

# Colonización rectal por *Enterobacterales* productores de múltiples carbapenemasas: Reporte de un caso de coproducción

Diego Josa-Montero<sup>1,2\*</sup>, Soad Yusef-Mejía<sup>3,4</sup>, Alex Julián Forero<sup>3,5</sup>, Rafael Leal<sup>1,6</sup>, Julieth Rojas<sup>1,7</sup>, Germán Esparza<sup>8</sup>

## Resumen

El constante aumento de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (CPE) se constituye en un problema de salud pública a nivel mundial, por el impacto generado en la mortalidad de los pacientes. El tracto gastrointestinal es el principal reservorio de este tipo de microorganismos, por lo cual, la colonización rectal se convierte en un importante factor de riesgo para el desarrollo de posteriores infecciones. Una de las estrategias de vigilancia epidemiológica activa, es la búsqueda de pacientes colonizados, a través de cultivos de tamización para detectar estos microorganismos multirresistentes.

Reportamos el caso de un paciente, con historia de sepsis de origen pulmonar, colonizado por *Klebsiella pneumoniae* con coproducción de carbapenemasas NDM + KPC y *Escherichia coli* con carbapenemasa NDM. Este hallazgo es cada vez más frecuente, lo cual implica un reto en su detección y diagnóstico. Se describen características del paciente, procedimientos realizados y hallazgos microbiológicos.

**Palabras clave:** Carbapenemasas, *Enterobacterales*, coproducción, tamización, nefelometría, inmunoensayo.

## Rectal colonization by *Enterobacterales* producing multiple carbapenemases: a co-production case report

### Abstract

The constant increase in carbapenemase-producing *Enterobacterales* (CPE) constitutes a public health problem worldwide, due to the impact generated on the mortality of patients. The gastrointestinal tract is the main reservoir for this microorganism, which is why, rectal colonization becomes an important risk factor for the development of subsequent infections. One of the active epidemiological surveillance strategies is the search for colonized patients through screening cultures, to detect these multi-resistant microorganisms.

We report the case of a patient, with a history of sepsis of pulmonary origin, colonized by *Klebsiella pneumoniae* with co-production of NDM + KPC carbapenemases and NDM carbapenemase-producing *Escherichia coli*. This finding is more and more frequent, which implies a challenge in its detection and diagnosis. Patient characteristics, procedures performed and microbiological findings are described.

**Keywords:** Carbapenemases, *Enterobacterales*, co-production, screening, nephelometry, immunoassay.

### Introducción

Los *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (CPE) han emergido como una importante amenaza para la salud pública; siendo endémicos en Colombia<sup>1,2,3</sup>. Dentro de estas enzimas, las más frecuentemente identificadas son de tipo serina principalmente *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC). Sin embargo, desde 2011 se ha reportado un aumento en la detección de New Delhi Metallo-β lactamasa (NDM) cuyo reporte inicial se asoció con un brote en una Unidad de cuidado intensivo neonatal<sup>4</sup>.

La mortalidad asociada a infecciones por bacilos Gram negativos productores de carbapenemasas puede ser superior al 40%, y los sobrevivientes tienen estancias hospitalarias prolongadas, con altos costos para el sistema de salud<sup>5,6,7</sup>. La colonización del tracto gastrointestinal se relaciona con mayor tasa de infección y mortalidad por estos microorganismos<sup>3,5,8</sup>.

Reportamos el caso de un paciente, con historia de sepsis de origen pulmonar, en quien, dentro del tamizaje rectal, se documentó colonización por *Klebsiella pneumoniae* con coproducción de carbapenemasas NDM + KPC y *Escherichia coli*

1 Laboratorio de Microbiología, Departamento de Laboratorio Clínico y Patología, Fundación Clínica Shaio. Bogotá, Colombia  
2 <https://orcid.org/0000-0003-0870-7257>  
3 Unidad de Cuidados Intensivos, Fundación Clínica Shaio. Bogotá, Colombia.  
4 <https://orcid.org/0000-0002-6960-2726>  
5 <https://orcid.org/0000-0003-2924-5151>  
6 <https://orcid.org/0000-0002-9685-2587>  
7 <https://orcid.org/0000-0003-2189-1431>  
8 Programa de Aseguramiento de la Calidad - Proasecal SAS. Bogotá Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-8395-6803>

\* Autor para correspondencia.  
Correo electrónico: [diego.josa@shaio.org](mailto:diego.josa@shaio.org)  
Diagonal 115 A # 70 C-75 Fundación Clínica Shaio, Bogotá, Colombia  
Código Postal: 111121

Recibido: 28/03/2020; Aceptado: 26/08/2020

Cómo citar este artículo: D. Josa-Montero, et al. Colonización rectal por *Enterobacterales* productores de múltiples carbapenemasas: Reporte de un caso de coproducción. *Infectio* 2021; 25(3): 193-196

productora de carbapenemasa NDM. Este hallazgo es cada vez más frecuente y demuestra la plasticidad genética de las bacterias para adquirir mecanismos simultáneos de multirresistencia, lo cual implica retos diagnósticos, terapéuticos y conlleva a desenlaces clínicos desfavorables.

