



ORIGINAL

Impacto de un programa de vigilancia activa y medidas de control de infecciones sobre la incidencia de bacilos gram negativos resistentes a carbapenems en una unidad de cuidados intensivos



Juan Martín Vargas^{a,*}, María Paula Moreno Mochi^a, Carolina Graciela López^a, Janet Alejandra Alarcón^a, Nancy Acosta^b, Karina Soria^c, Juan Manuel Nuñez^c, Sandra Villafañe^c, Jorge Ramacciotti^b, Rosa del Campo^d y María Angela Jure^a

^a Laboratorio de Bacteriología Certificado, Cátedra de Bacteriología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

^b Unidad de cuidados intensivos 1 (UCI1), Hospital Ángel Cruz Padilla, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

^c Departamento de Infectología, Hospital Ángel Cruz Padilla, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

^d Servicio de Microbiología, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Madrid, España

Recibido el 8 de julio de 2020; aceptado el 28 de marzo de 2021

Disponibile en Internet el 2 junio 2021

PALABRAS CLAVE

Bacilos gram negativos;
Resistencia a carbapenems;
Unidad de cuidados intensivos;
Medidas de control de infecciones;
Programa de vigilancia activa

Resumen Las infecciones hospitalarias causadas por bacilos gram negativos resistentes a carbapenems (BGNCR) están asociadas al aumento de morbimortalidad y gasto sanitario. La identificación mediante cultivos de vigilancia y las medidas de control de infecciones permiten reducir su diseminación. El objetivo del estudio fue evaluar el impacto de un programa de vigilancia integrado a protocolos de control de infecciones sobre la incidencia de BGNCR y conocer su epidemiología molecular en una unidad de cuidados intensivos. Se realizaron auditorías seguidas de un programa de cultivo de vigilancia activa y caracterización molecular de BGNCR, antes y después de la implementación de programas de prevención y control de infecciones. El *screening* microbiológico se realizó en medios cromogénicos; la caracterización molecular de β -lactamasas (*bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-48-like}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX-M}) por PCR y la tipificación molecular por PFGE y MLST para *Klebsiella pneumoniae*. El protocolo desarrollado permitió reducir la colonización global de 16,92% al 9,67%. La diseminación de *K. pneumoniae* fue a expensas de diversos clones portadores de KPC-2 asociada a BLEE SHV-2 y CTX-M-15, y distribuidos en varios secuenciotipos (ST17, ST13, ST2256, ST353); no se observó persistencia de un clon particular y ningún aislamiento presentó factores de virulencia asociados a hipervirulencia. Los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* fueron mayoritariamente productores de IMP-1. El análisis PFGE individualizó 3 *clusters*, asumiendo que la diseminación fue clonal.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: juan.martin.vargas@hotmail.com (J.M. Vargas).

El protocolo permitió evaluar el impacto del programa sobre la incidencia de colonización por BGNCR. Demostramos que los cultivos de vigilancia activa en unidad de cuidados intensivos reducen significativamente la transmisión nosocomial de estos microorganismos.

© 2021 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Gram-negative bacteria;
Carbapenem-resistance;
Intensive care unit;
Infection control measures;
Active surveillance program

Impact of an active surveillance program and infection control measures on the incidence of carbapenem-resistant gram-negative bacilli in an intensive care unit

Abstract Hospital-acquired infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CRGNB) have been increasingly reported worldwide and are associated with high rates of mortality especially in intensive care units (ICUs). Early identification through rectal surveillance cultures and implementation of infection control measures (ICM) including contact precautions, staff education on cleaning and hand hygiene may reduce the spread of these microorganisms. The aim of this work was to assess the impact of enhanced ICM on CRGNB colonization and to describe the molecular epidemiology of these bacteria in a polyvalent ICU in a tertiary level hospital.

A prospective study including audits and active surveillance culture program, with molecular characterization, was conducted before and after the implementation of prevention programs and infection control measures. Microbiological screening was performed in chromogenic media; PCR targeting β -lactamases genes (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} and *bla*_{OXA-48}, *bla*_{SHV} and *bla*_{CTX-M}), molecular typing by PFGE; and MLST in *K. pneumoniae* were performed. CRGNB colonization was reduced from 16.92% to 9.67% upon implementing the infection control measures. In *K. pneumoniae* the most frequent carbapenemase type was KPC-2 associated with SHV-2 and CTX-M-15, and was disseminated in various STs (ST17, ST13, ST2256, ST353); there was no persistence of particular clones and virulence factors showed no association with hypervirulence. IMP-1 carbapenemase predominated in *A. baumannii* and the PFGE analysis individualized 3 clusters, assuming that the dissemination in the ICU was clonal. The early detection of patients colonized with CRBGN by using epidemiological surveillance cultures and the implementation of prophylactic measures are key to reducing the incidence of these microorganisms.

© 2021 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Las infecciones hospitalarias causadas por bacilos gram negativos resistentes a carbapenems (BGNCR) son notificadas cada vez más en todo el mundo^{11,21} y están asociadas a un aumento de la morbilidad, la mortalidad y el gasto sanitario¹². La emergencia y propagación de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenems en entornos hospitalarios, especialmente en unidades de cuidados intensivos (UCI), plantea un reto permanente y ha sido reconocida como un problema sanitario importante^{8,10,14,35}.

