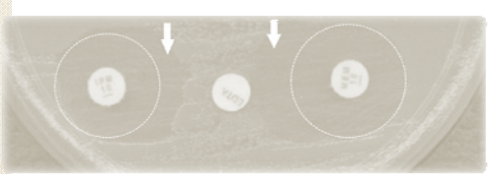
DESCRIPCIÓN CLÍNICO-MICROBIOLÓGICA DE SEIS CASOS DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE METALO- ß-LACTAMASAS



A MTogneri[1], S Gomez[2], L Podestá[1], M Perez[1], D Faccone[2], L Ríos[1], M Gañete[1], F Pasterán[2], A Corso[2]
[1]HIGA EVITA de Lanús (HEL)- [2]Servicio de Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), Argentina

Introducción: En el año 2008 se documentó la primer Enterobacteria productora de Metalo ß-lactamasa (EB-MBL) en el Hospital Evita de Lanús, sumando posteriormente otros 5 aislados. **Objetivo:** Describir las características clínicas, epidemiológicas y moleculares de los casos de EB-MBL documentados en la institución.

Materiales y Métodos

◊ **Aislados**: Se estudiaron 6 EB-MBL(n): *Enterobacter cloacae-ECL* (4=M9921, M13280, M13624 y M13795), *Klebsiella oxytoca* (1=M13063), *Citrobacter freundii* (1=M13281), que presentaron halos de imipenem ≤ 22mm y sinergia entre discos de EDTA y carbapenemes.
Los perfiles de Resistencia se ensayaron por difusión en agar y el Sistema Phoenix (V 5.83A) interpretadas acorde al CLSI (M100-S20-U).
Caracterización molecular: Los genes de β-lactamasas, incluyendo las MBL y su entorno genético, se estudiaron por PCR y posterior secuenciación por métodos convencionales. El ensayo de conjugación biparental se realizó utilizando *E. coli* J53 (ECO J53) resistente a Azida (AzR) como cepa receptora, y la conjugación fue seleccionada en agar Luria Bertani con 50 µg/ml de ampicilina y 200 µg/ml de azida. La relación genética entre los cuatro *ECL* se investigó por electroforesis en campo pulsado (PFGE) con la enzima *Xba* I.

◊ **Población**: Se analizó la información clínico-epidemiológica disponible de los pacientes involucrados.

Resultados

♂♀ 5 ♂ / 1 ♀ - 68 (53-81) años
(S/Comorbilidades = 5; Diabetes = 1)

Mes / año de los hallazgos (n):
8/2008 (1), 10/2010 (1), 1/2011 (2), 9/2011 (1) y 12/2011 (1)

La media (rango) de internación fue de 39 (12-60) días.

Internados por procesos agudos no infecciosos, sin internaciones, ni antibioticoterapia durante los 12 meses previos.

ITU (1), Bacteriemia 2ria a foco pulmonar (1), y cuatro bacteriemias transitorias sin foco aparente.

Las EB-MBL se documentaron luego de 72hs. desde el ingreso, en muestras de sangre (5) y orina (1).

En los 6 pacientes se aplicó aislamiento de contacto; en 5 se efectuaron cultivos de portación que resultaron negativos.

PFGE

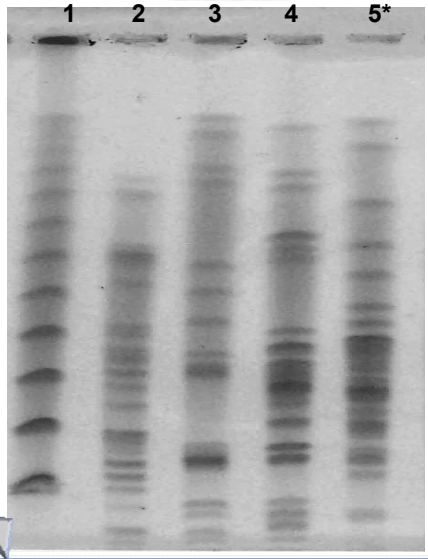


FIGURA 1: **PFGE de ADN digerido con *Xba*I.**
Se demuestra que los 4 ECL portadores de bla_{IMP-8} no poseen relación genética entre sí (distintos tipos clonales)
*1-XHindIII, 2-M9921, 3-M13280, 4-M13624, 5-M13795.

