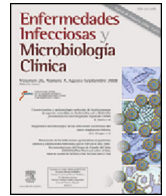




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Emergencia de *Providencia rettgeri* NDM-1 en dos departamentos de Colombia, 2012-2013



Sandra-Yamile Saavedra-Rojas*, Carolina Duarte-Valderrama, María-Nilse González-de-Arias y María Victoria Ovalle-Guerro

Instituto Nacional de Salud. Grupo de Microbiología. Programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana en microorganismos causantes de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud. Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia. Dirección en redes en Salud Pública, Bogotá, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 11 de diciembre de 2014

Aceptado el 20 de mayo de 2015

On-line el 27 de junio de 2015

Palabras clave:

Providencia rettgeri

Carbapenemasas

NDM

R E S U M E N

Introducción: En Colombia, entre 2012 y 2013 se identificaron 19 aislamientos con NDM, de los cuales 14 correspondían a *Providencia rettgeri*.

Métodos: Los aislamientos se identificaron con Vitek-2, y la sensibilidad antimicrobiana se evaluó por microdilución en caldo. Las carbapenemasas se determinaron fenotípicamente con test de Hodge modificado y pruebas de sinergia con EDTA/SMA y APB, genotípicamente por PCR usando iniciadores específicos para KPC, GES, IMP, VIM, OXA-48 y NDM, y las relaciones genéticas se establecieron con DiversiLab.

Resultados: Los aislamientos fueron resistentes a carbapenémicos, cefalosporinas de tercera generación, piperacilina-tazobactam, amikacina, gentamicina y tigeciclina, excepto a aztreonam. Todos los aislamientos fueron positivos para EDTA/SMA y NDM-1 y negativos para APB y otras carbapenemasas. Se definieron 2 grupos genéticos: grupo 1 (n=9 aislamientos), grupo 2 (n=4 aislamientos), y un aislamiento no relacionado genéticamente.

Conclusión: Este trabajo describe la circulación de grupos de *P. rettgeri* productores de NDM-1 en Colombia.

© 2015 Elsevier España, S.L.U.

y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Emergence of *Providencia rettgeri* NDM-1 in two departments of Colombia, 2012-2013

A B S T R A C T

Introduction: In Colombia, between 2012 and 2013, 19 isolates with NDM were identified, of which 14 corresponded to *Providencia rettgeri*.

Methods: The isolates were identified by Vitek-2, and antimicrobial susceptibility was evaluated by broth microdilution. The carbapenemase phenotypes were determined with Modified Hodge Test and synergy tests with EDTA/SMA and APB, the genotypes by PCR using specific primers for KPC, GES, IMP, VIM, OXA-48 and NDM, and genetic relationships were established with DiversiLab.

Results: The isolates were resistant to carbapenems, third-generation cephalosporins, piperacillin-tazobactam, amikacin, gentamicin and tigecycline, except aztreonam. All isolates were positive for EDTA/SMA and NDM-1, and negative for APB and other carbapenemases. Two genetic groups, group 1 (n=9 isolates), group 2 (n=4 isolates) and an isolate defined as not genetically related.

Conclusion: This work describes the circulating of NDM-1-producing *P. rettgeri* in Colombia.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Keywords:

Providencia rettgeri

Carbapenemases

NDM

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ssaavedra@ins.gov.co (S.-Y. Saavedra-Rojas).

Introducción

Providencia rettgeri es una de las especies del género *Providencia* spp. más relevantes a nivel clínico. Este patógeno oportunista es causante de múltiples infecciones, como: infecciones urinarias, gastrointestinales y bacteriemias, entre otras¹. NDM fue descrita por primera vez en enero de 2008, y esta enzima se ha propagado rápidamente a nivel mundial, detectándose principalmente en enterobacterias y, en menor proporción, en *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp.².

En Colombia, NDM se describió por primera vez en 2012, en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* causantes de un brote³. Desde este reporte hasta diciembre de 2013, el programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana en microorganismos causantes de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) del Instituto Nacional de Salud (INS), a través del Grupo de Microbiología (Laboratorio Nacional de Referencia), ha confirmado 19 casos nuevos de aislamientos productores de NDM (14 *P. rettgeri*, 3 *Acinetobacter baumannii*, uno *Pseudomonas aeruginosa* y uno *K. pneumoniae*, este último co-productor de NDM y KPC), observándose que *P. rettgeri* NDM equivale a más del 70% de aislamientos productores de NDM en Colombia.