La identificación temprana de BGNCR mediante cultivos de vigilancia rectal y la aplicación de medidas básicas de control de infecciones (MCI), incluidas las precauciones de contacto, el uso de desinfectantes apropiados y la educación del personal sobre la limpieza e higiene de las manos, pueden reducir la diseminación de estos microorganismos^{8,17,33}. Varios estudios han investigado el impacto de las mejoras en las MCI, complementadas con auditorías y retroalimentación mediante reuniones multidisciplinarias sobre la eliminación/disminución de la propagación de BGNCR entre

pacientes críticamente enfermos^{8,17,33}. Sin embargo, un número limitado de estudios han examinado el efecto de la implementación de estas medidas en las tasas de incidencia de BGNCR en pacientes de UCI⁸. Algunos estudios realizados en nuestra región describen múltiples clones de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenems productores de carbapenemasas que contribuyen a explicar la gran diversidad genética, su alto poder de diseminación y la endemidad de estas enzimas^{15,32}.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de un programa de vigilancia activa integrado a los protocolos de control de infecciones sobre la incidencia de BGNCR y conocer la epidemiología molecular de las colonizaciones por estos microorganismos en una UCI polivalente de un hospital de tercer nivel.

Materiales y métodos

Diseño experimental

Este estudio se realizó en la Unidad de Cuidados Intensivos 1 (UCI1) del Hospital Ángel Cruz Padilla, Tucumán, Argentina;

la sala cuenta con 18 camas para la recepción y cuidado de pacientes críticos. Se definió como paciente colonizado a todo paciente con hisopado rectal positivo para BGNCR y sin manifestaciones sistémicas atribuibles a infección por el microorganismo. El protocolo ejecutado fue aprobado por el Comité de Docencia y el Comité de Ética del hospital; las patologías por las cuales los pacientes tuvieron ingreso al servicio fueron registradas al momento de tomar la muestra en la ficha clínica. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética y formó parte de las actividades del Comité de Control de Infecciones, por lo cual no fue necesario el consentimiento informado de los pacientes.

Se realizaron auditorías seguidas de un programa de cultivo de vigilancia activa que consistieron en la detección rectal y caracterización molecular de BGNCR antes y después de implementar un programa de prevención y control de infecciones (IPC).

Recolección de muestras

Se tomaron muestras durante 9 semanas consecutivas en 2 períodos diferentes: período 1, octubre-diciembre de 2018; período 2, abril-junio de 2019. La primera semana muestral perteneciente a cada período fue considerada como de «auditoría o sala de situación», lo que implicó recolectar hisopados rectales a todos los pacientes internados en ese momento en la sala, una sola vez y en el mismo día. Luego se procedió a implementar el protocolo de cultivo de vigilancia activa durante 8 semanas consecutivas. Los hisopados rectales se tomaron en 3 momentos de la hospitalización del paciente: al ingresar a la UC11, a las 48 h de internación y, en caso de mantenerse negativos, semanalmente mientras permanecían en la UC11.

Screening microbiológico

Las muestras recolectadas se enriquecieron en caldo cerebro corazón (BHI) (Britania®) con 2 µg/ml de ertapenem por 6 h; posteriormente, se sembraron en medios de cultivo cromogénicos (CHROMagar™ mSuperCARBA™ base, Mediatec, Argentina) y se incubaron en aerobiosis a 37 °C por 24-48 h; a partir de las colonias desarrolladas en el medio cromogénico, se confirmó la identificación bacteriana por espectrometría de masas acoplada al tiempo de vuelo de proteínas (MALDI-TOF) (Bruker®); se aceptó su identificación con scores superiores o iguales a 2.000, tanto para enterobacterias y *P. aeruginosa* como para *A. baumannii*⁹.

Sensibilidad a los antimicrobianos

Los ensayos se realizaron solo frente a los aislamientos de *K. pneumoniae* y *A. baumannii* por el método automatizado Vitek 2® System (BioMérieux, Merck l'Etoile, Francia) incluyendo los siguientes antimicrobianos: ampicilina, ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam, cefalotina, cefotaxima (CTX), ceftazidima, cefepime, meropenem, imipenem (IMP), gentamicina, amikacina, trimetoprima/sulfametoxazol y ciprofloxacina. Los puntos de corte se interpretaron siguiendo el documento M100-S30 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)⁷.

La susceptibilidad a colistina se determinó por microdilución en caldo, según las recomendaciones del EUCAST (<https://www.eucast.org/>).

Caracterización molecular de β-lactamasas

El ADN bacteriano total se extrajo por *boiling* de colonias desarrolladas en el medio cromogénico. Los genes *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-48-like}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}* y *bla_{NDM}* fueron detectados siguiendo los protocolos desarrollados por la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud «Dr. Carlos G. Malbrán» (<http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmos-manuales-protocolos>); *bla_{SHV}* y *bla_{CTX-M}* se detectaron por PCR múltiple²⁴. Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa al 1,5% coloreado con GelRed en un transiluminador UV, posteriormente fueron secuenciados con ABI3130CL (Applied Biosystems, EE. UU.) y las secuencias fueron analizadas en el *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Estudio de genes de virulencia en *K. pneumoniae*

Para caracterizar los factores de virulencia se realizaron 4 reacciones de PCR múltiple. Se estudiaron genes asociados a las siguientes características: resistencia a la fagocitosis (*uge*, *ycfM*, *Wca6*), fimbrias (*fimH*, *mrkD*, *kpn*), elementos capsulares (*magA*, *k2A*, *rmpA*), sideróforos (*entB*, *iron*, *iutA*), estructuras de pared (*WabG*), metabolismo de alantoina (*allS*), proteínas líticas de glóbulos rojos (*hly*) y citotoxina (*cnf-1*). Los productos de PCR se analizaron en un gel con 1,8% de agarosa en TAE 1X, corrido durante 2 h a 150 V³.

