Hospital Materno Infantil San Roque, Paraná, Entre Ríos, Argentina, La Paz 435. Tel-Fax: 0343-4230460

*Bioquímica. E- mail: eugedetorres01@gmail.com

RESUMEN

Se presenta el primer aislamiento clínicamente significativo de *Citrobacter freundii* productor de metalo-beta-lactamasa de tipo Nueva Delhi metalo-enzima (NDM-1) en muestras de hemocultivos de un paciente de neonatología del Hospital Materno Infantil San Roque (Paraná, Argentina). Dicho aislamiento presentó un perfil multirresistente (resistencia extrema XDR), por lo que se realizaron pruebas de caracterización fenotípica para la búsqueda de carbapenemasa, confirmándose luego la presencia del gen bla_{NDM-1} mediante pruebas de biología molecular. La presencia de este gen sobrelleva simultáneamente diseminación vertical y horizontal (transferencia intra e interespecies). Se destaca la importancia de una rápida detección de estos mecanismos de resistencia con el fin de instaurar precozmente múltiples medidas de control a fin de evitar su diseminación.

ABSTRACT

We report here the first clinically significant isolate of *Citrobacter freundii* as a producer of a New Delhi metallo-beta-lactamase enzyme (NDM-1). The sample was isolated from a blood culture from a patient at Hospital Materno Infantil San Roque (Paraná, Argentina). This isolate shown a multiresistant profile (XDR). We proceeded with a phenotypical characterization looking for carbapenemase activity. Then, the bla_{NDM-1} gene was confirmed by PCR assays. The occurrence of this gene involves vertical and horizontal dissemination (intra- and interspecies transference). It is advisable a fast detection of these type of resistance to apply safety control actions to avoid dissemination.

PALABRAS CLAVES: carbapenemasa, Nueva Delhi, *Citrobacter freundii*.

Introducción

En los últimos años, se ha producido la aparición y dispersión de bacterias gramnegativas capaces de expresar

enzimas, como las carbapenemasas (CPN), que confieren una elevada resistencia a los antibióticos betalactámicos, incluyendo los carbapenémicos. Las metalo-beta-

lactamasas (MBL) pertenecen a la clase B según la clasificación de Ambler, presentan actividad hidrolítica frente a los β -lactámicos excepto frente a los monobactámicos (aztreonam) y son inhibibles por EDTA. Las infecciones causadas por enterobacterias productoras de MBL reducen significativamente la disponibilidad de antimicrobianos útiles para tratamiento y tienen asociada una elevada mortalidad, además son capaces de lograr una profusa diseminación tanto a nivel nosocomial como así también en el ambiente extra-hospitalario. Las MBL de mayor relevancia clínica son las de tipo IMP, VIM y Nueva Delhi metalo-enzima (NDM). La primera descripción de NDM-1 fue en el año 2009 en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en un paciente sueco que requirió tratamiento en un hospital de Nueva Delhi, India (1). Los primeros aislamientos en Latinoamérica fueron reportados en Guatemala en el año 2011 en *Klebsiella pneumoniae* (2) y en nuestro país en el año 2013 en *Providencia retgeri* (3). La presencia de NDM-1 sobrelleva simultáneamente diseminación vertical (expansión clonal) como así también horizontal (transferencia a otras especies de bacilos gramnegativos) por lo que su presencia debe ser considerada de alto riesgo y se deben extremar las medidas de detección y prevención (4). Mediante este trabajo nos proponemos reportar el primer aislamiento clínicamente significativo de *Citrobacter freundii* productor de NDM-1 con resistencia extrema (XDR) en un hospital materno infantil de nuestra provincia.

Materiales y Métodos

La identificación bacteriana se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales y por sistema automatizado Vitek2C. Se determinó la

sensibilidad por método de difusión con disco según normas CLSI 2016 (5).

Para confirmar la producción de CPN se siguió el algoritmo recomendado por el Servicio Antimicrobianos (LNR) – INE-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” que incluye la detección colorimétrica de CPN por el método Blue Carba (ROSCO) RAPID CARB BLUE Kit® (6) (**Figura 1**). La caracterización fenotípica de MBL se realizó mediante sinergia entre discos de carbapenemes y un inhibidor de carbapenemasa como el EDTA (**Figura 2**) y además con el test de Hodge mejorado (Triton Hodge Test) que evalúa la actividad enzimática (7) (resultado no mostrado). Se derivó el aislamiento al LNR, donde se buscaron los genes implicados en la resistencia a carbapenemes mediante amplificación por PCR, obteniéndose resultado positivo para la amplificación del gen *bla*_{NDM-1} (resultado no mostrado). El análisis de la secuencia de nucleótidos mostro un 99% de identidad con *bla*_{NDM-1}.