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de este reporte es describir las características microbiológicas y moleculares de aislamientos de *P. rettgeri* NDM identificados entre 2012 y 2013 en Colombia.

Materiales y métodos

Antecedentes

El programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana en microorganismos causantes de IAAS del INS vigila diversos eventos de interés en salud pública, e incluye la vigilancia nacional por laboratorio de resistencia a carbapenémicos, que inició en septiembre de 2012. Desde esta fecha hasta diciembre de 2013 se han recibido 749 aislamientos (483 enterobacterias, 211 *Pseudomonas* spp. y 55 *Acinetobacter* spp.) para confirmación de carbapenemasas, detectándose estas enzimas en 529 (70,6%) aislamientos (343 enterobacterias, 136 *Pseudomonas* spp. y 50 *Acinetobacter* spp.). La carbapenemasa más detectada en enterobacterias fue KPC (90,1%; n = 309 aislamientos), en *Pseudomonas* spp. fue VIM, seguido de KPC (VIM: 70,6%; n = 96 aislamientos, y KPC: 22,1%; n = 30 aislamientos), y en *Acinetobacter* spp. fue OXA-23 (86%; n = 43 aislamientos); los casos de NDM en este periodo fueron 3,6% (n = 19), y de estos el 73,7% (n = 14) fueron *P. rettgeri*.

Aislamientos bacterianos

El Grupo de Microbiología del INS recibió 14 aislamientos de *P. rettgeri*, recuperados en 5 hospitales de 3 ciudades localizadas en 2 departamentos: hospital H1 (Bucaramanga-Santander), hospital H2 «centro ambulatorio» (Madrid-Cundinamarca) y hospitales H3-H5 (Bogotá D.C.-Cundinamarca).

Caracterización fenotípica

La identificación a nivel de género y especie se confirmó usando Vitek-2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) y la sensibilidad antimicrobiana se evaluó usando microdilución en caldo (Sensititre panels; TREK Diagnostic Systems, Westlake, Ohio, EE.UU.). Los resultados obtenidos se interpretaron según los parámetros establecidos por el CLSI⁴, excepto para tigeciclina, para la cual se usaron los criterios EUCAST (puntos de corte disponibles en http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/versión 5.0). La detección fenotípica de carbapenemasas se realizó utilizando: a) test de

Hodge modificado (THM)⁽⁴⁾, y b) pruebas de sinergia de doble disco usando inhibidores específicos para carbapenemasas clase B (ácido etilendiaminotetraacético/ácido mercaptoacético [EDTA/SMA]) y para carbapenemasas clase A (ácido fenil borónico [APB])

Caracterización genotípica

La detección de genes codificantes de betalactamasas se realizó por PCR convencional, para *bla*_{KPC}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}⁵, *bla*_{NDM}⁶, *bla*_{IMP}⁷, *bla*_{OXA-48}⁸, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV}⁹; ambas cadenas de los productos de amplificación de carbapenemasas fueron secuenciadas usando un secuenciador automático (servicio de secuenciación MacroGen, Corea, ABI PRISM® 3730XL de Applied Biosystem). La genotipificación se realizó con Diversilab (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) usando el kit bacterial, y los resultados se analizaron con la correlación de Kullback Leibler (basado en la presencia y ausencia de bandas más que en la intensidad); los aislamientos con similitud >95% fueron considerados indistinguibles; con similitud de 93-95%, cercanamente relacionados, y con similitud <93%, diferentes.

Resultados

Aislamientos bacterianos

P. rettgeri fue recuperado en pacientes con rango de edad entre 16 a 88 años, recuperándose principalmente en hombres (85,7%; n = 12) y en muestras de orina (71,4%; n = 10) asociadas tanto a infección como a colonización (tabla 1). Nueve aislamientos provenían del hospital H1, en su mayoría clasificados como colonización (n = 6), aislados en diferentes servicios de la institución, entre 2012 y 2013 (tabla 1). Los 5 aislamientos restantes se aislaron en 2013, en los hospitales H2 a H5, con un aislamiento por institución, excepto en H3, que presentó 2 aislamientos (tabla 1).

Caracterización fenotípica

Los aislamientos fueron resistentes a todos los antimicrobianos evaluados carbapenémicos, cefalosporinas de tercera generación, piperacilina-tazobactam, ampicacina, gentamicina y tigeciclina, excepto a aztreonam (tabla 1). Todos los aislamientos fueron positivos para EDTA/SMA, negativos para APB, y únicamente 4 aislamientos fueron positivos para THM (tabla 1).