**Descripción del caso**

Paciente de 55 años de edad con antecedente de hipertensión arterial y obesidad, quien llega a nuestro servicio de urgencias, remitido de otra institución, por cuadro de dolor en epigastrio de una semana de evolución. De manera extra-institucional se había definido falla cardíaca descompensada, sin embargo, presentó rápido deterioro clínico con disfunción multiorgánica de presunto origen infeccioso asociada a neumonía adquirida en la comunidad. Con antecedente de trombosis de venas cava inferior, ilíacas y femorales bilaterales. Estudios de remisión reportaron aislamiento de *E. faecalis* en urocultivo, sensible a ampicilina y de *S. aureus* meticilino-resistente (SAMR) en hemocultivos. Se documentaron tratamientos antibióticos previos con piperacilina/tazobactam y vancomicina.

A su ingreso a la institución presentó estado de choque séptico refractario, se indicó toma de 2 sets de hemocultivos e inicio de terapia con Daptomicina (10 mg/Kg/día), más Ceftazrolina (600 mg cada 8 h) y toma de ecocardiograma transesofágico con el objetivo de descartar endocarditis infecciosa. La imagen cardíaca descartó vegetaciones y confirmo disfunción ventricular derecha. Por protocolo institucional de control de infecciones, se tomaron cultivos de vigilancia de secreción orotraqueal, orina e hisopado rectal para la tamización de bacilos Gram negativos productores de carbapenemasas.

**a) Cultivos de tamización de muestras de hisopado rectal, orina y secreción orotraqueal:**

El hisopado rectal del paciente fue procesado por técnica rápida de nefelometría láser utilizando el kit *Carbapenemase HB&L*® Alifax (Alifax, Italia) siguiendo indicaciones del fabricante<sup>9</sup>. Se agregó 200 uL de muestra al vial con caldo BHI del kit, se adicionó 200 uL del reactivo del kit y se ingresó en el equipo automatizado HB&L Light®. Esta muestra fue positiva

a las 6 horas, indicando la presencia de bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos. Posteriormente, a partir de este vial positivo se realizó siembra en agar MacConkey.

Los cultivos de vigilancia de muestras de orina y de secreción orotraqueal se sembraron en agar en placa por método convencional, siguiendo protocolo institucional.

**b) Pruebas de identificación y susceptibilidad:**

De las siembras en agar MacConkey del vial del hisopado rectal positivo por nefelometría se obtuvo crecimiento de dos tipos de bacilos Gram negativos, los cuales fueron identificados como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* por el sistema automatizado Vitek 2® (bioMérieux, Marcy l'étoile). Ambos microorganismos presentaron resistencia a carbapenémicos en las pruebas de susceptibilidad automatizada. En los cultivos de secreción orotraqueal y orina también se obtuvo crecimiento de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos. (Tabla 1)

**c) Pruebas fenotípicas convencionales:**

Para la confirmación de resistencia y clasificación del tipo de carbapenemasa se utilizaron pruebas fenotípicas como Test de Hodge de acuerdo con las guías de Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) y pruebas de sinergia con ácido borónico y ácido etilendiaminotetracético (EDTA) siguiendo las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS).

Las pruebas de sinergia realizadas al aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* de hisopado rectal mostraron positividad con EDTA lo cual es consistente con la producción de metalcarbapenemasas, pero fueron negativas con ácido borónico, lo cual descartaría la producción de carbapenemasas de clase A como KPC. Esto pone en evidencia las limitaciones de las pruebas fenotípicas de sinergia, en bacterias que coproducen enzimas. (Fig. 1C)

