

## Aislamientos de *klebsiellas* productoras de carbapenemasas. Una amenaza en hospitales de Santiago de Cuba

Arnaldo Zayas Illas<sup>1</sup>  
Odalexis Arias Ramos<sup>2</sup>  
Nadine Urgell Chiong<sup>3</sup>  
Dianelys Quiñones Pérez<sup>4</sup>  
Teresa Orberá Ratón<sup>5</sup>  
Miladis Camacho Pozo<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Hospital General Dr. Juan B Zayas Alfonso/Microbiología, Santiago de Cuba, Cuba, arnaldo.zayas@infomed.sld.cu

<sup>2</sup> Hospital Provincial Saturnino Lora/Microbiología, Santiago de Cuba, Cuba, oariasr@infomed.sld.cu

<sup>3</sup> Hospital Ginecobstetrico Mariana Grajales/Microbiología, Santiago de Cuba, Cuba, juan.mi@nauta.cu

<sup>4</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Microbiología, La Habana, Cuba. dia@ipk.sld.cu

<sup>5</sup> Centro de Biotecnología Industrial (CEBI) UO/ Microbiología, Santiago de Cuba, Cuba, torbera@uo.edu.cu

### Resumen:

**Introducción:** El género *Klebsiella* productora de carbapenemasas es un patógeno multirresistente que crea un panorama difícil de manejar al causar infecciones graves y brotes hospitalarios con elevada morbimortalidad. **Objetivo:** Caracterizar aislamientos de *Klebsiella* productoras de carbapenemasas procedentes de hospitales de Santiago de Cuba. **Método:** Se realizó un estudio descriptivo longitudinal multicéntrico, que incluyó 33 aislamientos de *Klebsiella* procedentes de muestras clínicas de hospitales de la provincia Santiago de Cuba resistentes a carbapenémicos, y productores de enzimas carbapenemasas. La identificación de especies se realizó mediante métodos convencionales. Se determinó la producción de carbapenemasas por el método de sinergia con inhibidores, en placa de agar Mueller-Hinton y se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana mediante disco difusión (Bauer-Kirby). **Resultados:** El total de los aislamientos identificados correspondió a la especie *Klebsiella pneumoniae* y fenotípicamente fueron productores de la enzima metalo carbapenemasa. El mayor porcentaje de aislamientos de dicha especie correspondió a Hospital Saturnino Lora con (58%). Las muestras de mayor frecuencia fueron las heridas quirúrgicas (30%) y hemocultivos (27%), los servicios de mayor frecuencia Unidades de Cuidados Intensivos (33%), Cirugía (18%) y Neonatología (15%). La resistencia frente a antibióticos: betalactámicos, sulfametoxazol, gentamicina fue de (100%), amikacina (88%) y ciprofloxacina (91%) fueron los antimicrobianos más activos. **Conclusiones:** Se evidenció la importancia *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa en los hospitales del estudio debido a la extrema resistencia de los aislamientos. El aislamiento de este patógeno en muestras clínicas constituye una amenaza ante las escasas opciones terapéuticas, para el tratamiento clínico de los pacientes afectados.

**Palabras clave:** *Klebsiella* productora de carbapenemasas, microorganismo multirresistente.

## I. INTRODUCCIÓN

La prevalencia de microorganismos multirresistentes constituye una de las mayores amenazas para la salud pública a nivel mundial y se asocia con un incremento de la morbilidad y mortalidad por infecciones en el entorno hospitalario (1). La Organización Mundial de la Salud ha elaborado un plan de acción para reforzar el conocimiento y la vigilancia de la resistencia antimicrobiana; que incluye entre los microorganismos multirresistentes de prioridad crítica, la familia *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenémicos (2).

