

FRECUENCIA Y COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE DETECCIÓN FENOTÍPICA DE *Pseudomonas aeruginosa* PRODUCTORA DE METALOBETALACTAMASAS AISLADAS EN EL HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE. DURANTE EL 2014

Aguilar Gamboa Franklin Rómulo^{1,a}, Labrín Yampufe Henry Wilfredo^{2,a},
Moreno Mantilla Mario Cecilio^{3,a}

RESUMEN

Objetivos: Establecer la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de Metalobetalactamasas (MBL) en el Hospital Regional Lambayeque, y comparar tres métodos fenotípicos para su detección. **Material y Métodos:** Se estudiaron 92 aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidos durante el 2014, para la detección de resistencia a carbapenemes se emplearon los métodos de Kirby Bauer y semi-automatizado vitek2XL. La producción de MBL se determinó por el método de epsilometría (E-test IP/IPI) "método estándar de oro para esta investigación", asimismo estos se compararon en términos de sensibilidad y especificidad con los métodos de sinergismo EDTA con doble disco de difusión (DDST) y la prueba de discos combinados (DC). **Resultados:** Se obtuvieron 10 (10,9%) aislamientos de *P. aeruginosa* productora de MBL, las cuales fueron determinadas por epsilometría, por ser la prueba fenotípica con mayor sensibilidad y especificidad; las otras DDST y DC detectaron 6 (6,52%) y 23 (25%) aislamientos positivos respectivamente. No existió buena concordancia entre E-test IP/IPI y DC pero si entre E-test IP/IPI y DDST. El 100% de *P. aeruginosa* productoras de MBL presentaron una marcada multiresistencia y la Unidad de Cuidados Intensivos fue el servicio donde se obtuvo la mayor cantidad de estos aislamientos. El esquema de tratamiento antibiótico no tuvo relación con la aparición del microorganismo en estudio. **Conclusiones:** Se describe el primer reporte de MBL en *P. aeruginosa* en el Hospital Regional Lambayeque con 10 (10,9%) aislamientos positivos. El desarrollo de este mecanismo de resistencia podría tener un grave impacto en el ámbito clínico y epidemiológico; por lo cual los equipos de vigilancia deberían promover medidas de control para evitar su diseminación.

Palabras clave: Carbapenémicos, *pseudomonas aeruginosa*, resistencia beta-lactámica. (Fuente: DeCS- BIREME)

FREQUENCY AND COMPARISON OF THREE PHENOTYPIC METHODS TO DETECT *Pseudomonas aeruginosa* PRODUCING METALLO-BETA-LACTAMASE ISOLATED in REGIONAL LAMBAYEQUE HOSPITAL DURING 2014

ABSTRACT

Objetivos: Determining the frequency of *Pseudomonas aeruginosa* Producing of metallo- betalactamase (MBL) in the Lambayeque Regional Hospital and Compare three phenotypic methods for detection them. **Material and methods:** 92 isolates of *P. aeruginosa* were studied by the method of Kirby Bauer and semi-automated vitek2XL, for the detection of resistance to carbapenems Kirby Bauer and one semi studied methods were used . The production of MBL was determined by epsilometría (E - test IP / IPI) method " gold standard method for research This " Likewise These were compared : terms of sensitivity and specificity of the methods of synergism EDTA double disk Broadcasting (DDST) and disk combined (DC). **Results:** Obtained 10 (10,9%) isolates of *P. aeruginosa* producing MBL, which were determined by Epsilometría, as the phenotypic test with greater sensitivity and specificity; DDST and other DC detected in June (6,52%) and 23 (25%) positive isolates respectively. There was no good agreement between E-test IP/IPI and DC but between E-test IP/IPI and DDST. 100% of *P. aeruginosa* producing MBL showed a marked multiresistance and Intensive Care Unit was the service where most of these isolates were obtained. The scheme of antibiotic treatment was unrelated to the appearance of the microorganism under study. **Conclusions:** The first report of MBL described in *P. aeruginosa* in the Lambayeque Regional Hospital with 10 (10,9%) positive isolates. The development of this resistance mechanism could have a serious impact on clinical and epidemiological field; therefore monitoring equipment control should promote measures to prevent its spread.

Key words: Carbapenems, *Pseudomonas aeruginosa*, beta-Lactam Resistance (Source: MeSH-NLM).

¹ Laboratorio de Microbiología, Dirección de Investigación, Hospital Regional Lambayeque. Lambayeque - Perú.

² Laboratorio de Patología Clínica, Área de Microbiología, Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo, Red Asistencial Juan Aita Valle ESSALUD. Lambayeque - Perú.

³ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque-Perú.

^a Biólogo - Microbiólogo.

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo oportunista que posee una extraordinaria capacidad adaptativa y versatilidad metabólica⁽¹⁾. Su capacidad para formar biofilm, y sus diversos factores de virulencia contribuyen a la ineficacia del sistema inmune y a la falla terapéutica⁽²⁾⁽³⁾; asimismo, resalta su notable resistencia natural y adquirida a los antibióticos, siendo el reconocimiento fenotípico de estos, útil tanto para el médico como para el personal de laboratorio⁽⁴⁾. Su presencia en hospitales y elevada frecuencia sobre todo en áreas críticas, han hecho que éste microorganismo sea un gran problema debido al desafío terapéutico que representa⁽⁵⁾.

