

## Detección fenotípica de metalo- $\beta$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* Trujillo-Perú

### Phenotypic detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* Trujillo-Perú

Angie Julca-García<sup>1</sup>; David Zavaleta-Verde<sup>2</sup>; Percy Asmat-Marrufo<sup>3</sup>; Pedro Mercado-Martínez<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio Fisiología Genética Bacteriana, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

<sup>3</sup> Escuela de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145, Trujillo, Perú.

<sup>4</sup> Laboratorio Genética, Reproducción Asistida y Biología-Molecular, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145, Trujillo, Perú.

\* Autor correspondiente: [peemercado\\_1@hotmail.com](mailto:peemercado_1@hotmail.com) (P. Mercado)

DOI: 10.17268/rev.cyt.2020.04.04

#### RESUMEN

Cada vez es más frecuente los altos índices de bacterias resistentes a antibióticos de última generación, que suponen una seria amenaza a la terapia clínica; ante ello, el presente trabajo determinó en 58 cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*, proporcionadas por el Laboratorio Referencial de La Libertad, Perú, la presencia de carbapenemasas del tipo Metallo- $\beta$ -lactamasas (MBL). El método utilizado para evaluar la presencia de carbapenemasas fue el de difusión en disco (DD) y se utilizó discos de imipenem (IPM), meropenem (MEM), ceftazidima (CAZ), cefepime (FEP); y para la detección de Metallo- $\beta$ -lactamasas se usó el método de sinergia en doble disco difusión (DDDS) con EDTA, IPM, MEM y aztreonam (ATM). Se encontró que, de los 58 cultivos de *P. aeruginosa* el 48% expresaron fenotípicamente carbapenemasas, y de ellos el 13,8% Metallo- $\beta$ -lactamasas, porcentajes que se encontraron dentro los rangos reportados por otros autores teniendo en cuenta la relación con el tiempo y área geográfica; así mismo, se demostró la validez de la técnica DDDS para la investigación de MBL, mediante la acción inhibitoria del EDTA y la sensibilidad sobre el ATM.

**Palabras clave:** Metallo- $\beta$ -lactamasas; fenotipo; *Pseudomonas aeruginosa*

#### ABSTRACT

Increasingly, high rates of bacteria resistant to the latest generation antibiotics, which pose a serious threat to clinical therapy; Therefore, the present work determined in 58 *Pseudomonas aeruginosa* cultures, provided by the Reference Laboratory of La Libertad, Peru, the presence of metallo- $\beta$ -lactamases (MBL) type carbapenemases. The method used to evaluate the presence of carbapenemases was disk diffusion (DD) and imipenem (IPM), meropenem (MEM), ceftazidime (CAZ), cefepime (FEP) disks were used; and for the detection of metallo- $\beta$ -lactamases, the method of double disk diffusion synergy (DDDS) with EDTA, IPM, MEM and aztreonam (ATM) was used. It was found that, of the 58 cultures of *P. aeruginosa*, 48% phenotypically expressed carbapenemases, and of them 13.8% Metallo- $\beta$ -lactamases, percentages that were within the ranges reported by other authors taking into account the relationship with the time and geographic area; Likewise, the validity of the DDDS technique for MBL research was demonstrated, through the inhibitory action of EDTA and the sensitivity on the ATM.

**Keywords:** Metallo- $\beta$ -lactamases; phenotype; *Pseudomonas aeruginosa*

#### 1. INTRODUCCIÓN

*Pseudomonas aeruginosa* ha cobrado importancia por su rol oportunista, produciendo mayoritariamente infecciones respiratorias intrahospitalarias; asimismo, es un importante productor de infecciones en individuos cuya barrera mucocutánea ha perdido su continuidad y en pacientes inmunodeprimidos. Las infecciones aso-

ciadas a la atención en salud (IAAS), causadas por *P. aeruginosa* se pueden originar de dos fuentes distintas. Una exógena, que está representada por el ambiente hospitalario y la otra fuente de infección es la endógena y es ocasionada por la flora normal del paciente (Guevara et al., 2015). Además, *P. aeruginosa*, es muy resistente a factores adversos en ambientes hospitalarios. Debido a una variedad de mecanismos de adaptación, supervivencia y resistencia a múltiples clases de antibióticos, mínimos requerimientos nutricionales, las infecciones por cepas de *P. aeruginosa* pueden ser potencialmente mortales y está emergiendo en todo el mundo como una amenaza para la salud pública (Saavedra, 2014 y Moradali et al., 2017)