Caracterización genotípica

Todos los aislamientos fueron positivos para NDM-1, 13 para TEM y 4 para CTX-M (tabla 1). Ningún aislamiento amplificó KPC, GES, IMP, VIM, OXA-48 ni SHV. La tipificación con Diversilab permitió definir 2 grupos clonales de 9 (grupo 1) y 4 (grupo 2) aislamientos, respectivamente (fig. 1), y un aislamiento que no está genéticamente relacionado con el resto. El grupo 1 está conformado por 9 aislamientos (8 indistinguibles y uno cercanamente relacionado), todos del hospital H1, mientras que el grupo 2 lo componen 3 aislamientos indistinguibles y uno cercanamente relacionado de los hospitales H2 al H5 (fig. 1). Todos los aislamientos del grupo 2 fueron positivos para CTX-M.

Discusión

En Colombia, circulan diversos tipos de carbapenemasas, y es considerada una región endémica para carbapenemasas tipo KPC, detectadas principalmente en enterobacterias y *Pseudomonas* spp.^{10,11}, VIM principalmente identificada en *Pseudomonas* spp.¹¹, y OXA-23 en *Acinetobacter baumannii*¹², y aunque en Colombia NDM

Tabla 1
Características clínicas, fenotípicas y genotípicas de los aislamientos

Aislamiento	Fecha aislamiento (mes/año)	Hospital	Paciente (sexo/ edad en años)	infección/ colonización	Servicio	Muestra	Concentración inhibitoria mínima (µg/ml)										Pruebas fenotípicas			Betalactamasas	
							IMP	MEM	ERT	DOR	AZT	CAZ	CTX	PTZ	GEN	AMK	TGC	THM	EDTA/ SMA		APB
RB-110	nov-12	H1	M/16	Colonización	U. Quemados	Orina	≥ 8	8	2	8	≤2	16	64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	2	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-111	nov-12	H1	M/75	Colonización	Ambulatorio	Orina	≥ 8	4	2	4	≤2	16	32	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	2	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-151	ene-13	H1	F/58	Colonización	Urgencias	Orina	≥ 8	4	4	8	≤2	≥ 32	64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	2	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-152	dic-12	H1	M/72	Colonización	Urgencias	Sec. bronquial	≥ 8	≥ 8	4	≥ 8	≤2	32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	8	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-153	ene-13	H1	M/38	Colonización	Urgencias	Orina	≥ 8	4	2	≥ 8	≤2	16	64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	4	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-350	SD	H2	M/73	Colonización	SD	Orina	≥ 8	≥ 8	4	≥ 8	≤2	32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	4	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM, CTX-M
RB-351	mar-13	H3	M/77	Infección	Med. Interna	Orina	4	≤1	1	1	≤2	16	16	≥ 128/4	8	≤4	2	Neg	Pos	Neg	NDM
RB-352	mar-13	H4	M/88	Infección	Med. Interna	Orina	≥ 8	≥ 8	≥ 4	≥ 8	≤2	≥ 32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	4	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM, CTX-M
RB-353	abr-13	H3	M/60	Infección	Med. Interna	Orina	≥ 8	≥ 8	≥ 4	≥ 8	≤2	≥ 32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	32	8	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM, CTX-M
RB-354	ene-13	H5	M/56	Infección	Ortopedia	Sec. Her. Quir.	≥ 8	≥ 8	≥ 4	≥ 8	≤2	32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	8	Neg	Pos	Neg	NDM, TEM, CTX-M
RB-417	may-13	H1	F/51	Infección	Neurocirugia	Orina	≥ 8	8	4	8	≤2	32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	4	Pos	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-418	may-13	H1	M/74	SD	Urgencias	Orina	≥ 8	≥ 8	≥ 4	≥ 8	≤2	32	≥ 64	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	2	Pos	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-698	oct-13	H1	M/32	infección	SD	Sec. abdominal	≥ 8	≤1	0,5	4	≤2	8	16	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	1	Pos	Pos	Neg	NDM, TEM
RB-699	oct-13	H1	M/18	colonización	SD	Sec. de dren	≥ 8	2	0,5	2	≤2	16	32	≥ 128/4	≥ 16	≥ 64	4	Pos	Pos	Neg	NDM, TEM

