



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

Detección y caracterización molecular de metalo-B-lactamasas en aislamientos de Pseudomonas aeruginosa recuperados en un Instituto especializado pediátrico de Lima - Perú

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología

AUTOR

Edgar GONZALES ESCALANTE

ASESOR

Mario MONTEGHIRFO GOMERO

Lima, Perú

2013

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue detectar y caracterizar molecularmente las metalo- β -lactamasas (M β Ls) responsables de la resistencia a carbapenemes en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*. Fueron evaluados un total de 46 aislamientos de *P. aeruginosa*, resistentes a ceftazidima y con sensibilidad reducida a los carbapenemes; en dos periodos (enero/febrero y julio/agosto), de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN) durante el año 2010.

Las pruebas de sensibilidad se realizaron mediante la técnica de disco difusión, de acuerdo a los criterios del "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) (2011). El ensayo fenotípico para la detección de M β Ls se realizó utilizando el método de aproximación de los discos con sustratos (ceftazidima, imipenem y meropenem) y el inhibidor de las M β Ls (EDTA). La detección de genes M β Ls, para las familias más ampliamente diseminadas, se realizó mediante PCR múltiple.

A través del método fenotípico se detectaron M β Ls en 6 de 46 aislamientos (13%). La detección de genes reveló la presencia del gen *bla*_{IMP} codificantes de enzimas tipo IMP en 6 aislamientos, estos correspondieron a los mismos que fueran detectados por el ensayo de detección fenotípica empleando EDTA, lo que indica una sensibilidad y especificidad del ensayo de detección fenotípica del 100%. Los 6 aislamientos positivos para enzimas tipo IMP, fueron también positivos a la detección de integrones de clase 1 por amplificación de *int1*. Los ensayos de tipificación molecular mostraron que la diseminación no se trataba de un único clon o de una línea clonal.

En conclusión de los 46 aislamientos de *P. aeruginosa* recuperadas de pacientes hospitalizados en el INSN, solo el 13 % presentan la producción de M β Ls indicando que este no es el principal mecanismo de resistencia a los carbapenémicos presentado por *P. aeruginosa* en el INSN, y refuerzan la necesidad de revisar las medidas de control de la infección en la institución.

Palabras clave:

Pseudomonas aeruginosa, Resistencia a carbapenemes, metalo- β -lactamasa.

SUMMARY

The aim of this study was to identify and characterize the M β Ls responsible for the carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates. We evaluated a total of 46 isolates of *P. aeruginosa* resistant to ceftazidime and reduced susceptibility to carbapenems, in two periods (January/February and July/August) from patients hospitalized at the Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN) in 2010.

Susceptibility tests were performed by disk diffusion technique, according to the criteria of "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) (2011). The phenotypic assay for the detection of M β Ls was performed using the approximation method of the disk substrates (ceftazidime, imipenem and meropenem) and M β Ls inhibitor (EDTA). Detection of genes M β Ls, for families more widely disseminated multiple PCR was performed using.

Phenotypic method detected the presence of M β Ls in 6 of 46 isolates (13%). PCR amplification revealed the presence of the *bla*_{IMP} encoding enzymes IMP type enzymes in 6 isolates, these corresponded to those previously characterized by the phenotypic screening assay using EDTA, indicating a sensitivity and specificity of detection phenotypic assay 100%. The 6 isolates positive for IMP type enzymes were also positive for the amplification of *int11* of class 1 integrons. Molecular typing assays showed that the spreading was not a single clone or a clonal line.

In conclusion of the 46 isolates of *P. aeruginosa* recovered from patients hospitalized in the INSN, only 13% have M β Ls production indicating that this is not the main mechanism of carbapenem resistance presented by *P. aeruginosa* in INSN, and reinforce the need to review the measures of infection control in the institution.

Keywords:

Pseudomonas aeruginosa, carbapenem resistance, metallo- β -lactamase.