La capacidad de formar biofilms, diversidad metabólica, resistencia natural y adquirida frente a los antibióticos son también características de *P. aeruginosa* que ha hecho a este microorganismo un problema latente para las infecciones intrahospitalarias (Correa et al., 2015 y Aguilar et al., 2016). “Los mecanismos más frecuentemente implicados en la resistencia a carbapenems en *Pseudomonas aeruginosa* son la disminución de la permeabilidad del antibiótico debido al decremento en la expresión de porinas, disminución de la concentración intracelular del antibiótico mediada por la presencia de bombas de eflujo y modificación e inactivación del antibiótico por hidrólisis mediada por las betalactamasas, que confieren resistencia a los carbapenems y que corresponden a los grupos de AmpC y las carbapenemasas del tipo metalo-beta-lactamasas (MBL)”. *P. aeruginosa* utiliza eventos genotípicos sofisticados para apoyar varios tipos de fenotipos y mecanismos moleculares necesarios para la supervivencia durante la patogénesis y el tratamiento con antibióticos (Moradeli et al., 2017).

Los índices de prevalencia y mortalidad en pacientes durante la primera semana de hospitalización son bastantes altos cuando se trata de *P. aeruginosa* (Bolaños y Iannacone, 2016). Además, este microorganismo puede superar desafíos para persistir y sobrevivir en ambientes altamente hostiles como en el pulmón de pacientes con Fibrosis Cística (FC), como el estrés osmótico por el moco viscoso, el estrés oxidativo, debido a las respuestas del huésped, las concentraciones subletales de antibióticos y la presencia de otros microorganismos. Se ha reconocido que *P. aeruginosa* sufre cambios evolutivos en respuesta a estas fuerzas selectivas durante el proceso de infección crónica como la formación de colonias mucoides por la sobreproducción del polisacárido alginato, que juega un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de biopelícula que le ofrece protección contra los antibióticos y las respuestas del huésped (Winstanley et al., 2016).

Aguilar et al. (2016) reportan que en el Hospital Regional Lambayeque-Perú, durante el año 2014, se produjo una alta frecuencia de infecciones intrahospitalarias, producido por *P. aeruginosa*, habiéndose encontrado en esta bacteria una frecuencia del 63,73% de resistencia a Imipenem, lo que demuestra que, para ese año, ya se tenía el problema en la disponibilidad de los carbapenémicos en el tratamiento terapéutico para esta bacteria. *P. aeruginosa* es un patógeno que presenta un genoma grande que puede desarrollar una gran cantidad de factores asociados con la resistencia a los antibióticos que involucran a casi todas las clases de antibióticos (Bassetti et al., 2018). *P. aeruginosa* sufre frecuentes eventos de recombinación que contribuyen a la evolución de clones epidémicos exitosos. Estas poblaciones están dominadas por clones comunes que pueden aislarse de diversas fuentes clínicas y ambientales (Inacio et al, 2014).

Los carbapenems son los antimicrobianos betalactámicos de más amplio espectro, y se dividen en dos grupos según tengan o no actividad frente a *P. aeruginosa* (Gómez et al. 2015). Los genes que la codifican la producción de carbapenemasas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos y se producen de manera constitutiva o inducible (García et al., 2014). En 1991, se notificó una carbapenemasas transferible en *P. aeruginosa* (cepa GN17203). Poco después, también se describieron OXA-23 en *A. baumannii* y KPC-1 en *Klebsiella pneumoniae*; en los años siguientes, las carbapenemasas se han extendido rápidamente por todo el mundo. Un análisis agrupado de nueve estudios que compararon la mortalidad en infecciones causadas por Enterobacteriaceae encontró que la mortalidad era significativamente mayor en pacientes con infecciones resistentes a carbapenems. Esta situación ha llevado a la OMS a incluir *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y Enterobacteriaceae, resistentes a carbapenems, como problemas críticos prioritarios para la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos (Martínez, 2019).