Resultados

Descripción de un caso

Recién nacido pre-termino que ingresa a la sala de neonatología del hospital en marzo de 2016 con diagnóstico de sepsis temprana, se toman muestras de hemocultivos (HMC) los cuales resultan negativos, se instaura tratamiento empírico con ampicilina y gentamicina, el paciente es sometido a asistencia respiratoria mecánica y colocación de vías centrales. A las 72 hs presenta descompensación hemodinámica asumiendo el cuadro como sepsis asociada a cuidados de la salud y se rota esquema antimicrobiano a meropenem y vancomicina por epidemiología local. Previo a rotar esquema se toman muestras de HMC periféricos y retrocultivo los cuales resultan positivos a bacilos gramnegativos

en sistema automatizado BACTEC®, los subcultivos fueron identificados posteriormente como *Citrobacter freundii* confirmado luego por el LNR. Se realiza antibiograma del aislamiento por el método de difusión con disco dando una resistencia extrema XDR, con resistencia de alto nivel a aminoglucósidos: amicacina y gentamicina, también resistente a imipenem, meropenem, ertapenem, minociclina, tetraciclina y TMS. Siendo sensible solamente a colistín, tigeciclina, fosfomicina y sensibilidad disminuida a ciprofloxacina (Tabla 1), por lo que se agrega colistín al tratamiento antimicrobiano. Ante la sospecha de presencia de CPN se realizaron las pruebas correspondientes las cuales resultaron positivas (Tabla 2). Tomándose conocimiento del alerta epidemiológico, se avisa al servicio de infectología del hospital, se decide aislar al paciente y se extreman las medidas de control de infecciones. Luego de 2 meses de internación el paciente evoluciona favorablemente, negativizando los cultivos y es dado de alta.

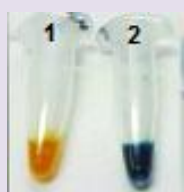


Figura 1. Método Blue Carba (Tubo 1: aislamiento positivo. Tubo 2: control negativo)



Figura 2. Sinergia entre monodiscos de imipenem-EDTA-meropenem.

ANTIMICROBIANO	DIFUSIÓN*	INTERPRETACIÓN
Aztreonam	18	I
Meropenem	7	R
Gentamicina	6	R
Acido nalidixico	6	R
TMS	6	R
Fosfomicina 200ug	30	S
Tetraciclina	6	R
Ertapenem	6	R
Imipenem	9	R
Amicacina	6	R
Ciprofloxacina	21	SD
Colistín	13	-
Colistín E-Test**	0,5 ug/ml	S
Tigeciclina	23	S
Tigeciclina E-Test**	1 ug/ml	S
Minociclina	8	R

* Zona de inhibición en mm

**CIM en mg/L, realizado con tiras de E-test®

Tabla 1. Sensibilidad antimicrobiana de *Citrobacter freundii* productor de NDM-1.

Huevo EDTA	Positivo con Cabapenemes
Test de Hodge	THT-Ertapenem Positivo
PCR	bla_{NDM-1} Positivo
Blue Carba	Positivo

Tabla 2. Algoritmo para la búsqueda de CPN.

Conclusión

Con este reporte se pretende enfatizar la importancia de una rápida y eficaz detección de estas bacterias con CPN, no solo para la adecuada terapéutica del paciente sino para instaurar precozmente múltiples medidas de control tendientes a evitar su diseminación.

Agradecimientos

Al especialista en bacteriología clínica Francisco Salamone. Al servicio de bacteriología del hospital San Martín, Paraná. Al servicio de antimicrobianos (LNR) – INEI- ANLIS “ Dr. Carlos G. Malbrán”.

Referencias bibliográficas

1. Yong D, Toleman MA, Giske CG et al. 2009. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* **53**: 5046–54.
2. Pasteran F, Albornoz E, Faccone D, Gomez S, Valenzuela C, Morales M, Corso A (2012). Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, **67**(7), 1795-1797.
3. Pasteran F, Meo A, Gomez S, Derdoy L, Albornoz E, Faccone D, Guerriero L, Archuby D, Tarzia A, López M, Corso A. 2014. Emergence of genetically related NDM-1-producing *Providencia rettgeri* strains in Argentina. *J Glob Antimicrob Resist*; **2**(4):344-345.

4. Servicio Antimicrobianos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán. Alertas. Emergencia de Carbapenemasa Tipo Nueva Delhi MetaloBetalactamasa (NDM) en Argentina. <http://antimicrobianos.com.ar/category/alerta/>

5. CLSI Clinical and Laboratory Standard Institute Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: M2-A12, M7-A10, M100-S17. 2016.

6. Pasteran F, Rapoport M, Lucero C, Corso A. 2015. Comparison of the in-house Blue-Carba Test (BCT) with the Rapid CARB Blue Kit for the Detection of Carbapenemase-Producing Gram Negative Bacilli. 25th ECCMID, Abstract 385; 2015.

7. Pasteran F, Gonzalez LJ, Albornoz E, Bahr G, Vila AJ, Corso A. Triton Hodge Test: Improved protocol for Modified Hodge Test for enhanced detection of NDM and other carbapenemase producers.