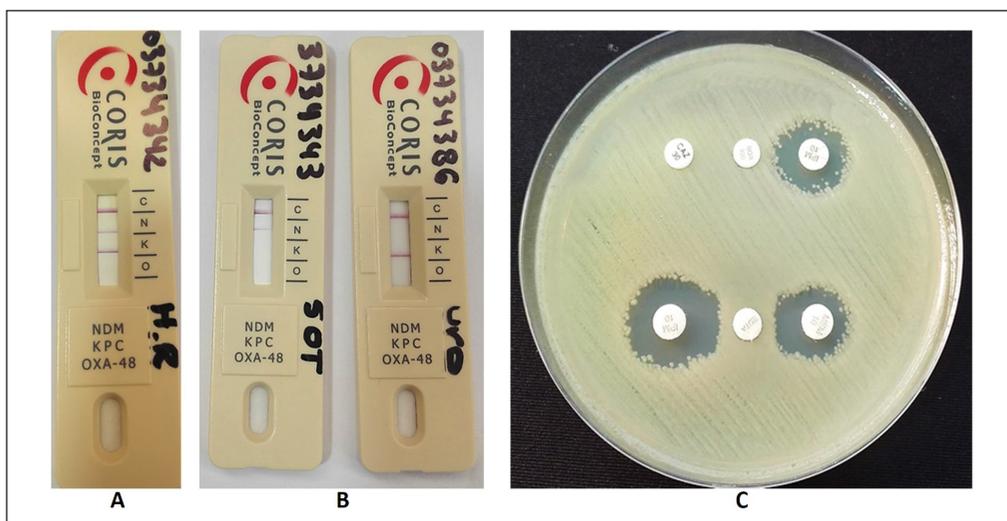
**d) Pruebas de inmunoensayo de flujo lateral:**

Para la caracterización del tipo de carbapenemasa presente en cada uno de los aislamientos se empleó pruebas de inmunoensayo de flujo lateral RESIST-3 – O.K.N® (Coris BioConcept, Gembloux Bélgica). En un tubo plástico se añadieron 12 gotas de solución amortiguadora del kit, luego se emulsio-

**Tabla 1.** Datos del perfil de susceptibilidad *in vitro* a carbapenémicos y resultados de las pruebas confirmatorias y pruebas moleculares para carbapenemasas en los aislamientos obtenidos del paciente:

Aislamiento	Microorganismo	Origen	Ertapenem		Meropenem		Imipenem		THM	APB	EDTA	IE	PCR
			CIM (µg/mL)	I	CIM (µg/mL)	I	CIM (µg/mL)	I					
1	<i>E. coli</i>	Rectal	≥8	R	4	R	≥16	R	POS	NEG	POS	NDM	<i>blaNDM</i>
2	<i>K. pneumoniae</i>	Rectal	≥8	R	≥16	R	≥16	R	POS	NEG	POS	KPC + NDM	<i>blaKPC</i> + <i>blaNDM</i>
3	<i>K. pneumoniae</i>	Orotraqueal	≥8	R	≥16	R	8	R	POS	NEG	POS	NDM	<i>blaNDM</i>
4	<i>K. pneumoniae</i>	Orina	4	R	≥16	R	8	R	POS	POS	NEG	KPC	<i>blaKPC</i>

CIM: Concentración Inhibitoria Mínima, I: Interpretación; THM: Test de Hodge modificado; APB: sinergia con ácido borónico; EDTA: sinergia con EDTA; IE: Inmunoensayo de flujo lateral; PCR: PCR en tiempo real Xpert carba- R®.



**Figura 1. A:** Resultado de Inmunoensayo de flujo lateral para el aislamiento de *K. pneumoniae* obtenida de hisopado rectal, la cual fue positiva para carbapenemasas KPC y NDM. **B:** Prueba de inmunoensayo de flujo lateral de *K. pneumoniae* obtenido de orina (URO) positivo para carbapenemasa KPC y del aislamiento de *K. pneumoniae* obtenido de secreción orotraqueal (SOT), positivo para carbapenemasa NDM. **C:** Pruebas de sinergia con ácido borónico y EDTA para el aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* recuperada de la muestra de hisopado rectal con coproducción de carbapenemasas KPC + NDM. Nótese el efecto de sinergia con EDTA, pero ausente con ácido borónico.

naron tres colonias de la cepa a estudiar y se homogenizó. Se dispensaron 3 gotas de esta suspensión en el casete y se dejó correr por 15 minutos.

El aislamiento de *K. pneumoniae* recuperado a partir de hisopado rectal fue positivo para carbapenemasa KPC y metalcarbapenemasa NDM. El aislamiento de *Escherichia coli* fue positivo para metalcarbapenemasa NDM. (Fig. 1A). Adicionalmente, el aislamiento de *K. pneumoniae* recuperado de secreción orotraqueal fue positivo para carbapenemasa NDM, mientras que el aislamiento de *K. pneumoniae* recuperado de orina, fue positivo para carbapenemasa KPC. (Fig. 1B)

#### e) Pruebas moleculares:

A cada uno de estos aislamientos recuperados se les realizó PCR en tiempo real utilizando la plataforma Xpert Carba-R® (Cepheid, Sunnyvale, USA) para reconfirmar el tipo de gen presente.