*Klebsiella* es un importante patógenos gramnegativos perteneciente a las enterobacterias, que está implicado en una variedad de infecciones nosocomiales como: neumonías, infecciones del torrente sanguíneo, piel/tejidos blandos, etc. Además, posee la capacidad de adquirir mecanismos de resistencia a diferentes grupos de antimicrobianos (3). El grave problema de la multirresistencia en *Klebsiella* se debe a la diseminación genes de resistencia a los antibióticos ubicados en elementos genéticos móviles, como plásmidos y transposones, capaces de propagarse de manera eficiente entre bacterias y huéspedes, dentro y fuera de los hospitales. Estos genes, son portadores de enzimas carbapenemasas tales como KPC y NDM, endémicas en diferentes zonas geográficas del mundo (4) (5). Esta situación se complejiza aún más en el contexto de la pandemia de COVID-19 (6).

La enterobacterias resistentes a carbapenémicos mediada por enzimas carbapenemasas, suelen ser resistentes a muchos otros antibióticos betalactámicos y no betalactámicos, lo que da lugar a aislamientos multirresistentes. Algunos de los nuevos antimicrobianos no son activos contra *Klebsiella* productora de metalo carbapenemasa; patógeno para el que son necesarias la combinación de antibióticos en el tratamiento (7). El reconocimiento temprano de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa a través de la vigilancia microbiológica y los estudios epidemiológicos permitirán enfoques oportunos en la prevención de este patógenos considerado una amenaza para la salud pública (8).

En Cuba, *Klebsiella* spp. constituyen uno de los principales patógenos nosocomiales. La vigilancia nacional realizada por el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR/IPK) para la caracterización de dicho patógeno lo ratifica. La detección de enzimas carbapenemasas de tipo KPC y NDM constituye una amenaza para el sistema de salud (9). En Santiago de Cuba se ha notificado de forma esporádica el aislamiento en muestras clínicas de *Klebsiella* productora de carbapenemasas. Pero no existe una vigilancia coordinada entre las unidades de salud, que permita la rápida detección de estos microorganismos. Dada la importancia de una detección de estos patógenos, se realiza este estudio multicéntrico, que permita mostrar el impacto de este microorganismo con mayor valor epidemiológico.

**OBJETIVO:** Caracterizar aislamientos de *Klebsiella* productoras de carbapenemasas procedentes de hospitales de Santiago de Cuba.

## II. MÉTODO

### I. TIPO DE ESTUDIO, MUESTRA

Se realizó un estudio descriptivo longitudinal multicéntrico que incluyó la caracterización de 33 aislamientos de *Klebsiella* sp. procedentes de muestras clínicas, con resistentes a carbapenémicos y productores de enzimas carbapenemasas. Los aislamientos procedían del Hospital General Dr. "Juan B Zayas Alfonso", Hospital Clínico Quirúrgico "Saturnino Lora" y Hospital Ginecobstétrico "Mariana Grajales C." Estos aislamientos fueron enviados al Laboratorio de Microbiología Hospital General Dr. "Juan B Zayas Alfonso", durante el período de Junio 2019-Septiembre 2021.

A. Los aislamientos de *Klebsiella* se recuperaron de muestras clínicas tales como: sangre, secreción endotraqueal, lesión de piel, herida quirúrgica, punta de catéter, etc. La identificación de especies: se realizó por método convencional mediante pruebas bioquímica (10).

## II. DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

Se llevó a cabo por el método de sinergia por aproximación de discos en placas de agar Mueller-Hinton (BIOCEN). Utilizando discos en blanco cargados con ácido fenilborónico (APB) (300µg) (11) y ácido etileno (EDTA) (30µg) con carbapenémico (meropenem) (12).

## III. SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Se realizó por el método de difusión con discos (Bauer-Kirby) según los criterios establecidos por el CLSI (13). Se utilizaron los siguientes antimicrobianos: cefazolina (30 mg), cefoxitina (30 mg), aztreonam (30 mg) piperacilina/tazobactam (0,016-256 mg), ceftazidima (30 mg), cefuroxima (30 mg), ceftriaxone (30 mg), imipenem (10 mg), meropenem (10 mg), gentamicina (10 mg), amikacina (30 mg), ciprofloxacino (5 mg), cefepime (30 mg), sulfametoxazol (25 mg-23,75 mg) (13)

## IV. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se confeccionó un modelo de recolección de datos clínicos-epidemiológicos de pacientes, que permitió la recogida de los datos necesarios para alcanzar los objetivos del estudio.