Los antibióticos que se consideran con buena actividad frente a *P. aeruginosa* son: penicilinas antipseudomonas (piperacilina, ticarcilina, carbenicilina, azlocilina) asociadas o no a inhibidores de betalactamasas, ceftazidima, cefepime, monobactámicos como aztreonam, carbapenémicos (imipenem y meropenem), quinolonas (especialmente ciprofloxacina) y aminoglicósidos⁽⁷⁾. Sin embargo en la actualidad es preocupante la situación de las infecciones producidas por este microorganismo debido a la aparición de cepas multiresistentes (PAMR). Por ello, cada vez es más frecuente y necesario el empleo de antibióticos de amplio espectro como carbapenémicos y polimixinas⁽⁸⁾. La situación se complica cuando éste microorganismo expresa resistencia a dichos antibióticos, constituyéndose en una grave amenaza para los pacientes⁽⁹⁾.

La resistencia adquirida a los carbapenémicos resulta de la presencia de distintos mecanismos, que incluyen: cambios en proteínas de la membrana externa, bombas de eflujo inespecíficas⁽¹⁰⁾ y producción de enzimas tipo betalactamasas.

La importancia relativa de cada mecanismo de resistencia es variable y en muchos casos coexisten más de uno⁽¹¹⁾. La inactivación enzimática de carbapenemes por betalactamasas puede estar mediada por la sobreexpresión de enzimas de tipo AmpC o por la producción de carbapenemasas de tipo Serino-betalactamasas (SBLs) o Metalobetalactamasas (MBL) siendo estas últimas descritas con mayor frecuencia en *P. aeruginosa*^{(8),(5)}.

Las MBL pertenecen al Grupo 3 según clasificación funcional de Buch Jacoby y Medeiros, y a la Clase Molecular B según Ambler; estas enzimas son inhibidas por agentes quelantes de Zinc, como el ácido etilendiamino tetra acético (EDTA) y el mercaptoacetato de sodio (SMA) y son sensibles al aztreonam^{(12),(13),(14)}. Las MBL inicialmente fueron detectadas en el medio ambiente y en microorganismos oportunistas como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacea* y otros⁽¹³⁾. Sin embargo fueron las MBL de transmisión plasmídica las que alcanzaron una importancia crítica debido a su difusión mundial. Así, las familias de mayor distribución son las *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SIM}, *bla*_{GIM} y *bla*_{KMH} de las cuales destacan las tipo VIM e IMP⁽¹⁵⁾. Habitualmente las MBL están asociadas con otros genes de resistencia ubicados en los mismos genes casetes que les permite tener resistencia a múltiples antibióticos como: betalactámicos (carbapenémicos), aminoglucósidos y quinolonas, además de presentar sensibilidad variable al

aztreonam⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾ y cierto nivel de resistencia a imipenem. Asimismo la resistencia a ceftazidima es de alto grado, con concentración mínima inhibitoria (CMI) mayor a 64 mg/dl⁽¹⁶⁾.

La resistencia a los carbapenémicos debido a enzimas del tipo MBL es considerada como la más grave frente otros mecanismos⁽¹⁷⁾, en este sentido el Laboratorio de Microbiología juega un papel importante en la búsqueda de los métodos más eficientes para su detección, que permitan mejorar el sistema de vigilancia y hacer frente a este tipo de resistencia⁽⁴⁾.

En el Hospital Regional Lambayeque – Perú, durante el año 2014 se registró una elevada frecuencia de infecciones producidas por *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos no fermentadores de origen intrahospitalario. Así, se determinó en estos un 63,73% de resistencia a Imipenem⁽¹⁸⁾, lo cual revela el grave problema en la disponibilidad de carbapenemes como alternativa terapéutica para estos microorganismos. Por ello es importante conocer la frecuencia de MBL empleando métodos con elevada sensibilidad y especificidad que permitan detectarlos oportunamente.

Objetivos:

- Establecer la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de Metalobetalactamasas (MBL) en el Hospital Regional Lambayeque durante el año 2014.
- Comparar tres métodos de detección de metalobetalactamasas en aislamientos de *P. aeruginosa*.
- Determinar la relación existente entre el esquema de tratamiento antibiótico y la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño y área de estudio

Se realizó un estudio de diseño descriptivo transversal, donde la población en estudio estuvo constituida por 92 aislamientos de *P. aeruginosa* colectadas en muestras clínicas procedentes de los distintos servicios del Hospital Regional Lambayeque (HRL) durante el año 2014.

Población y Muestra

El tipo de muestreo fue no probabilístico de tipo consecutivo; se consideró el total de cepas que fueron reportadas y conservadas en el laboratorio de bacteriología durante el periodo de estudio. Se tomaron como criterios de exclusión, los aislamientos duplicados con el mismo perfil de susceptibilidad obtenidos en un mismo periodo de hospitalización y aquellos de procedencia comunitaria que no presentaron reacción inflamatoria y considerada como colonización o contaminación.