El aislamiento de *K. pneumoniae* de hisopado rectal fue positivo para *blaKPC* y *blaNDM* y *E. coli* con gen *blaNDM*. En los aislamientos de *K. pneumoniae* de secreción orotraqueal y de orina se detectó *blaNDM* y *blaKPC* respectivamente. No se detectaron carbapenemasas *blaOXA-48*, *blaIMP* y *blaVIM*. (Tabla 1)

Por evolución clínica favorable, por hemocultivos de control negativos y porque no se detectaron estos microorganismos en otras muestras clínicas, estos hallazgos se consideraron colonizaciones y el paciente egresa sin complicación.

Cabe aclarar, que, dentro de los cultivos de vigilancia a otros pacientes de la UCI, no se encontraron mas cultivos positivos.

## Discusion

Las enzimas carbapenemasas puede expresar la resistencia a los carbapenémicos en diferentes niveles y su complejidad y versatilidad bioquímica representan un reto para su detección<sup>4</sup>.

La coproducción de carbapenemasas, es un ejemplo de plasticidad genética y adaptación bacteriana. Se ha demostrado que esta condición pueda estar asociada a mayor fracaso terapéutico, ya que aumenta las CIM para los carbapenémicos, genera co-resistencia con varias familias de antibióticos y limita el uso de nuevas combinaciones de inhibidores como Ceftazidime/Avibactam<sup>10</sup>.

En la India, Karthikeyan *et al*, reportaron en 2012, la coproducción de NDM + OXA en un aislamiento de *K. pneumoniae* recuperado de urocultivo<sup>11</sup>. Luego, en 2014 Dortet *et al*, reportaron en Pakistan, 2 casos de infecciones asociadas a dispositivos en las cuales se recuperó *Klebsiella spp.* portadora de los genes *KPC-2* y *NDM-1* confirmado por técnica molecular<sup>12</sup>. Kazi *et al*, en 2010, reportaron la coproducción de *NDM-1* + *OXA-23* en 4 aislamientos de *A. baumannii*, con CIM elevadas para carbapenémicos y aminoglicósidos debido a la presencia de la metilasa ribosomal *ArmA*, frecuentemente asociada con plásmidos que transportan NDM-1<sup>13</sup>.

En Colombia de acuerdo con el último informe del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud y Resistencia bacteriana del INS, se documentaron 359 aislamientos de carbapenemasas tipo NDM, la mayoría en *Enterobacterales* y *Acinetobacter spp.* Las coproducciones correspondieron al 8.2% de los casos y las más identificadas fueron KPC + VIM (128 casos) y KPC + NDM (46 casos) en *Pseudomonas spp.* y *Enterobacterales* principalmente<sup>14,15, 16</sup>.

La detección de bacterias Gram negativas que coproducen enzimas es un desafío para los laboratorios de microbiología. Las pruebas fenotípicas de captura de carbapenemasas (THM, Carba NP y mCIM) no diferencian el tipo específico de enzima. Las pruebas de sinergia con inhibidores (Acido Borónico y EDTA), que se emplean en Colombia para diferen-

ciar las enzimas (serin-carbapenemasas y metalo-carbapenemasas) tienen importantes limitaciones. Se afectan por la cantidad de enzima producida, pueden generar falsos positivos por hiperproducción de AmpC y por permeabilización de la membrana externa; y la interpretación depende de la distancia entre los sensidiscos<sup>10</sup>. De acuerdo con el INS de Colombia, estos inhibidores pueden principalmente obviar las serin-carbapenemasas cuando se presentan en conjunto con metalocarbapenemasas (Datos no publicados). Los únicos métodos que permiten realizar tipificación y diferenciación de las carbapenemasas son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el inmunoensayo de flujo lateral.

Como limitación de este estudio, destaca la no disponibilidad de electroforesis de campos pulsados o secuenciación genómica para determinar la relación genética entre los aislamientos.

Este es el primer reporte en Colombia, de colonización rectal por *Enterobacteriales* que co-producen carbapenemasas NDM y KPC, además de colonización orotraqueal por *K.pneumoniae* productora de carbapenemasa NDM y en orina por *K.pneumoniae* productora de carbapenemasa KPC. La tamización rápida por nefelometría laser en muestras de hisopado rectal fue de gran importancia para lograr su pronta identificación y aplicar medidas de control.