## III. RESULTADOS

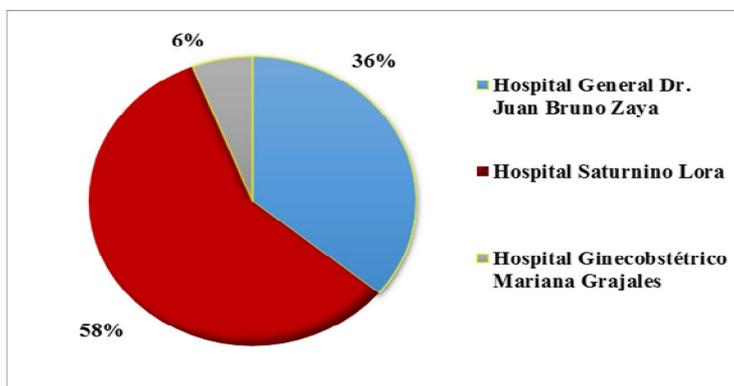
### A. Figuras y tablas

**Tabla 1.** Resultado de prueba de sinergia con doble disco *Klebsiella pneumoniae* (n= 33). Año 2022

Especie de <i>Klebsiella</i> identificada	n	Prueba de sinergia con doble discos			
		APB		EDTA	
		positivo	negativo	positivo	negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33	0	33	33	0

Leyenda: ácido fenilborónico (APB) inhibidor de enzimas de clase A, ácido etileno (EDTA) inhibidor de enzimas de clase B

Todas las *Klebsiella* identificadas correspondieron a la especie *Klebsiella pneumoniae*. La tabla 1, muestra los resultados de la prueba de detección del tipo de carbapenemasa, todos los aislamientos resultaron positivos a la inhibición por EDTA, lo que se corresponde con la producción de metalo carbapenemasas (carbapenemasa de grupo B). Todos los aislamientos fueron confirmados productores de carbapenemasas por el LNR/IPK.



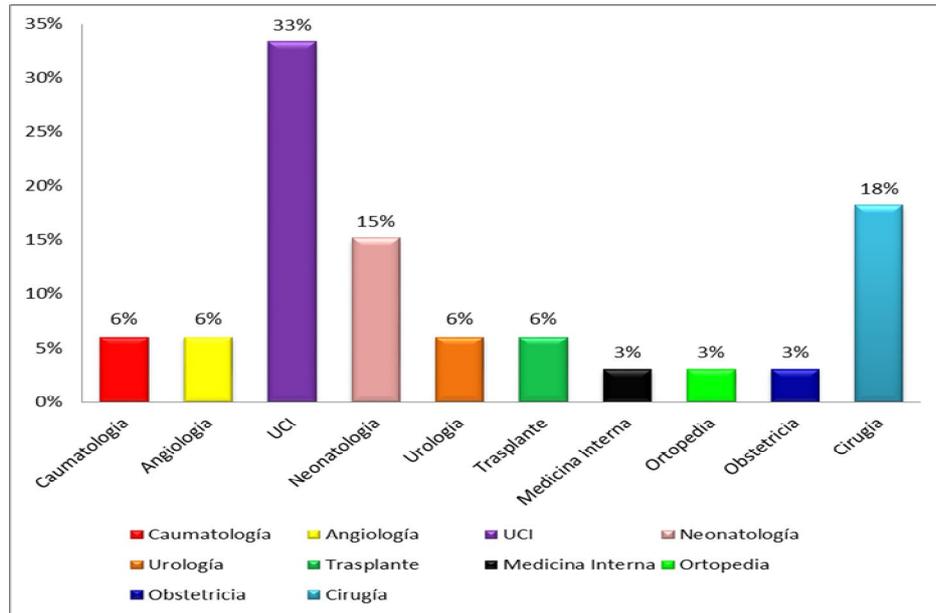
**Figura 1.** Distribución de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* (n=33) según hospitales. Año 2022