Procedimientos.

El aislamiento primario, identificación y prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de kirby Bauer

fueron realizados de acuerdo a las recomendaciones establecidas por el Instituto Nacional de Salud (INS)⁽¹⁹⁾. Asimismo se determinó la susceptibilidad antimicrobiana a amikacina, gentamicina, ampicilina/sulbactam, ampicilina, aztreonam, cefazolina, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, imipenem, meropenem, ciprofloxacino, levofloxacino, nitrofurantoína, colistín, piperacilina/tazobactam, tobramicina y trimetoprim-sulfametoxazol por el método de concentración mínima inhibitoria empleando el equipo Semiautomatizado Vitek2 XL.

Se consideraron sospechosos de presentar MBL a los aislamientos que expresaron resistencia o susceptibilidad intermedia a Imipenem (IMP) o Meropenem (MEM), los cuales fueron evaluados por tres métodos de detección fenotípica:

Prueba de sinergismo con doble disco de difusión y Edta, para la detección de carbapenemasas del tipo metalobetalactamasas (DDST)⁽²⁰⁾.

Se realizó una suspensión bacteriana en solución salina a escala de 0,5 de Mc Farland; y el inóculo fue distribuido uniformemente sobre agar Müller Hinton; se dejó secar por unos 3 a 5 minutos, y se colocaron los discos (EDTA en el centro a 15 mm del IMP y MEM) e incubó la placa por 16 horas en aerobiosis. Pasado este tiempo se procedió a la lectura y se tomó como positiva la prueba cuando existía sinergia o deformación del halo de los antibióticos hacia el EDTA.

Figura 1.b.

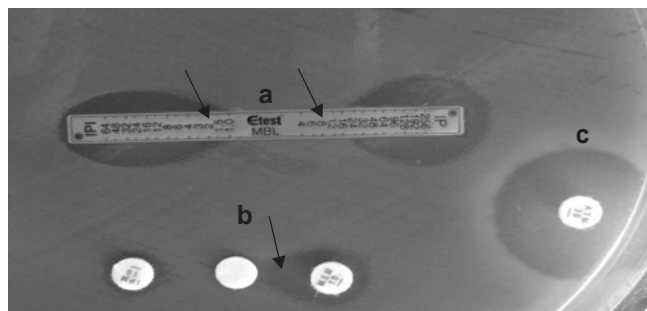


Figura 1. Aislamiento productor de MBL. a) E-test IP/IPI positivo. La CMI del Imipenem (IP) mejora en presencia de EDTA (IPI) y la relación IP / IPI es ≥ 8 con una CMI (Vitek2XL) ≥ 16 mg/l. **b)** Sinergismo positivo. Se observa una deformación del halo empleando discos de imipenem y meropenem hacia el disco de EDTA. **c)** Susceptibilidad al Aztreonam (30 mm), característica frecuente en los aislamientos productores de MBL.

Prueba con discos combinados (DC)⁽²¹⁾.

Tomando los mismos criterios que la prueba anterior, se inóculó una placa con agar Müller hinton, para colocar los discos de IMP, MEM, IMP/EDTA (750 μ g) y MEM/EDTA (750 μ g). Se procedió a incubar por 24 horas en aerobiosis. Finalmente se realizó la lectura considerando positivo cuando la diferencia de los halos del IMP y EDTA/IMP eran ≥ 7 , lo mismo para MEM y EDTA/MEM. **Figura 2.a.c.**

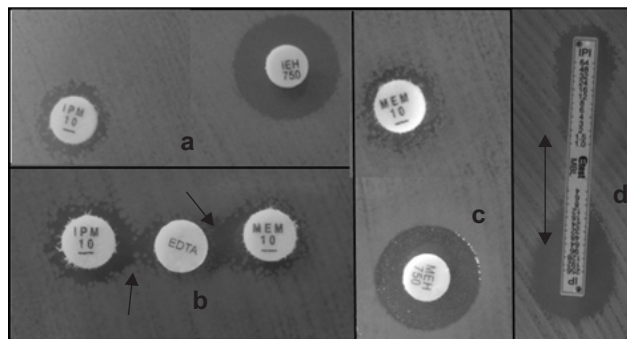


Figura 2. Aislamiento 21PAERC. **a)** E-test IP/IPI positivo. La CMI del Imipenem mejora en presencia de EDTA y la relación IP / IPI es ≥ 8 con una CMI (Vitek2XL) ≥ 16 mg/l. **b)** Discos combinados positivo. Los halos del MEM y MEM/EDTA miden 10 y 21 mm, respectivamente; además se observa que la actividad del MEM mejora con el agente quelante y la diferencia entre la medición de los halos MEM y MEM/EDTA es ≥ 7 . **c)** Discos combinados positivo. Los halos del IMP e IMP/EDTA miden 11 y 22 mm, respectivamente; observando que la actividad del IMP mejora con el agente quelante. La diferencia entre la medición de los halos IMP y IMP/EDTA fue ≥ 7 . **d)** Sinergismo positivo: se observa una deformación del halo hacia el disco de EDTA.