Tipificación molecular

En *K. pneumoniae* se realizó por electroforesis de campo pulsado (PFGE) y MLST. El ADN genómico fue digerido con la endonucleasa de restricción *XbaI* (Promega) y los fragmentos separados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% Sea-Kem Gold (BioRad, EE. UU.) en buffer TBE 0,5X (45 mM Tris, 45 mM ácido bórico, 1,9 mM EDTA; pH 8.0) a 6 V/cm y 14°, alternando pulsos en un ángulo de 120° cada 2,2-54,2 seg por 20 h. Se seleccionó un representante de cada pulso tipo para el estudio de las variables alélicas que permitieron definir el secuenciotipo (ST) utilizando la metodología descrita por el Instituto Pasteur (<http://bigsdbs.pasteur.fr/>) y el banco de datos provisto por MLST.net.

En *A. baumannii*, el ADN genómico fue digerido con la endonucleasa de restricción *Apal* (Promega) y los fragmentos separados por electroforesis en un gel de agarosa preparado como ya fue descrito para *K. pneumoniae*, pero con los pulsos cada 5-35 seg por 24 h.

Salmonella enterica serovariedad Braenderup H9812 fue utilizada como marcador de corte. El análisis de los fragmentos y la determinación de la relación entre los aislamientos se realizó con el software BioNumerics versión 8.0 (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica). Los patrones de ADN fueron interpretados según Tenover et al.²⁹; se consideró que las cepas eran del mismo *cluster* si su identidad genética era

superior al 75% o si presentaban menos de 3 bandas diferentes en los perfiles de PFGE.

Implementación del programa de prevención y control de infecciones (PCI)

El equipo multidisciplinario involucrado estuvo conformado por infectólogos, microbiólogos, enfermeros, kinesiólogos y personal de mantenimiento. Una vez finalizada la primera auditoría (2018), durante la implementación del protocolo de vigilancia activa y en los 3 meses posteriores a su finalización (enero-abril 2019), bajo la coordinación del Comité de Control de Infecciones y el Servicio de Infectología del nosocomio, se realizaron actividades para optimizar las MCI complementadas con auditorías y reuniones multidisciplinarias.

Se trabajó sobre los siguientes aspectos: a) higiene de manos (monitorización y evaluación de la adherencia al programa de lavado de manos, se suministró jabón antibacteriano con triclosán al 0,4% p/v y solución antiséptica con gluconato de clorhexidina al 0,5% p/v, y alcohol isopropílico al 60% p/v delante de camas de UCI; b) precauciones de contacto para pacientes colonizados por BGNCR, incluyendo cohorte paciente y personal (designación de personal de enfermería para atender únicamente a los pacientes BGNCR positivos durante el mismo turno); c) limpieza ambiental, incluyó la desinfección de las camas y su entorno (solución de cloro para el suelo y paredes adyacentes o compuestos de amonio cuaternario para monitores, ventiladores, etc.), durante la hospitalización del paciente y después del alta; d) administración antimicrobiana (formulario restringido para carbapenems, piperacilina/tazobactam, cefalosporinas, fluoroquinolonas, colistina y tigeciclina); y e) educación del personal, se realizaron reuniones periódicas y multidisciplinarias para impartir educación y capacitar al personal de la UCI (especial referencia a la diseminación BGNCR y a la importancia de aplicar la MCI para reducirla al mínimo)¹⁶.

Resultados

Se incluyeron en este estudio 169 pacientes, 37 registrados durante las auditorías y 132 participantes del programa de vigilancia activa (períodos 1 y 2).

Evaluamos la distribución semanal de pacientes colonizados vs. total de pacientes muestreados a lo largo del estudio (fig. 1), además de los BGNCR aislados y las carbapenemasas asociadas a estos (fig. 2).

En la primera auditoría, 7/18 pacientes (38,9%) presentaron colonización rectal por BGNCR: *A. baumannii* productor de IMP-1 (n = 3), *K. pneumoniae* KPC-2 (n = 1), asociación de diferentes especies (n = 3), *A. baumannii* IMP-1 + *K. pneumoniae* KPC-2 (n = 2) y *A. baumannii* IMP-1 + *P. aeruginosa* VIM-2 (n = 1). En la segunda auditoría, 6/19 pacientes resultaron colonizados (31,6%), con predominio de *K. pneumoniae* productor de KPC-2 (n = 6). Ningún paciente presentó asociación de BGNCR en esta auditoría (fig. 2).

En el programa de vigilancia activa, 13 de los 68 pacientes (19%) que participaron en el período 1 resultaron colonizados con BGNCR, 12 (92%) con *K. pneumoniae* KPC-2 y un paciente (8%) simultáneamente con *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* y *A. baumannii* productores de OXA-48-like.