En la figura 1, el mayor porcentaje de aislamientos de *klebsiella pnunioniae* correspondió a Hospital "Saturnino Lora" con 58% de aislamientos productores de carbapenemasas. Es importante señalar que aunque el hospital de menor número de aislamientos fue el Hospital Ginecobstétrico "Mariana Grajales" con un 6%. El aislamiento de este patógeno representa una alarma para el equipo de control de infecciones de este centro, por las implicaciones de las infecciones con estos microorganismos multirresistentes.

**Tabla 2.** Distribución *Klebsiella pneumoniae* identificadas en muestras clínicas (n= 33). Año 2022

Muestras	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	%
Herida quirúrgica	10	30
Urocultivo	4	12
Hemocultivo	9	27
Úlceras	1	3
Secreción endotraqueal	5	15
Líquido cefalorraquídeo	1	3
Abscesos	1	3
Lesión de quemaduras	2	6
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>100</b>

En la tabla 2 el mayor número de aislamientos se obtuvo a partir de las heridas quirúrgicas 30% y hemocultivos 27% lo que evidencia las referencias de este patógenos para producir infecciones graves (5)(8). De forma general se evidencia el aislamiento de estos microorganismos en una variedad de muestras clínicas.

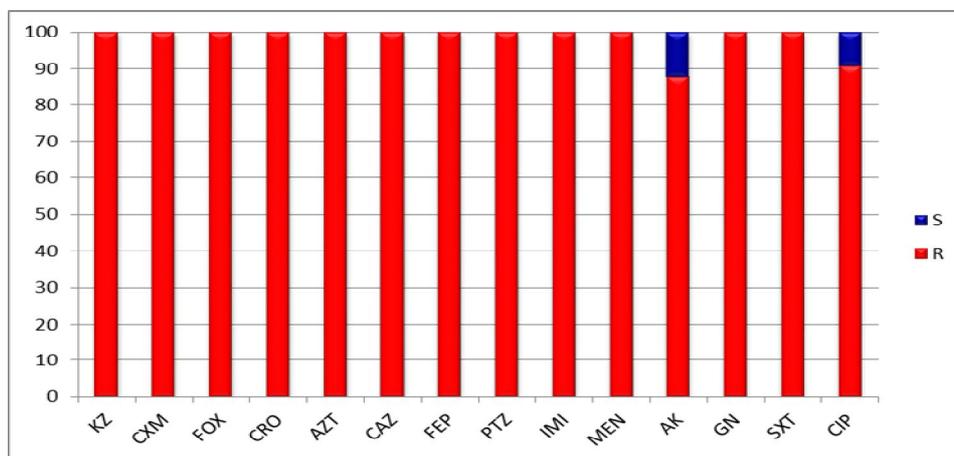


Leyenda: UCI unidad de cuidados intensivos.

**Figura 2.** Distribución de *Klebsiella pneumoniae* por servicio médicos (n= 33) identificadas. Año 2022

La figura 2 muestra que el mayor número de aislamientos se obtuvo en la UCI 33%, seguido de los servicios cirugía 18% y neonatología 15%. Lo que evidencia la importancia de este patógeno como causante de infecciones en pacientes graves.

En la figura 3 se muestra la susceptibilidad de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas frente a los diferentes antimicrobianos. Se aprecia 100% de resistencia frente a antibióticos betalactámicos, sulfametoxazol y gentamicina. Además, muy elevada resistencia para ciprofloxacina 91% y amikacina 88%, siendo este último el de mayor actividad, entre los antimicrobianos probados. Se evidencia la multirresistencia que portan los aislamientos de productores de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa y las pocas opciones para el tratamiento de estas infecciones. Durante la realización del estudio existió déficit de antimicrobianos por lo que no fue posible, contar con mayor número de estos en la realización del antibiograma.