Las carbapenemasas se incluyen en las cuatro clases moleculares de  $\beta$ -lactamasas. (i) Variantes de KPC (clase A, con mayor frecuencia en enterobacterias y en *P. aeruginosa*) en USA y países de Europa. (ii) NDM y VIM (clase B o metallo- $\beta$  - lactamasas, MBL) también en enterobacterias y *P. aeruginosa*, con NDM presente en todo el mundo y endémico en el subcontinente indio y VIM con mayor frecuencia en Italia, Grecia y Rusia. (iii) Oxacilinasas (clase D, con OXA-48 y otras enzimas relacionadas), frecuentes en países mediterráneos. (iiii) CMY-10 (AMPc-clase C, una enzima rara que hidroliza el imipenem) (Saavedra, 2014; Martínez, 2019). Las  $\beta$ -lactamasas AmpC, que median la resistencia a cefalosporinas, aztreonam e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, presentan baja afinidad a los carbapenems, sin embargo, pueden ocurrir mutaciones espontáneas que llevan a la producción constitutiva de esta enzima en suficiente cantidad y puede hidrolizar los car-

bapenemes. Las bombas de expulsión, siendo la más frecuente MexAB-OprM, media la expulsión de meropenem, fluoroquinolonas, tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol, novobiocina y trimetoprim; la MexXY-OprM expulsa aminoglucósidos. Las pérdidas de porinas, la OprD, es la principal vía de entrada de los carbapenémicos, cuya pérdida produce resistencia de *P. aeruginosa* a los antibióticos mencionados (Molin, 2016).

Las betalactamas de clase A, C y D contienen un residuo de serina en el sitio activo de la lactamasa, mientras que las betalactamasas de clase B contienen uno o dos iones de zinc y, por lo tanto, se denominan MBL, que a su vez se han subdividido en tres subclases (B1, B2 y B3) basado en identidades de secuencia de aminoácidos. Las subclases 1 y 3 poseen dos iones de zinc, mientras que la B2 contiene solo un ion de zinc (Wu et al., 2019). Se han descrito varias variantes tipo como las imipenemasas (IMP), Verona Integron-encoded Metallo- $\beta$ -lactamase (VIM) y New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase (NDM) son las de mayor frecuencia e importancia clínica (Salvador, 2018). “Las MBL son quizá el grupo más relevante de las carbapenemasas. Estas enzimas son inhibidas por agentes quelantes de Zinc, como el ácido-etilendiamino-tetra-acético (EDTA) y el mercaptoacetato de sodio (SMA)” (Aguilar, 2016).

En Perú, la resistencia a antibióticos reporta datos extremadamente altos (Palma et al., 2017), sin embargo, en nuestro medio las investigaciones en Carbapenemasas, específicamente en Metallo- $\beta$ -lactamasas, son escasas. El presente trabajo, forma parte del Programa de Estudio Fenotípico y Genotípico sobre BLEE y Carbapenemasas, implementado por el Laboratorio de Fisiología y Genética Bacteriana de la Universidad Nacional de Trujillo y el Laboratorio de Genética, Reproducción Asistida y Biología Molecular (GENERBIM), de la Universidad Privada Antenor Orrego, y tiene como objetivo informar sobre la detección fenotípica de Carbapenemasas y Metallo- $\beta$ -lactamasas, en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionados por el Laboratorio de Referencia Regional en Salud Pública- La Libertad-Perú.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material biológico

Se utilizaron 58 cultivos de *P. aeruginosa* proporcionadas por el Laboratorio Referencial de La Libertad, Perú, recolectados durante el 2016.