Posteriormente, en el segundo período de este programa participaron 64 pacientes, de los cuales 8 demostraron estar colonizados con BGNCR (12%), 5 con *K. pneumoniae* KPC-2, 2 (25%) con *A. baumannii* OXA-48-like y VIM-1 y un paciente (12%) con *E. coli* OXA-48-like (fig. 2). Los perfiles de sensibilidad a los antimicrobianos ensayados se describen en las tablas 1A y 1B del material suplementario.

Entre ambas etapas, auditorías/vigilancia activa, se implementaron mejoras y capacitaciones en el servicio, como internación por cohorte de los pacientes colonizados en un sector de la terapia; adhesión al procedimiento de lavado de manos y su correcta realización; compra de material apropiado para realizar la limpieza y división de tareas entre el personal (limpieza-alimentación-recolección de residuos), restricción del ingreso de pacientes y alumnos al servicio; limitación del flujo del personal por la unidad de terapia intensiva; disminución de la permanencia de pacientes colonizados; uso racional de antibióticos; jornadas de capacitación para el personal perteneciente a la UCI y de otros servicios asociados y reuniones multidisciplinarias para informar al equipo los resultados obtenidos; de esta manera, se pusieron en relieve las deficiencias y los problemas y se logró reforzar la aplicación de una gestión integrada.

El análisis estadístico comparando ambas etapas del programa indicó diferencias significativas y demostró una reducción de la colonización global dentro de la UCI1 del 16,92% al 9,67% ($\chi^2 = 0,014$).

Para evaluar la efectividad global del protocolo desarrollado, no fueron considerados los aislamientos recuperados con anterioridad a las 72 horas de permanencia en el servicio ni los pacientes positivos durante las auditorías. Teniendo en cuenta esta consideración, la incidencia global de bacilos gram negativos resistentes a carbapenems en la etapa previa a implementar mejoras y capacitaciones fue del 16,92% vs. 9,67%. El coeficiente arrojado fue $\chi^2 = 0,014$; lo que implicó diferencia significativa ($\chi^2 < p$).

El análisis de PFGE en *A. baumannii* individualizó 6 pulsotipos diferentes designados del I al VI y agrupados en 3 clusters; ningún aislamiento fue productor de las enzimas BLEE estudiadas. En la figura 3 se detallan las características clínicas y moleculares asociadas a estos aislamientos.

En *K. pneumoniae*, el análisis de PFGE individualizó 10 pulsotipos designados del I al X y agrupados en 6 clusters correspondientes a 6 secuenciotipos: ST17 (n = 5), ST 86 (n = 3), ST2256 (n = 3), ST13 (n = 3), ST353 (n = 11) y un secuenciotipo no determinado NT (n = 1). En la figura 4 se detallan las características clínicas y moleculares asociadas a estos.

Discusión

Los resultados de este estudio permitieron determinar la magnitud del problema respecto de la incidencia de colonización por BGNCR en pacientes hospitalizados en la UCI y las carencias en la ejecución de un programa de control de infecciones adecuado en el nosocomio. A partir de los resultados de los cultivos de vigilancia activa y la epidemiología molecular, se implementaron medidas de contingencia para controlar la diseminación de estos microorganismos y, finalmente, se demostró una disminución en la incidencia de colonización.



Figura 1 Distribución semanal de pacientes colonizados vs. total de pacientes muestreados en UCI1 durante la ejecución del protocolo.

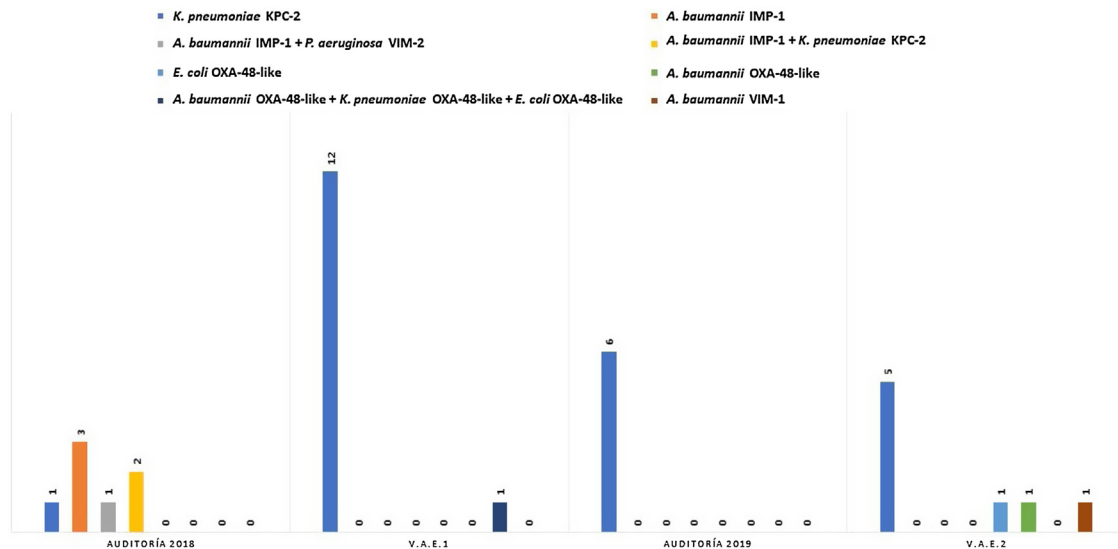


Figura 2 BGCR aislados y carbapenemas asociadas. V.A.E.1: vigilancia activa etapa 1; V.A.E.2: vigilancia activa etapa 2.