Epsilometria (E-test) para detectar Metalobetalactamasas^{(22),(23)}.

Se colocó una tira de E-test conteniendo en uno de los extremos diferentes concentraciones de imipenem (IP) y al otro extremo imipenem con EDTA (IPI) (E-test IP/IPI) sobre la superficie de una placa con agar Müller Hinton estriada con una suspensión bacteriana a una concentración de 0,5 del nefelómetro de Mc Farland.

Después se incubó a 35°C en atmósfera aeróbica de 16 a 20 horas. Luego del periodo se leyeron los valores de la CMI para IP en el que cruzaron las respectivas elipses de intersección en la tira. **Figura 1.a** La inhibición por debajo del gradiente indicó que la CMI es menor que el valor más bajo sobre la escala de lectura. Se consideró positivo si la relación de la medida de la CMI de IP / IPI era ≥ 8 , además que la CMI encontrada por el Vitek2XL fuera mayor a 16 mg/l.

Consideraciones éticas

Para el uso y análisis de las muestras de los participantes se solicitó autorización y evaluación del proyecto por el Comité de Ética Institucional del HRL. El trabajo se realizó con los aislamientos obtenidos del proceso de rutina en el área de microbiología, los cuales al término del estudio fueron eliminados.

Análisis de datos

La información se concentró en una base de datos de Excel 2013 y el análisis estadístico de las variables de estudio se colectaron en forma numérica y calculando sensibilidad y especificidad con los intervalos de confianza al 95% usando el programa estadístico Epidat v.3.1.

RESULTADOS

Un total de 92 aislamientos de *P. aeruginosa* fueron analizados para determinar la presencia de carbapenemasas tipo MBL, identificando 24 (26,1%) aislamientos sospechosos, caracterizados por elevados niveles de CIM para carbapenemes. De estos, 10 (41,7%) fueron confirmados por el método E-test IP/IPI "patrón de oro para este estudio". Los aislamientos procedieron de UCI: 34 (37%) seguidos por Medicina Interna, Emergencia y Cirugía, con 30(32,6%), 13(14,1%) y 7(7,6%) respectivamente.

Asimismo los servicios con menor frecuencia de aislamientos fueron UCIN 5(5,4%) y Pediatría 3(3,3%). Las muestras de las cuales se obtuvieron dichos aislamientos fueron: Secreción bronquial 53 (57,6%), Orina 13(14,1), Secreción punta catéter 7(7,6%) y Líquido Cefalorraquídeo 4(4,3%).

Se determinaron características sociodemográficas y clínicas en los pacientes de los cuales procedieron los 10 aislamientos de *P. aeruginosa* productoras de MBL, obteniéndose que la mayor frecuencia de éstos se presentaron en el sexo masculino 7(70%), el grupo etario más afectado fue el adulto mayor con una frecuencia de 5(50%), el tipo de muestra que presentó mayor número de aislamientos fue la secreción bronquial 9(90%). Y el principal diagnóstico clínico fue neumonía intrahospitalaria con 6(60%).

De todos los aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidas durante el 2014 casi la mitad presentaron multiresistencia, extrema resistencia o panresistencia. Estas fueron categorizadas de acuerdo a los criterios de Magiorakos et. al (2012).⁽²⁴⁾ **Tabla 1** Los aislamientos productores de MBL presentaron multiresistencia (resistencia a una o más clases de antibióticos)⁽²⁵⁾ la cual se vio reflejada en elevados CIM para cefalosporinas, carbapenemes, quinolonas y aminoglucosidos. Al evaluar los niveles de corresponsabilidad a ceftazidima y aztreonam, se observaron elevados niveles de CIM para la primera (>64mg/l), mientras que la susceptibilidad al Aztreonam fue variable observándose así dos sensibles (>4mg/l y >6mg/l), cinco intermedios (>16mg/l) y tres resistentes (>32 mg/l), a pesar de ser la sensibilidad de este un indicador de la presencia de MBL.

Tabla 1. Aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* organizadas de acuerdo al nivel de resistencia antimicrobiana que presentaron entre los meses de enero a octubre del 2014 en el Hospital Regional Lambayeque.

	n	%
No Multiresistente	56	60,87%
Multiresistentes	13	14,13%
Extremadamente resistente	7	7,61%
Pan-resistente	16	17,39%
Total	92	100%