El protocolo institucional de tamización rectal, es una estrategia de vigilancia epidemiológica con el fin de evitar brotes en los diferentes servicios, principalmente en unidades de cuidado intensivo, la cual permite identificar posibles pacientes colonizados por microorganismos multirresistentes permitiendo de esta manera aislarlos y dar manejo al paciente para evitar futuras complicaciones. El hallazgo microbiológico presentado en este caso es de gran importancia ya que permite conocer que algunos de los genes de resistencia y coproducciones que colonizan a pacientes hospitalizados.

La aplicación de metodologías diferentes a las convencionales representa un beneficio significativo en el ámbito clínico, ya que permite una identificación confiable en un periodo de tiempo corto. En comparación con las pruebas de biología molecular las pruebas de inmunoensayo de flujo lateral resultan ser más económicas y el costo-beneficio para aplicación de estas pruebas en la rutina del laboratorio de microbiología es positivo, ya que permite un mejor manejo de los pacientes críticos, disminución en el uso de antibióticos de amplio espectro y también reduciendo favorablemente las estancias hospitalarias.

Su detección es un pilar fundamental de los programas de optimización de antimicrobianos y de control de infecciones. Solo mediante la implementación de métodos rápidos, sensibles y específicos, se podrán aplicar intervenciones exitosas.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para este reporte de caso no se realizaron experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos que permitan identificar al paciente.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores han obtenido el consentimiento informado del paciente referido en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

**Conflicto de intereses.** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

La investigación se llevó a cabo con financiación propia de la Fundación Clínica Shaio.

No se presentaron conflictos de interés.

## Referencias

- Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, Quinn JP; Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(8):2880-2. doi: 10.1128/AAC.00186-06.
- Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP; Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(4):1553-5. doi: 10.1128/AAC.01405-06.
- Ovalle MV, Saavedra SY, González MN, Hidalgo AM, Duarte C, Beltrán M. Results of the national surveillance of antimicrobial resistance of *Enterobacteriaceae* and Gram negative bacilli in health care-associated infections in Colombia, 2012-2014. *Biomédica*. 2017;37(4):473-485. doi:10.7705/biomedica.v37i4.3432.
- Escobar Pérez JA, Olarte Escobar NM, Castro-Cardozo B, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother* 2013. 57:1957-1960. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01447-12>.
- Kohler PP, Volling C, Green K, Uleryk EM, Shah PS, McGeer A. Carbapenem Resistance, Initial Antibiotic Therapy, and Mortality in *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: A Systematic Review and Meta-analysis. In: *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2017;38(11):1319-1328. doi: 10-1017/ice.2017.197.
- Van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence*, 2017;8:4,460469.
- Pereira PS, Borghi M, Albano RM, et al. Coproduction of NDM-1 and KPC-2 in *Enterobacter hormaechei* from Brazil. *Microb Drug Resist*. 2015;21(2):234-236.
- Queenan AM. Carbapenemases: BK. the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440-458.
- Alifax. Kit para el cribado fenotípico de Enterobacterias spp resistentes a los carbapenemas en muestras biológicas en los analizadores de la línea microbiológica Alifax. HB&L carbapenemase kit. Italia. 2015.
- Villegas M, Jimenez A, Esparza G, Appel Tm. Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*: A Diagnostic, Epidemiological And Therapeutic Challenge. *Infectio* 2019; 23(4): 388-398
- Karthikeyan, M. Toleman, C.G. Giske, M. Thirunarayan K. Kumaraswamy, N. Narayam, P. Krishnan, T. Walsh. First report of the co-existence of blaOXA-48 or blaOXA-48-like gene with blaNDM-1 in *Enterobacteriaceae* from India. 2018. 20th ECCMID, Posters.
- Dortet, L. Poirel, F. Al Yaquobi P. Nordmann. NDM-1, OXA-48 and OXA-181 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Sultanate of Oman, 2012. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: E144-E148 10.1111/j.1469-0691.2012.03796.x.
- Kazi, M, L.Drego, C.Nikam, K.Ajibani, R.Soman. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* at a tertiary care laboratory in Mumbai, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014. DOI 10.1007/s10096-014-2249.
- Ovalle M, Saavedra S, et al. Informe de Resultados de la Vigilancia por Laboratorio de Resistencia antimicrobiana en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) 2017. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C.
- Rojas LJ, Wright MS, De La Cadena E, et al. Initial assessment of the molecular epidemiology of blaNDM-1 in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(7):4346-4350.
- Instituto Nacional de Salud. Circulación de carbapenemasas tipo Nueva Delhi metalo- $\beta$ -lactamasa (NDM) en Colombia 2012-2014. Colombia: Instituto Nacional de Salud. 2014.