La emergencia y diseminación de BGN productores de carbapenemas, como paradigma actual de la resistencia extrema y de la panresistencia a los antibióticos en nuestro ámbito sanitario, es una grave amenaza para la salud de los pacientes y para la salud pública.

El máximo impacto de esta problemática se debe a la dispersión de cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC-2 y de otros BGN, como *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, productores de OXA-48-like y VIM-1. La capacidad de estas cepas para extenderse de forma rápida y eficaz hace necesaria la existencia de sistemas de alerta precoz interconectados, que nos permitan detectarlas inmediatamente y conocer su epidemiología^{23,34}. Numerosos autores consideran que la aplicación de medidas de control de la infección es clave^{4,5} y

requiere de un abordaje multidisciplinar, que incluya aspectos relacionados con la vigilancia (detección precoz del caso índice y detección activa de la colonización en pacientes), la implementación de precauciones estándar y de contacto, incluso de medidas de *cohorting*, si fuera necesario, además de la limpieza y desinfección ambiental^{4,5}. Estos procedimientos coinciden con los implementados en este estudio, en el cual utilizamos un sistema de alerta precoz para detectar inmediatamente los pacientes colonizados, ejecutar un aislamiento de cohorte en la UCI y aplicar los protocolos establecidos en el PCI.

En un estudio reciente realizado en Nueva York en el que se comparaban las prácticas de control de infecciones entre 9 hospitales vecinos, se evidenció que los hospitales

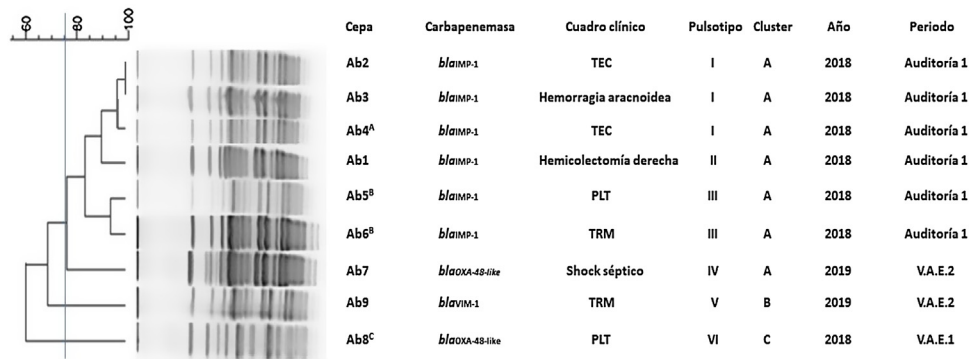


Figura 3 Características clínicas y estructura poblacional de *A. baumannii* resistentes a carbapenems recuperados de pacientes internados en UCI1 durante el desarrollo del protocolo de vigilancia. PLT: politraumatismo; TEC: traumatismo encéfalo-craneal; TRM: traumatismo raquimedular; V.A.E.1: vigilancia activa etapa 1; V.A.E. 2: vigilancia activa etapa 2.

^A: coexistencia con *P. aeruginosa* VIM-2.

^B: coexistencia con *K. pneumoniae* KPC-2

^C: coexistencia con *K. pneumoniae* OXA-48-like y *E. coli* OXA-48-like.