Por otro lado, se evaluaron dos métodos fenotípicos para la detección de MBL: El método de discos combinados (DC) y Sinergismo (DDST). Los cuales fueron comparados con el E-test IP/IPI tomado como prueba de oro para el presente estudio. Con el método de E-test se observó que de los 24 aislamientos sospechosos, 10 (41,67%) resultaron positivas para MBL, con una sensibilidad y especificidad del 100%. Sin embargo, empleando los métodos DD y DDST, de las 24 cepas estudiadas, 10 y 6 (41,67% y 25%) resultaron positivas para MBL respectivamente, con una sensibilidad de 100% (IC95%: 95 a 100) y una especificidad del 7,14% (IC95%: 0 a 24,20) para el método DC y finalmente para el método DDST una sensibilidad de 60% (IC95%: 24,64 a 95,36) y una especificidad del 100% (IC95%: 96,43 a 100) (**Tabla 2**).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se compararon 3 métodos para la detección de MBL (DDST, DC y E-test), tomando como referencia la prueba de Epsilometría (E-test IP/IPI) de la marca Biomeriux – Química Suiza por ser la prueba fenotípica con mayor sensibilidad y especificidad disponible en el mercado⁽²²⁾. De las pruebas empleadas, el DDST fue la que presentó mayor especificidad, representando una buena opción debido a su accesibilidad por temas de costo y disponibilidad. A este respecto existen estudios con diferentes niveles de sensibilidad y especificidad para los tres métodos y que recomiendan el uso de uno u otro por condiciones de reproducibilidad, costos, y dificultades de interpretación⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾.

Tabla 2: Comparación de los métodos de detección de MBL con referencia al método patrón E-test

Métodos	VP	FN	S (IC95%)	PFN	VN	FP	E (IC95%)	PFP
E-Test	10	0	100 (95 - 100)	0	14	0	100 (96,43 - 100)	0
DC	10	0	100 (95 - 100)	0,93	1	13	7,14 (0 - 24,20)	0
DDST	6	4	60 (24,64 - 95,36)	0	14	0	100 (96,43 - 100)	0,4

VP: verdaderos positivos; **FN:** falsos negativos; **S:** sensibilidad; **PFN:** proporción de falsos negativos; **VN:** verdaderos negativos; **FP:** falsos positivos; **E:** especificidad; **PFP:** proporción de falsos positivos.

Así, algunos autores acreditan que E-test posee una baja especificidad, refiriendo que solo pueden ser detectadas las que presenten una CMI de Imipenem >16 mg/l, e indicando que el DDST es la mejor herramienta para la detección fenotípica⁽²³⁾. Para el caso de DC los estudios son más desfavorables y hallan bajos niveles de sensibilidad y especificidad⁽²⁸⁾. Por el contrario un número mayor de investigadores respaldaron el E-test IP/IPI como método de referencia,⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽²²⁾ motivo por el cual fue tomado como patrón para el presente estudio.

Los aislamientos identificados como productores de MBL presentaron una relación IP/IPI ≥ 8 conforme a lo establecido por los autores mencionados, además estos aislamientos presentaron una CMI >16 mg/l para Imipenem cumpliendo también con los criterios de los detractores de la técnica⁽²³⁾.

Aproximadamente la mitad de todos aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenemes obtenidos en el HRL durante el periodo de estudio fueron ocasionados por cepas productoras de MBL (41,7%). lo cual es preocupante por el potencial de diseminación, los niveles de corresponsión y la letalidad que estas presentan. Asimismo con respecto a los aislamientos resistentes a carbapenémicos que no produjeron MBL podemos sugerir la ocurrencia de otros mecanismos como bombas de eflujo o mutaciones en el gen OprD, que resultan en porinas con reducida afinidad por el imipenem⁽³¹⁾⁽³²⁾.

La frecuencia de MBL con respecto a los 92 aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidos el 2014 fue 10 (10,9%) lo cual coincide con Díaz (2008), quien tuvo 13(6,9%) aislamientos de este tipo de microorganismos en el Hospital Guillermo Almenara Irigoyen. Essalud, Lima, Perú. Así también con lo encontrado por Cejas (2008) con 18(14%)⁽³³⁾ y Gonzales (2013) con 8(15,7%)⁽³⁴⁾; estudios realizados en Argentina y Lima respectivamente. Sin embargo existen diferencias en nuestros resultados con lo encontrado por estudios realizados en Brasil y países asiáticos donde se tienen frecuencias que van desde el 30% a más del 50%⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾. Esta diferencia de resultados se puede explicar debido a la realidad epidemiológica distinta a la nuestra donde se realizaron dichos estudios, debido a que en Asia y Brasil los reportes de cepas resistentes a carbapenémicos productoras de MBL en hospitales se remontan a 1991 y 2002, respectivamente⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾, a diferencia de lo que ocurre en nuestro País, donde los primeros reportes de este tipo de resistencias datan desde 2008⁽³⁴⁾⁽³⁸⁾⁽⁴¹⁾. Por ello es coherente que la frecuencia de los casos vaya acorde al tiempo en el que se instauraron este tipo de microorganismos en un determinado lugar. Además la presión selectiva ejercida por el esquema antibiótico empleado, es un factor a tomar en cuenta debido a que bajo una realidad epidemiológica y experiencia distinta es frecuente el uso de algunos antibióticos poco o no empleados en otros lugares. Pudiendo presumir que hace algunos años los esquemas empleados en Japón y Brasil fueron distintos a los del Perú⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾, de modo que a medida que fuimos adoptando el esquema de tratamiento antibiótico de estos países considerados como "referentes" también fuimos adquiriendo los problemas inherentes a ello, como la selección de microorganismos multiresistentes.