**Leyenda:** *Betalactámicos:* cefazolina (KZ), cefoxitina (FOX), aztreonam (AZT) piperacilina/tazobactan (PTZ), ceftazidima (CAZ), cefuroxima (CXM), ceftriaxone (CRO), cefepime (FEP), imipenem (IMI), meropenem (MEN). *Aminoglucosidos:* gentamicina (GN), amikacina (AK). *Sulfonamida:* sulfametoxazol (SXT). *Quinolona:* ciprofloxacino (CIP).

**Figura 3.** Susceptibilidad a diferentes antimicrobianos de *Klebsiella pneumoniae* (n= 33). Año 2022

#### IV. CONCLUSIONES

*Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas constituye una amenaza para los hospitales incluidos en el estudio. Este microorganismo se aísla en diferentes muestras clínicas, como causa de infecciones graves y en varios servicios hospitalarios, fundamentalmente los de atención al paciente grave. Todo lo anterior junto a la elevada multirresistencia de estos patógenos, constituyen una alerta para los hospitales y servicios del sistema sanitario.

#### REFERENCIAS

- 1 Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. Am J Infect Control [Internet] 2007 [citado 19 de Abril 2022];35(10 Suppl 2):S165-93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2007.10.006>
- 2 Tacconelli E, Magrini N. Mundial priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: World Health Organization. 2017;1-7.
- 3 Rice LB. Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet] 2010 [citado 20 de Abril 2022];31Suppl 1(S1):S7-10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1086/655995>
- 4 García-Betancur JC, Appel TM, Esparza G, Gales AC, Levy-Hara G, Cornistein W, et al. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. Expert Rev

- Anti Infect Ther [Internet] 2021 [citado 22 de Abril 2022];19(2):197–213. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14787210.2020.1813023>
- 5 David S, Reuter S, Harris SR, Glasner C, Feltwell T, Argimon S, et al. Epidemic of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Europe is driven by nosocomial spread. Nat Microbiol [Internet] 2019 [citado 20 de Abril 2022];4(11):1919–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0492-8>
  - 6 Rizk NA, Moghnieh R, Haddad N, Rebeiz M-C, Zeenny RM, Hindy J-R, et al. Challenges to antimicrobial stewardship in the countries of the Arab league: Concerns of worsening resistance during the COVID-19 pandemic and proposed solutions. Antibiotics (Basel) [Internet] 2021 [citado 20 de Abril 2022];10(11):1320. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10111320>
  - 7 Boyd SE, Livermore DM, Hooper DC, Hope WW. Metallo- $\beta$ -lactamases: Structure, function, epidemiology, treatment options, and the development pipeline. Antimicrob Agents Chemother [Internet] 2020 [citado 20 de Abril 2022];64(10). Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00397-20>
  - 8 Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: The impact and evolution of a global menace. J Infect Dis [Internet]. 2017 [citado 18 de Febrero 2022];215(suppl\_1):S28–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiw282>
  - 9 Quiñones D, Hart M, Espinosa F, Garcia S, Carmona Y, Ghosh S, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates producing KPC-2 carbapenemase in Cuba. New Microbes New Infect [Internet] 2014 [citado 18 de Enero 2022];2(4):123–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/nmi2.54>
  - 10 Mac Faddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3 ed. La Habana: Ciencias Médicas; 2006.
  - 11 Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, Rapoport M, Corso A. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. [Internet] 2009 [8 de Enero 2022];47(6):1631-1639. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.00130-09>
  - 12 Lee, K., Lim, Y. S., Yong, D., Yum, J. H., & Chong, Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo- $\beta$ -lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *Journal of clinical microbiology* [Internet] 2003 [citado 8 de Enero 2022]; 41(10): 4623-4629. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.41.10.4623-4629.2003>
  - 13 CLSI *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. 13<sup>th</sup> ed. Standard M02 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.