AMK: amicacina; APB: prueba de sinergia con inhibidor ácido fenil borónico; CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; DOR: doripenem; EDTA/SMA: prueba de sinergia con inhibidor (ácido etilendiaminotetraacético/ácido mercaptoacético EDTA/SMA; ERT: ertapenem; F: femenino; GEN: gentamicina; IMP: imipenem; M: masculino; Med. Interna: medicina interna; MEM: meropenem; Neg: negativo; Pos: positivo; PTZ: piperacilina-tazobactam; SD: sin datos; Sec. Her. Quir: Secreción herida quirúrgica; Sec: secreción; TGC: tigeciclina; THM: test de Hodge modificado; U. Quemados: unidad de quemados.

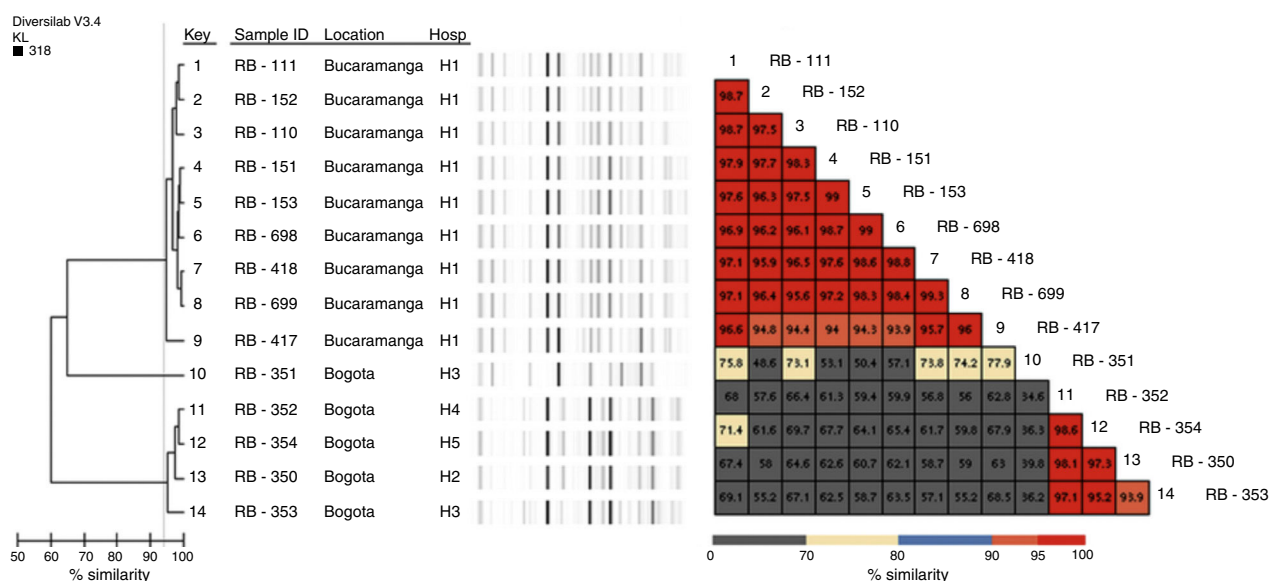


Figura 1. Dendrograma: imagen del gel virtual y matriz de similitud de aislamientos de *P. rettgeri* NDM-1 de Colombia tipificados con Diversilab.

se detectó hace menos de 5 años³, actualmente su identificación se ha incrementado a nivel nacional de acuerdo con los datos de vigilancia del INS (estos datos no se muestran), siendo esta situación de gran preocupación por la rapidez con que se ha diseminado esta carbapenemasa a nivel mundial y la posibilidad de que en nuestro país este mecanismo de resistencia se vuelva de alta prevalencia, como ha ocurrido con otras carbapenemasas.

En Latinoamérica, NDM se detectó por primera vez en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en Guatemala¹³ y Colombia³; actualmente esta enzima se ha aislado en diferentes microorganismos gramnegativos en la región, incluyendo *P. rettgeri*, que se ha identificado en Argentina, Brasil, México y Uruguay¹³, siendo este el primer reporte en Colombia. La detección temprana de carbapenemasas en el laboratorio de microbiología a través del uso de pruebas de tamizaje es importante para prevenir la diseminación de estos determinantes de resistencia en el ambiente hospitalario. En este estudio se observó que la identificación de carbapenemasas clase B (tipo NDM) usando la prueba con EDTA/SMA fue 100% sensible y específica, mientras que el THM solo logró detectar menos del 30% de estos aislamientos, lo cual es acorde con lo reportado por la literatura^{2,4}.