Los aislamientos de *P. aeruginosa* productoras de MBL presentaron resistencia a la ceftazidima y sensibilidad al

Colistín, lo cual coincide con lo registrado por Rodríguez et al. (2010) en España⁽⁴⁴⁾ y Gonzales et al. (2013) en Perú⁽³⁴⁾; Si bien las MBL no hidrolizan eficientemente al aztreonam, por lo cual no son capaces de conferir resistencia a este antibiótico- en esta investigación se obtuvieron 3(30%) aislamientos resistentes a este, en comparación con 6 (75%) y 1(11,1%) registrado en los dos estudios antes mencionados. Por lo tanto la resistencia a este antibiótico no resultó ser un buen indicador de MBL; sin embargo, lo que manifiestan Walsh et al. (2005)⁽¹⁴⁾ es que la resistencia a dicho agente no descarta su presencia. En este caso, la resistencia a este antibiótico estaría mediada por otro mecanismo, no analizado en el presente estudio, como por ejemplo, la presencia de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) o sobre expresión de un sistema de eflujo⁽¹⁰⁾. Los aislamientos de *P. aeruginosa* en las que se detectó MBL provinieron de pacientes hospitalizados donde el 70% correspondieron al sexo masculino, coincidiendo con el 69,76 % registrado por Díaz (2008)⁽⁴¹⁾. El grupo etario más afectado fue el adulto mayor con 50%, cifras que coinciden con el 61,53 % hallado por este mismo autor. Estos resultados se podrían explicar por la mayor predisposición que tiene el adulto mayor a adquirir infecciones y complicaciones debido a que su sistema inmunológico pierde eficacia, por este motivo la colonización en ellos es más frecuente pudiendo ser un factor que contribuya a la diseminación de este microorganismo⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾.

Los aislamientos de *P. aeruginosa* productoras de MBL en su gran mayoría procedieron de la UCI 4(40%), a diferencia de lo encontrado por Díaz (2008) en el Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, donde el mayor número de aislamientos fue en Medicina Interna 4 (30,8 %) ⁽⁴¹⁾. Los aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos detectadas en la UCI fueron 12 (35%), de estas 4 (33,3%) fueron productoras de MBL a diferencia del estudio que realizaron Cesario et al (2009) en el hospital Universitario de Urubaldia -Brasil, hallando 33 (76,7%) ⁽⁴⁸⁾. En este sentido la frecuencia observada en los distintos servicios está directamente relacionada al esquema de tratamiento diferenciado por áreas, al protocolo de limpieza y desinfección y al estado portador sano de estos microorganismos por parte del personal de salud.

Concluimos que la frecuencia de MBL en cepas resistentes a carbapenemes es elevada, y que estas se caracterizaron por conferir multiresistencia a *P. aeruginosa*. Los aislamientos se presentaron en su mayoría en UCI procedentes de secreciones bronquiales. El método de DDST fue el más se aproximó al E-test con elevados niveles de especificidad y podría emplearse por su disponibilidad y bajo costo. La susceptibilidad a aztreonam no es un buen indicador probablemente a la corresponsión con BLEE. Recomendamos continuar la vigilancia de MBL y ampliarla a otras bacterias sobretodo en aislamientos de UCI debido a que podría aumentar en los próximos años y convertirse en la principal causa de resistencia a carbapenemes.

CONFLICTO DE INTERESES:

Parte de los datos obtenidos en el presente estudio serán presentados por uno de los autores como tesis de pregrado en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Tümmler B, Wichmann L, Klockgether J, Cramer N. Advances in understanding *Pseudomonas*. F1000Prime Rep. 2014 Jan;6:9.
- Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El Jaziri M. The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. Biomed Res Int. 2015 Jan;1:759348.
- Sousa AM, Pereira MO. *Pseudomonas aeruginosa* Diversification during Infection Development in Cystic Fibrosis Lungs-A Review. Pathog (Basel, Switzerland) [Internet]. 2014 Jan [cited 2015 May 6];3(3):680–703. Disponible de: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4243435&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Bălăsoiu M, Bălăsoiu AT, Mănescu R, Avramescu C, Ionete O. *Pseudomonas aeruginosa* resistance phenotypes and phenotypic highlighting methods. Curr Heal Sci J. 2014 Jan;40(2):85–92.
- De Gante-Martínez E, De Gibes-Nuñez J. *Pseudomonas Aeruginosa* y la Implicación de los Mecanismos de Resistencia. Soc Médica del Hosp Gen Culiacán “Dr Bernardo J Gastélum.” 2011;5(3):80–5.
- Lebeque Pérez Y, Morris Quevedo HJ, Calás Viamonte N. Infecciones nosocomiales: incidencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Cubana Med [Internet]. 1999, Editorial Ciencias Médicas; 2006 [cited 2014 Dec 3];45(1). Disponible de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232006000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- El Solh AA, Alhajhusain A. Update on the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J Antimicrob Chemother. 2009 Aug;64(2):229–38.
- Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2009 Oct [cited 2014 Jul 30]; 22(4):582–610. Disponible de: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2772362&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Montesinos-Sanchis E, Moraga-Llop FA, Soler-Palacin P, Oliveras-Arenas M, Larrosa Escartín MN, Martínez Gómez X, et al. [Carbapenem antibiotics in hospitalised paediatric patients. Adherence to a therapeutic protocol]. Enferm Infecc Microbiol Clin. Elsevier; 2014 Dec;32(10):647–53.
- Schweizer HP. Efflux as a mechanism of resistance to antimicrobials in *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria: unanswered questions. Genet Mol Res. 2003 Jan;2(1):48–62.
- Moreno K. Carbapenémicos: Tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. Rev MEDICA COSTARICA Y Centroam LXX. 2013;608(70):599–605.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007 Jul;20(3):440–58, table of contents.
- Liu C-C, Zhai L, Shi Y, Yang K-W. Purification of metallo-β-lactamase CcrA from *Bacteroides fragilis* with salting-out method. Brazilian Arch Biol Technol. Tecpar; 2013 Oct;56(5):811–6.
- Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-β-lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Rev. 2005 Apr;18(2):306–25.
- Chouchani C, Marrakchi R, Ferchichi L, El Salabi A, Walsh TR. VIM and IMP metallo-β-lactamases and other extended-spectrum β-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from environmental samples in a Tunisian hospital. APMS [Internet]. 2011 Oct [cited 2015 Jun 11];119(10):725–32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21917010>
- Amudhan MS, Sekar U, Kamalanathan A, Sekar Balaraman. blaIMP and blaVIM mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. J Infect Dev Ctries J Infect Dev Ctries. 2012;11(6):757–62.
- Fallah F, Taherpour A, Borhan RS, Hashemi A, Habibi M, Sajadi Nia R. Evaluation of Zataria MultiFlora Boiss and Carum copticum antibacterial activity on IMP-type metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. Ann Burns Fire Disasters. 2013 Dec;26(4):193–8.
- Cusicanqui LÁC, Véga JR, Arrasco RAP, Campos NR. Infección Intrahospitalaria por Bacterias GRAM Negativas No Fermentadoras en los Pacientes Hospitalizados en los Servicios de UCI-UCIN del Hospital Regional Lambayeque 2014 [Internet]. Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque. 2015 [cited 2016 Feb 27]. Disponible de: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/21>
- Ventura G, Sacsquispe R. Manual de procedimientos de obtención de muestras para el diagnóstico bacteriológico e infecciones intrahospitalarias. Jesus Maria . Lima - Peru; 2002. p. 27.
- Muñoz A, Duarte C. Manual de procedimientos para la determinación de susceptibilidad antibiótica en patógenos de importancia hospitalaria. 2012. p. 30.
- Guevara A, Gamboa A, Machado M, Vera M. Evaluación del ácido etilendiaminotetraacético y del mercaptoacético de sodio en la detección de metallo-β-lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica del disco combinado. Rev la Soc Venez Microbiol. Sociedad Venezolana de Microbiología.; 2010;30(1):11–7.
- Lee K, Yong D, Yum JH, Lim YS, Bolmström A, Qwörnström A, et al. Evaluation of Etest MBL for detection of blaIMP-1 and blaVIM-2 allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol. 2005 Feb;43(2):942–4.
- Khosravi Y, Loke MF, Chua EG, Tay ST, Vadivelu J. Phenotypic detection of metallo-β-lactamase in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. ScientificWorldJournal. 2012 Jan;2012:654939.
- Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2012 Mar [cited 2014 Dec 11]; 18(3):268–81. Disponible de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21793988>
- López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Multiresistencia antibiótica en unidades de críticos. Med Intensiva [Internet]. Elsevier España, S.L.; 2011 [cited 2014 Dec 2];35(1):41–53. Disponible de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-56912011000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Gallego L, Canduela MJ, Sevillano E, Pujana I, Calvo F, Umanan A, et al. Detección de carbapenemasas en clones de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. Elsevier; 2004 May 1 [cited 2016 Mar 1];22(05):262–6. Disponible de: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-deteccion-carbapenemasas- clones-acinetobacter-baumannii-i-13059818>
- Ratkai C, Quinteira S, Grosso F, Monteiro N, Nagy E, Peixe L. Controlling for false positives: interpreting MBL Etest and MBL combined disc test for the detection of metallo-beta-lactamases. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2016 Mar 1]; 64(3):657–8. Disponible de: <http://jac.oxfordjournals.org/content/64/3/657.full>
- Perozo Mena AJ, Castellano González MJ, Chávez Kathyuska T, Ling Toledo E, Arraiz N. Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. Kasmera [Internet]. Universidad del Zulia; [cited 2015 Sep 30];41(2):115–26. Disponible de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222013000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Jimeno A, Alcalde MM, Blázquez A. [Epidemic outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem-resistant producing metallo-beta-lactamase]. Rev clínica española [Internet]. Elsevier; 2011 Apr 1 [cited 2016 Mar 1];211(4):187–91. Disponible de: <http://www.revlinesp.es/es/deteccion-un-brote-epidemicopor/articulo/S0014256511000518/>
- Pérez IA, García CP, Poggi MH, Braun JS, Castillo VC, Román JC, et al. Presencia de metallo-β-lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem. Rev Med Chil [Internet]. Sociedad Médica de Santiago; [cited 2015 Oct 28]; 136(4):423–32. Disponible de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872008000400002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Farra A, Islam S, Strålfors A, Sörberg M, Wretling B. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem. Int J Antimicrob Agents. 2008 May;31(5):427–33.
- Santella G, Pollini S, Jean-Denis D, Marisa A, Gabriel G, Rossolini GM, et al. Resistencia a carbapenemes en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*: un ejemplo de interacción entre distintos mecanismos. Panam Salud Publica. 2011;30(6):545–9.
- Cejas D, Almuzara M, Santella G, Tuduri A, Palombarani S, Figueroa S, et al. Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a imipenem en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en un hospital de Buenos Aires. Rev Argent Microbiol [Internet]. Asociación Argentina de Microbiología; [cited 2015 Oct 29]; 40(4):238–45. Disponible de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000400012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Gonzales-Escalante E, Vicente-Taboada W, Champi-Merino R, Soto-Pastrana J, Flores-Paredes W, Lovera-García M, et al. Metallo-β-lactamasas en aislamientos clínicos de *pseudomonas aeruginosa* en Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. Instituto Nacional de Salud; 2013;30(2):241–5.
- Marra AR, Pereira CAP, Gales AC, Menezes LC, Cal RGR, de Souza JMA, et al. Bloodstream infections with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology, microbiology, and clinical outcomes. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2006 Jan [cited 2016 Mar 10];50(1):388–90. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1346770&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Inacio HSM, Bomfim MRQ, França RO, Farias LM, Carvalho MAR, Serufo JC, et al. Phenotypic and genotypic diversity of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from bloodstream infections recovered in the Hospitals of Belo Horizonte, Brazil. Chemotherapy [Internet]. 2014 Jan [cited 2016 Mar 10];60(1):54–62. Disponible de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25402327>
- Salimi F, Eftekhari F. Prevalence of blaIMP and blaVIM gene carriage in metallo-β-lactamase-producing burn isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Tehran. Turkish J Med Sci [Internet]. 2014 Jan [cited 2016 Mar 10];44(3):511–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25558658>
- Gonzales-Escalante E. Metallo-β-lactamasas: ¿el fin de los β-lactámicos? Rev Peru Epidemiol. Sociedad Peruana de Epidemiología; 2012;16(3):01–8.

39. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(4):315–21.
40. Yamasaki K, Komatsu M, Yamashita T, Shimakawa K, Ura T, Nishio H, et al. Production of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase and IMP-1 metallo beta-lactamase by five Gram-negative bacilli: survey of clinical isolates from seven laboratories collected in 1998 and 2000, in the Kinki region of Japan. *J Antimicrob Chemother.* 2003 Mar;51(3):631–8.
41. Díaz Tello JA. Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenemas en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008 [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Programa Cybertesis PERÚ; 2008 [cited 2015 Oct 29]. Disponible de: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/243>
42. Neves PR, Mamizuka EM, Levy CE, Lincopan N. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: um problema endêmico no Brasil. *J Bras Patol e Med Lab.* SBPC, SBP, SBC; 2011 Aug;47(4):409–20.
43. Kim YJ, Jun YH, Kim YR, Park KG, Park YJ, Kang JY, et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. *BMC Infect Dis.* 2014 Jan;14:161.
44. Rodríguez M-C, Ruiz del Castillo B, Rodríguez-Mirones C, Romo M, Monteagudo I, Martínez-Martínez L. [Molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Cantabria, Spain, producing VIM-2 metallo-beta-lactamase]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2010 Feb [cited 2015 Oct 27];28(2):99–103. Disponible de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19409672>
45. Goodwin JS, Searles RP, Tung KS. Immunological responses of healthy elderly population. *Clin Exp Immunol.* 1982 May;48(2):403–10.
46. Canut A. Infecciones en residencias de ancianos: microorganismos más frecuentes, uso de antimicrobianos y resistencias bacterianas. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2007 Jan;42:27–38.
47. Bisso Andrade A. Antibioticoterapia en las infecciones graves. *Acta Médica Peru. Colegio Médico del Perú;* 2011;28(1):27–38.
48. Cezário RC, Duarte De Morais L, Ferreira JC, Costa-Pinto RM, da Costa Darini AL, Gontijo-Filho PP. Nosocomial outbreak by imipenem-resistant metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an adult intensive care unit in a Brazilian teaching hospital. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2009 May [cited 2015 Oct 29];27(5):269–74. Disponible de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19386392>

Revisión de pares:

Recibido:11/03/16 Aceptado: 18/03/16