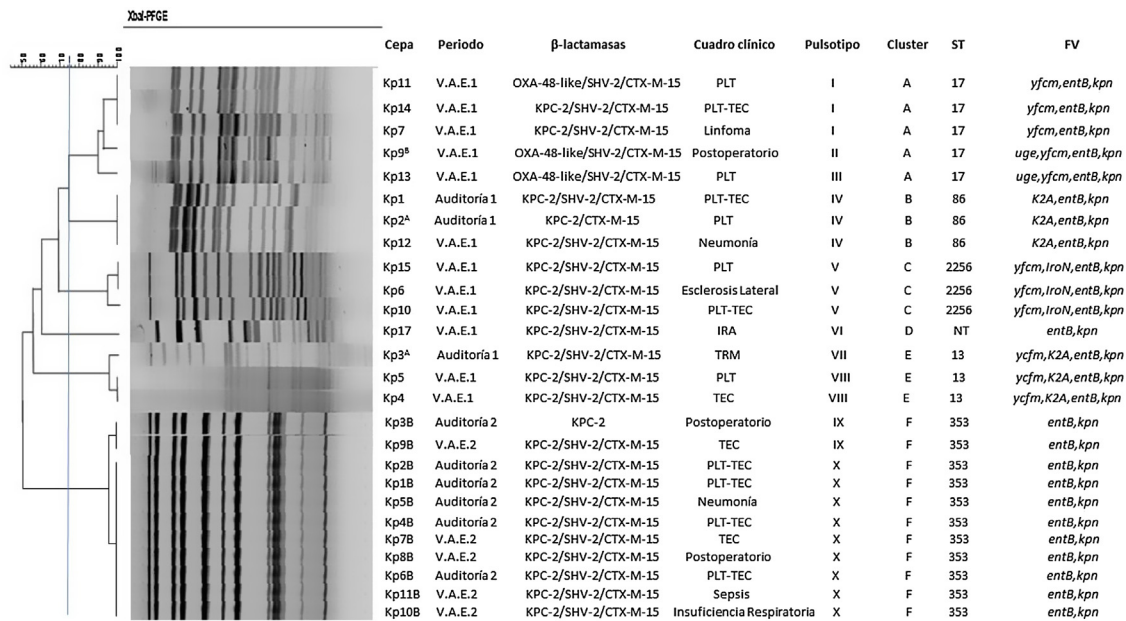


Figura 4 Características clínicas y estructura poblacional de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenems recuperados de pacientes internados en UCI1 durante el desarrollo del protocolo de vigilancia. V.A.E.1: vigilancia activa etapa 1; V.A.E. 2: vigilancia activa etapa 2; NT: no tipificable; IRA: insuficiencia renal aguda; PLT: politraumatismo; TEC: traumatismo encéfalo-craneal; TRM: traumatismo raquimedular; FV: factores de virulencia; *uge* y *yfcm* (resistencia a la fagocitosis), *iron* y *entB* (sideróforos), *K2A* (serogrupo capsular K2), *kpn* (adhesina no fimbrial).

^A: coexistencia con *A. baumannii* IMP-1; ^B: coexistencia con *A. baumannii* OXA-48-like y *E. coli* OXA-48-like.

que llevaban a cabo cultivos de vigilancia activa tuvieron más éxito en la disminución de la tasa de adquisición de bacilos gram negativos productores de KPC¹⁸. Por otro lado, Thatrimontrichai et al.³⁰ y Lledo et al.²⁰ aseguran que la detección de portadores de BGNCR es beneficiosa en el control y la reducción de casos de infecciones asociadas, tanto en brotes como en situaciones no epidémicas, impulsando de este modo a la vigilancia activa de pacientes críticos cuando sea posible. La implementación de programas de optimización del uso de antimicrobianos es otra de las medidas que puede ayudar a limitar la selección de cepas

productoras de carbapenemasas²⁶. Con nuestro protocolo, los resultados obtenidos demostraron que las medidas adoptadas durante el estudio, en un período acotado, en conjunto con la ejecución del Programa de Uso Racional de Antimicrobianos (PROA) y la vigilancia microbiológica sistemática de los pacientes permitieron reducir significativamente la colonización global dentro de la UCI1, del 16,92% al 9,67% ($X^2 = 0,014$).

Tras implementar un programa multidisciplinario de vigilancia epidemiológica, Hayden et al.¹³ demostraron una reducción significativa de los casos de colonización por

enterobacterias productoras de KPC (50%) y de la frecuencia de infecciones asociadas a estos microorganismos (30%) en pacientes pertenecientes a un hospital de estancia prolongada; ese estudio no incorporó un programa de uso racional de los antimicrobianos o, al menos, no se hace referencia a esto.

Algunos trabajos realizados en grupos poblacionales de riesgo, como pacientes internados y neonatos, señalan que el tiempo de hospitalización es una variable asociada al riesgo de colonización por BGNCR^{26,28}. En este sentido, Lin et al.¹⁹ aseguran que la colonización en centros sanitarios donde la internación es prolongada es cercana al 30%, contra un 3% en los centros con internaciones breves. Si bien nuestro estudio se desarrolló solo en una UCI y el número de pacientes estudiados es una limitante, el protocolo implementado en cada etapa durante 8 semanas consecutivas nos permitió observar diferentes tiempos de colonización en los pacientes admitidos. Santolin et al.²⁷ consideran que la omisión del cultivo de vigilancia realizado a las 48-72 h de la admisión en la unidad incrementaría el número de pacientes colonizados por la rápida diseminación horizontal de los BGNCR; en nuestro trabajo, solo 2 pacientes (uno correspondiente a cada etapa muestral) positizaron sus cultivos a las 48 h de permanencia en el servicio.

El estudio de epidemiología molecular muestra diferentes patrones de diseminación de BGNCR en la UCI. Por una parte, la emergencia y diseminación de *K. pneumoniae* se produce a expensas de diversos clones, mayoritariamente portadores de KPC-2 asociada con BLEE del tipo SHV-2 y CTX-M-15, lo que agrava el problema, por presentar múltiples resistencias a otros grupos de antimicrobianos. En nuestro hospital, esta epidemiología fue descrita anteriormente por Jure et al.¹⁵ y Vargas et al.³², por lo cual nuestros resultados confirman que, si bien no existe la persistencia de un clon particular, el clon ST17 nuevamente se comporta como uno de los prevalentes en la región. En cuanto a la distribución geográfica, ST17 también fue descrito por Argente et al.² en España, asociado a la producción de OXA-48, y por Andrade et al.¹ en Brasil; dicho clon fue asociado a KPC-2 y no fue registrado en estudios epidemiológicos recientes realizados en Argentina por Cejas et al.⁶. En la base de datos del Instituto Pasteur (bigsd.b.pasteur.fr) se encuentran registrados 103 aislamientos de *K. pneumoniae* ST17 procedentes de muestras de sangre, materia fecal, esputo, orina, abscesos y respiratorias, de pacientes colonizados e infectados. En cuanto al tipo capsular, en este trabajo no se detectaron los tipos capsulares ensayados (K1 y K2), previamente descritos en nuestra región por Vargas et al.³², quienes informaron un aislamiento ST17 asociado al tipo capsular K2; estos resultados difieren de los de Martin et al.²², quienes reportan ST17/ K23, y de los de Andrade et al.¹, quienes describen ST17/ K112.