La mayoría de microorganismos productores de carbapenemasas presentan perfil de multiresistencia, limitando las opciones de tratamiento, por lo cual la colistina se ha convertido en uno de los antimicrobianos de elección para tratar estas infecciones². Sin embargo, en el caso de *P. rettgeri* con NDM, colistina no puede ser considerado como tratamiento por la resistencia natural de este microorganismo¹⁴. En este estudio, la mayoría de aislamientos presentaron fenotipo de multiresistencia y únicamente fueron sensibles a aztreonam; esta característica está siendo estudiada como una posible estrategia para tratar estos pacientes mediante el uso de una combinación de aztreonam y avibactam (inhibidor de betalactamasas NXL104)^{2,15}.

Este estudio describe la diseminación de 2 grupos clonales, uno a nivel intrahospitalario de *P. rettgeri* NDM ocurrido en una institución de Bucaramanga (H1) y otro interhospitalario de *P. rettgeri* NDM y CTX-M identificado en 4 instituciones (3 de Bogotá y una de Madrid [ciudad ubicada a 28 km de Bogotá]). En Colombia previamente se había descrito la ocurrencia de un brote por aislamientos con NDM³. Sin embargo, esta es la primera vez que se describe la propagación de un grupo clonal en varias instituciones, y aunque no se estableció relación entre los pacientes, es importante

establecer una vigilancia epidemiológica y de laboratorio permanente y articulada con el fin de tomar medidas de control adecuadas para prevenir diseminación de aislamientos con NDM en instituciones de estas áreas geográficas.

En conclusión, en Colombia se observa la circulación de 2 grupos genéticos de *P. rettgeri* NDM-1. Por lo tanto, es importante fortalecer la vigilancia a nivel de laboratorio para detectar estas enzimas, lo cual permitirá tomar medidas necesarias para controlar la propagación de estos determinantes de resistencia a nivel hospitalario.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A los Laboratorios Departamentales de Salud Pública (LDSP) de Cundinamarca (Amparo Leonor Génecco Rodríguez), LDSP de Santander (Leonor Chacón de Mendieta) y Secretaría Distrital de Salud de Bogotá (María del Socorro Chala). Al Equipo IAAS (Infecciones Asociadas a la Atención en Salud). Subdirección de vigilancia y Control. Dirección vigilancia y análisis del riesgo. Instituto Nacional de Salud. A las instituciones, Hospital Universitario de Santander E.S.E., Hospital El Tunal E.S.E., Hospital la Victoria E.S.E., Hospital Simón Bolívar E.S.E. y Centro Ambulatorio Gustavo Escallón Cayzedo - Fundación Santa Fe de Bogotá.

Bibliografía

- O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:534–46.
- Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int.* 2014;2014:249856.
- Escobar Pérez JA, Olarte Escobar NM, Castro-Cardozo B, Valderrama Márquez IA, Garzón Aguilar MI, Martínez de la Barrera L, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1957–60.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100-S23. Wayne, PA.
- Monteiro J, Widen RH, Pignatari AC, Kubasek C, Silbert S. Rapid detection of carbapenemase gene by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:906–9.
- Bonnin RA, Naas T, Poirel L, Nordmann P. Phenotypic, biochemical, and molecular techniques for detection of metallo- β -lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2012;50:1419–21.

7. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:321–2.
8. Poiriel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:119–23.
9. Monstein HJ, Ostholm-Balkhed A, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *APMIS.* 2007;115:1400–8.
10. Munoz-Price L, Poiriel L, Bonomo R, Schwaber M, Daikos G, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 2013;13:785–96.
11. Correa A, del Campo R, Perenguez M, Blanco VM, Rodríguez-Baños M, Perez F, et al. Dissemination of high-risk clones of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:2421–5.
12. Villegas MV, Kattan JN, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:2001–4.
13. Organización Mundial de la Salud y Organización Panamericana de la Salud. Actualización epidemiológica: Carbapenemasas tipo New Delhi Metalobetalactamasas (NDM) [consultado 7 Mar 2014]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=24472
14. Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28:638–45.
15. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Zhang J, Maharjan S, Doumith M, et al. Activities of NXL104 combinations with ceftazidime and aztreonam against carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:390–4.