### 2.2 Transporte y reactivación de cultivos

Los cultivos de *P. aeruginosa* proporcionados fueron transportados en cadena de frío para su posterior reactivación en Caldo Infusión Cerebro Corazón por 18 horas a 35°C. Luego se sembró por agotamiento en Agar Cetrimide para la obtención de colonias aisladas, de las cuales se preparó un inóculo estandarizado al tubo 0.5 de la escala de Mc. Farland.

### 2.3 Detección fenotípica de carbapenemasas

Se realizó por el método de difusión disco-DD a fin de realizar la prueba de susceptibilidad a los antibacterianos imipenem (IMP) 10 ug, meropenem (MEM) 10 ug; ceftazidima (CAZ) 30 ug y cefepime (FEP) 30 ug, a una distancia mínima de 20 mm entre ellos. Los criterios de elección para sospecha de producción de carbapenemasas fueron  $IPM \leq 18$  mm,  $MEM \leq 18$  mm,  $CAZ \leq 17$  mm,  $FEP \leq 17$  mm. Los cultivos de *P. aeruginosa* resistentes o intermedios a por lo menos uno de los carbapenemes (IPM y MEM) y resistentes o intermedios a CAZ y/o FEP fueron seleccionados para la prueba de susceptibilidad DDDS. (Clinical Laboratory Standards Institute, 2014).

### 2.4 Detección fenotípica de Metallo- $\beta$ -lactamasas

Se realizó según lo referido por Perozo et al. (2012) utilizando el método de sinergia doble difusión disco-DDDS, para lo cual en una placa con medio Mueller Hinton sembrada con *P. aeruginosa* se colocó en posición central EDTA 750 ug, luego se colocaron discos de IPM, MEM y aztreonam-ATM 30ug, como control, a una distancia de 20 mm del disco EDTA. Después de la incubación la lectura de interpretación para comprobar la producción de Metallo- $\beta$ -lactamasas, fue la observación de sinergia mediante deformación del halo de los antibióticos carbapenémicos hacia el EDTA y la sensibilidad con el disco de ATM (Clinical Laboratory Standards Institute, 2014).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 58 cultivos de *P. aeruginosa*, proporcionados por el Laboratorio de Referencia Regional en Salud Pública-La Libertad, el 48,3% (28/58) dieron positivo para Carbapenemasas, mientras que el 13,8% (8/58) para Metalobetalactamasas (MBL). Las MBL, pertenecen al Grupo B de las Betalactamasas, llamadas Metallo- $\beta$ -lactamasas, por poseer Zinc en su sitio activo. Estos resultados indican que, de los 28 cultivos, si 8 pertenecen al grupo B los 20 restantes pertenecerán a los otros grupos A, C y D. Hay que mencionar que, en nuestro estudio, para la investigación de MBL se usó el método de sinergia doble difusión en disco-DDDS, usando EDTA como la sustancia quelante y el ATM como control, dando el 100% de los cultivos sensibles a este antibacteriano.

**Tabla 1.** Frecuencia de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas proporcionados por el Laboratorio de Referencia Regional en Salud Pública-Trujillo, Perú. 2016

Bacteria	Frecuencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas				
	Negativos		Positivos		Total
	N	%	N	%	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30	51,7	28	48,3	58

**Tabla 2.** Frecuencia de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de metalo- $\beta$ -lactamasas proporcionados por el Laboratorio de Referencia Regional en Salud Pública-Trujillo, Perú. 2016

Bacteria	Frecuencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productoras de metalo- $\beta$ -lactamasas				
	Negativos		Positivos		Total
	N	%	N	%	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50	86,2	8	13,8	58

La resistencia bacteriana a antibióticos es una preocupación constante para la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los estudios en esta línea son de prioridad (Yagui, 2018), así como también para La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA, por sus siglas en inglés) quien “define a un grupo de bacterias incluidas en el término ESKAPE: *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (ERV), *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM), *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de Enterobacter, como patógenos de alta prioridad, por representar problemas clínicos o de salud pública relevante y de ser muy limitadas sus alternativas terapéuticas” (García et al., 2014).