Es importante recalcar que en el período 2, la población policlonal de *K. pneumoniae* descrita previamente en este hospital se ve sustituida por la presencia de un único clon, ST353. Analizando el perfil de sensibilidad, el corto período en el que fueron obtenidas estas cepas, los perfiles de restricción y secuenciotipos idénticos, asumimos que nos encontrábamos epidemiológicamente en una situación de brote por un secuenciotipo no descrito antes en nuestra región y asociado a KPC2/SHV-2 y CTX-M-15. Este secuenciotipo también fue reportado por Thomas et al.³¹, quienes

describen un brote por *K. pneumoniae* ST 353, coproductora de enzimas tipo OXA-48 y SHV, en pacientes colonizados.

En cuanto a la virulencia de las cepas de *K. pneumoniae* colonizantes, demostramos la ausencia de genes asociados a hipervirulencia (*rmpA*, *iutA*) y a elementos fimbriales tipo 3 (genes *mrrk*) y la presencia de genes *entB* y *kpn*, ambos ampliamente distribuidos en el género *Klebsiella*. Solo los aislamientos pertenecientes a los secuenciotipos ST13 y ST86 estuvieron asociados al serogrupo capsular K2.

Los aislamientos de *A. baumannii* fueron mayoritariamente productores de IMP-1. El análisis de PFGE individualizó 6 pulsotipos agrupados en 3 *clusters*, con lo que podríamos asumir que la diseminación en la UCI fue clonal, en concordancia con otros estudios que demuestran la clonalidad de estas cepas²⁵.

En conclusión, implementamos un protocolo multidisciplinario de vigilancia adaptado a una UCI, evaluamos su impacto en la incidencia de colonización por BGNCR y demostramos que el cultivo de vigilancia activa en unidades de alto riesgo reduce significativamente la colonización por estos microorganismos; por lo tanto, el cumplimiento riguroso de medidas de control de infecciones y un protocolo de uso racional de antimicrobianos, monitorizado, son necesarios en entornos de alto riesgo para prevenir brotes o infecciones invasivas por BGNCR.

Financiación

El presente trabajo ha sido financiado por un proyecto otorgado por SCAIT (Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica, Tucumán, Argentina) (proyecto D640-1).

Conflicto de intereses

Ninguno para declarar.

Agradecimientos

Los autores expresamos nuestra gratitud al Equipo de Control de Infecciones del Hospital Ángel C. Padilla y al personal médico, de enfermería y mantenimiento de UCI1, presentes durante el desarrollo del estudio por la colaboración y predisposición demostrada.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.ram.2021.03.003](https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.03.003).

Bibliografía

1. Andrade LN, Novais Â, Stegani LMM, Ferreira JC, Rodrigues C, Darini ALC, Peixe L. Virulence genes, capsular and plasmid types of multidrug-resistant CTX-M(-2 -8, -15) and KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from four major hospitals in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;91:164-8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.01.007>.
2. Argente M, Miró E, Martí C, Vilamala A, Alonso-Tarrés C, Ballesster F, Calderón A, Gallés C, Gasós A, Mirelis B, Morta M, Olsina