RESISTENCIA

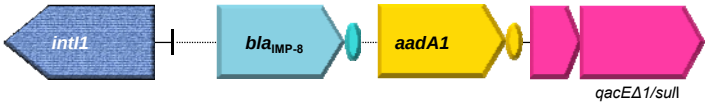
ATB	DIFUSIÓN			SISTEMA PHOENIX			PCR	
	IPM	MEM	ATM	IMI	MEM	ERTA		
cepa n°	mm	mm	mm	µg/ml	µg/ml	µg/ml	MBL	BLEE
ECL-9921	17	15	12	1	1	2	IMP-8	PER
KOX-13063	21	22	8	4	*ND*	*ND*	IMP-8	PER
CFR-13281	21	21	7	2	*ND*	*ND*	IMP-8	PER
ECL-13280	19	20	13	4	*ND*	*ND*	IMP-8	PER
ECL-13624	17	19	10	8	≤ 1	>1	IMP-8	PER
ECL-13795	20	23	34	4	≤ 1	>1	IMP-8	neg
ECO J53	31	40	36	0.06	*ND*	*ND*	neg	neg
TC-9921	18	19	*ND*	≤ 1	≤ 1	≤ 0.25	IMP-8	neg
TC-13281	22	22	35	≤ 1	≤ 1	≤ 0.25	IMP-8	neg
TC-13063	20	23	38	≤ 1	≤ 1	≤ 0.25	IMP-8	neg
TC-13795	24	29	40	*ND*	*ND*	*ND*	IMP-8	neg

Los aislados mostraron un perfil de multirresistencia. La resistencia a aztreonam (ATM) correlaciona con la presencia de BLEE (beta lactamasas de espectro extendido) (S≤21 mm; R≥17mm). La actividad enzimática (Masuda) frente a carbapenemes fue positiva. Referencias: IMI: imipenem, MEM: meropenem, ND: no determinado, neg: negativo. TC: transconjugante. ECO J53, *E. coli* cepa aceptora Azida R.

PLATAFORMAS GENÉTICAS

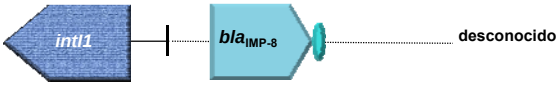
FIGURA 2: Cartografía de los integrones realizada por PCR combinando cebadores 5'CS (IntI1), 3'CS (*qacEΔ1/sul* I) o *sul* I con bla_{IMP}.

ECL M13280, *ECL* M13624



KOX M13063

ECL M9921, *ECL* 13795, *C. freundii* M13281



Por PCR y secuenciación se determinó la presencia de los genes bla_{IMP-8} en los 6 aislados y bla_{PER-2} en 5, confirmando la presencia de MBL y BLEE. (ver tabla)
bla_{IMP-8} fue hallado como primer casette de un integrón de clase I, aunque en tres aislados no se pudo detectar el extremo 3´conservado. Estas plataformas fueron transferibles por conjugación en 4 EB-MBL

CONCLUSIONES

- **El hallazgo de EB-MBL en pacientes sin signos de infección al ingreso, ni internaciones previas, con cultivos de colonización negativos, sugieren su adquisición nosocomial.**
- **La transferencia horizontal interespecie de bla_{IMP-8}, junto a la multiplicidad de especies y clones hallados, sugieren la presencia de un elemento genético móvil (plásmido conjugativo) que potencia la transmisión horizontal de este mecanismo de resistencia.**
- **La implementación rápida de las medidas de aislamiento permitió contener una mayor diseminación.**