En un estudio realizado por Perozo et al. (2012), de 726 cultivos de *P. aeruginosa*, de origen clínico, 146 (20,11%) mostraron resistencia a los carbapenémicos (IPM y MEM). Al realizar el DDDS con EDTA, el 95,2% (139/146) mostraron efecto sinérgico lo que demuestra la presencia de una Metallo- $\beta$ -lactamasas. Datos reportados por García et al. (2014), quienes, al hacer un estudio de resistencia bacteriana en microorganismos gramnegativos, encontraron la presencia de BLEE en el 22,2%, mientras que la resistencia a los carbapenémicos solo era en un 4,2%. Inacio et al. (2014) utilizando la prueba de DDDS para la determinación de MBL, en cultivos de *P. aeruginosa* de procedencia hospitalaria, encontraron una frecuencia de 30% (12/40). Correa et al. (2015) al determinar la producción fenotípica de BLEE y Metallo- $\beta$ -lactamasas en cultivos de *P. aeruginosa*, en Venezuela, observaron que el 13,6% presentaron BLEE, mientras que el 9% presentó MBL.

Gastelo et al. (2016) realizaron la investigación de producción de carbapenemasas en 50 cultivos de bacterias gramnegativas no fermentadoras, recolectadas del periodo 2014-2015, en Lambayeque-Perú. La frecuencia de producción de carbapenemasas fue de 48% (24/50); de estos 24 cultivos, el 87% corresponden a *Acinetobacter baumannii* y el 10% a *Pseudomonas aeruginosa*. Todos los cultivos de *A. baumannii* expresan carbapenemasas tipo oxacilinasas (tipo D) y todos los cultivos de *P. aeruginosa* presentaron carbapenemasas Metallo- $\beta$ -lactamasas (tipo B). Bolaños e Iannacone (2016) realizaron un estudio bibliográfico en 10 países de Sudamérica, durante el periodo del 2003 al 2014, buscando en *P. aeruginosa* la expresión de cuatro patrones

fenotípicos de resistencia a los betalactámicos: AMPCd, BLEE, KPC, MBL, cuyos resultados fueron: AMPCd 3,4%, BLEE 18,5%, KPC 11,7% y MBL 21,9%. Para el Perú, reportaron un estudio del Hospital Nacional Guillermo Almenara-2008 una frecuencia del 7,8% para MBL. Además, reportan que, para la detección de MBL en *P. aeruginosa* el método más usado es el DDDS con EDTA por su sensibilidad y especificidad del 100%.

En Lambayeque-Perú, Aguilar et al. (2016) de un total de 92 aislamientos de *P. aeruginosa*, se identificó el 26,1% (24/92) como productores de MBL, caracterizados por elevados niveles de CIM para carbapenemes. Los aislamientos productores de MBL presentaron multiresistencia para cefalosporinas, carbapenemes, quinolonas y aminoglucósidos. Salvador et al. (2018) para la determinación fenotípica de MBL en *P. aeruginosa*, aislados de ambiente hospitalario, emplearon la prueba de DDDS utilizando IMP y MER más discos de EDTA; encontraron una frecuencia de 31,6% (24/76). Los 24 cultivos de *P. aeruginosa*, mostraron sinergia con al menos uno de dos carbapenémicos. Molín (2016) seleccionaron 54 cultivos de *P. aeruginosa*, que presentaron valores de intermedio y/o resistencia de CIM a CAZ, MER e IMP. A todos se les evaluó para la presencia de MBL usando las técnicas DDDS y la de discos del Kit Rosco. Por la técnica DDDS se obtuvieron 60% (30/54), mientras que por el del Kit Rosco se obtuvo el 36% (18/54). Las muestras biológicas donde se aislaron *P. aeruginosa* con presencia de MBL fueron en mayor frecuencia, orina, secreción traqueal. En el perfil de sensibilidad para *P. aeruginosa* portadoras de MBLs se observó 100% de resistencia a meropenem, gentamicina y ciprofloxacina.