- M, Sauca G, Sierra M, Rivera A, Navarro F. Molecular characterization of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains after a carbapenem resistance increase in Catalonia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37:82–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2018.02.003>.
3. Candan ED, Aksöz N. *Klebsiella pneumoniae*: Characteristics of Carbapenem Resistance and Virulence Factors. *Acta Biochim Pol*. 2015;62:867–74.
 4. Cantón R, Bryan J. Global antimicrobial resistance: from surveillance to stewardship. Part 1: Surveillance and risk factors for resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10:1269–71.
 5. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, Rossolini GM, Souli M, Giamarellou H. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: Therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:102–11.
 6. Cejas D, Elena A, Guevara Nuñez D, Sevillano Platero P, de Paulis A, Magariños F, Alfonso C, Berger MA, Fernández-Canigia L, Gutkind G, Radice M. Changing epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Argentina: Emergence of hypermucoviscous ST25 and high-risk clone ST307. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;18:238–42, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2019.06.005>.
 7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Four Informational Supplement. CLSI Document M100-30, CLSI, Wayne. 2020.
 8. Enfield KB, Huq NN, Gosseling MF, Low DJ, Hazen KC, Toney DM, Slitt G, Zapata HJ, Cox HL, Lewis JD, Kundzins JR, Mathers AJ, Sifri CD. Control of simultaneous outbreaks of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in an intensive care unit using interventions promoted in the Centers for Disease Control and Prevention 2012 carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Toolkit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35:810–7.
 9. Espinal P, Seifert H, Dijkshoorn L, Vila J, Roca I. Rapid and accurate identification of genomic species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group by MALDI-TOF MS. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:1097–103, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03696.x>.
 10. Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing *K. pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30:1180–5.
 11. Guh AY, Limbago BM, Kallen AJ. Epidemiology and prevention of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in the United States. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12:565–80.
 12. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis*. 2011;53:60–7.
 13. Hayden MK, Lin M, Lolans K, Weiner S, Blom D, Moore NM, Fogg L, Henry D, Lyles R, Thurlow C, Sikka M, Hines D, Weinstein RA, for the Centers for Disease Control and Prevention Epicenters Program. Prevention of colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in long-term acute-care hospitals. *Clin Infect Dis*. 2015, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu1173>.
 14. Judd WR, Ratliff PD, Hickson RP, Stephens DM, Kennedy CA. Clinical and economic impact of meropenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Am J Infect Control*. 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2016.04.218>.
 15. Jure MA, Castillo ME, Musa HE, López CG, Cáceres M, Mochi S, Bousquet A, Genel NA, Arlet G, Decré D. Novel patterns in the molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Tucumán, Argentina. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;19:183–7, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2019.02.015>.
 16. Karampatakis T, Tsergouli K, Iosifidis E, Antachopoulos C, Karapanagiotou A, Karyoti A, Gritsi-Gerogianni N, Tsakris A, Roilides E. Impact of active surveillance and infection control measures on carbapenem-resistant Gram-negative bacterial colonization and infections in intensive care. *J Hosp Infect*. 2018, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2018.05.010>.
 17. Knoester M, de Boer MG, Maarleveld JJ, Claas EC, Bernards AT, de Jonge E, van Dissel JT, Veldkamp KE. An integrated approach to control a prolonged outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O207–15.
 18. Landman D, Babu E, Shah N, Kelly P, Olawole O, Bäcker M, Bratu S, Quale J. Transmission of carbapenem-resistant pathogens in New York City hospitals: Progress and frustration. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1427–31.
 19. Lin MY, Lyles-Banks RD, Lolans K, Hines DW, Spear JB, Petrak R, Trick WE, Weinstein RA, Hayden MK, Centers for Disease Control and Prevention Epicenters Program. The importance of long-term acute care hospitals in the regional epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1246–52.
 20. Lledo W, Hernández M, López E, Molinari OL, Soto RQ, Hernández E, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing enterobacteriaceae in acute care facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2009;58:256–60.
 21. Magiorakos AP, Suetens C, Monnet DL, Gagliotti C, Heuer OE, Group EA-NC. The rise of carbapenem resistance in Europe: Just the tip of the iceberg? *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013;2:6.
 22. Martin RM, Cao J, Brisse S, Passet V, Wu W, Zhao L, Malani PN, Rao K, Bachman MA. Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*. 2016;1:e00261–316, <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00261-16>.
 23. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski, Malamou-Lada ME, Martinez-Martinez L, Navarro F, Nordmann P, Peixe L, Pournaras S, Rossolini GM, Tsakris A, Vatoopoulos A, Cantón R. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: Detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:112–22.
 24. Monstein H, Östholm-Balkhed A, Nilsson M, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson L. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *APMIS*. 2007;115:1400–8, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.00722.x>.
 25. Rodríguez CH, Nastro M, Flores SA, Rodríguez M, Spinozzi M, Bruni G, López AL, David V, Aiassa MS, Marqués IA, Navarro OR, Paniccia L, Famiglietti A, Grupo colaborativo Acinetobacter Argentina. Epidemiología molecular de aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenems en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 2018, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2017.12.004>.
 26. Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria-Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria; Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;30, 22e1–22.e23.
 27. Santolin C, Sesma AC, Llansa MA, Pintado S, Gigela Masso M, Mangiaterra SM. Colonización rectal por bacilos gram negativos multirresistentes: importancia de la detección precoz durante la hospitalización. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2017;51:675–80.
 28. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and

- effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1028–33.
29. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 1995;33:2233–9.
 30. Thairimontrichai A, Apisarnthanarak A. Active surveillance culture program in asymptomatic patients as a strategy to control multidrug-resistant gram-negative organisms: What should be considered? *J Formos Med Assoc.* 2020;119:1581–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfma.2019.08.015>.
 31. Thomas CP, Moore LS, Elamin N, Doumith M, Zhang J, Maharjan S, Warner M, Perry C, Turton JF, Johnstone C, Jepson A, Duncan ND, Holmes AH, Livermore DM, Woodford N. Early (2008-2010) hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-48 carbapenemase in the UK. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;42:531–6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.08.020>.
 32. Vargas JM, Moreno Mochi MP, Nuñez JM, Cáceres M, Mochi S, Del Campo Moreno R, Jure MA. Virulence factors and clinical patterns of multiple-clone hypermucoviscous KPC-2 producing *K. pneumoniae*. *Heliyon.* 2019;5:e01829, <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01829>.
 33. Viale P, Tumietto F, Giannella M, Bartoletti M, Tedeschi S, Ambretti S, Cristini F, Gibertoni C, Venturi S, Cavalli M, De Palma A, Puggioli MC, Mosci D, Callea E, Masina R, Moro ML, Lewis RE. Impact of a hospital-wide multifaceted programme for reducing carbapenem resistant Enterobacteriaceae infections in a large teaching hospital in northern Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21:242–7.
 34. Wernli D, Hausteil T, Conly J, Carmeli Y, Kickbusch I, Harbarth S. A call for action: The application of the international health regulations to the global threat of antimicrobial resistance. *PLoS Med.* 2011;8:e1001022.
 35. World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization. 2017.