La producción de enzimas MBL por patógenos es preocupante en todo el mundo. Estas enzimas son notables por su amplio espectro de actividad contra la mayoría de los agentes  $\beta$ -lactámicos, incluidos los carbapenémicos. Las MBL hidrolizan todos los fármacos  $\beta$ -lactámicos disponibles comercialmente, a excepción del aztreonam-ATM. Sin embargo, Inacio et al. (2014) informan cultivos de *P. aeruginosa* resistentes al ATM en un 32,5%; esto sugiere una posible asociación con otros mecanismos de resistencia, por lo que, los medicamentos como la Polimixina B (PB) son frecuentemente la opción terapéutica para estas bacterias productoras de MBL, a pesar de su toxicidad. La resistencia a múltiples medicamentos (MDR) ha aumentado dramáticamente en los últimos años y ahora es reconocido como una gran amenaza en todo el mundo. Los factores de riesgo para el desarrollo de cepas MDR han sido evaluados en un estudio de casos y controles realizado en Brasil, por Bassetti et al. (2018), que compararon 142 pacientes infectados con cultivos de Metallo- $\beta$ -lactamasas contra 26 pacientes infectados con cultivos no productores de MBL. Se demostró que hubo una asociación entre un inicio más rápido de infección y una progresión más rápida a la muerte en los pacientes infectados con cultivos MBL.

Saavedra et al. (2014) investigaron 57 aislamientos de *P. aeruginosa*, considerados sospechosos de producir carbapenemasas y colectados de siete departamentos de Colombia entre los años 2012-2013. Al hacer el estudio de sensibilidad encontraron una frecuencia de 75,4% (43/57) productoras de carbapenemasas. Todos los 43 aislamientos productores de carbapenemasas presentaron perfil de multiresistencia (resistentes a tres familias de antimicrobianos) comparados con los aislamientos no productores de carbapenemasas. Al hacer las pruebas fenotípicas para detectar MBL encontraron una frecuencia de 79,1% (34/43). Salimi and Eftekhari (2014) realizaron pruebas de sensibilidad a 32 cultivos bacterianos productoras de MBL. Encontraron resistencia al 100% en los antibióticos ensayados: ceftazidime (30  $\mu$ g), aztreonam (30  $\mu$ g), carbenicillin (100  $\mu$ g), piperacillin (100  $\mu$ g), ticarcillin (75  $\mu$ g), cotrimoxazole (25  $\mu$ g), amikacin (30  $\mu$ g), cefepime (30  $\mu$ g), ciprofloxacina (5  $\mu$ g), tobramycin (10  $\mu$ g), meropenem (10  $\mu$ g), imipenem (10  $\mu$ g), and piperacillin/tazobactam (110  $\mu$ g). Lo resaltante es que un 3,1% (1/32) fue sensible al aztreonam. Hay que considerar también que las MBL son resistentes a los inhibidores de las serincarbapenemasas, como el clavulanato y tazobactam.

Guevara et al. (2015) realizó un estudio con 10 cultivos de *P. aeruginosa* identificadas como productoras de MBL, para determinar su susceptibilidad antimicrobiana, encontrándose que en la mayoría (9/10) la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos de amplio espectro estuvo asociada a la resistencia a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina, lo cual podría deberse a la presencia de otros mecanismos de resistencia como: las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, bombas de expulsión, alteraciones de la permeabilidad de la pared celular, entre otros. Sin embargo, al analizar el perfil de susceptibilidad de cada cepa estudiada, se encontró que cada una de ellas presentó un patrón diferente independientemente del año y servicio de aislamiento. Da Silva, et al, (2019) al hacer un estudio de sensibilidad a cultivos de *P. aeruginosa*, encuentra tasas de resistencia de 36,78% y 33,91% a Imipenem y Meropenem, respectivamente. De acuerdo con sus resultados consideran que el tratamiento realizado con estos medicamentos para la bacteriemia por *P. aeruginosa*, aún puede tener buen pronóstico, a pesar de otros estudios donde encuentran altos niveles de resistencia a estos fármacos, Se recomienda que los antibacterianos carbapenémicos deben usarse solo en casos específicos.

#### 4. CONCLUSIONES

La frecuencia encontrada para Carbapenemasas y MBL, producidas por *P. aeruginosa*, se encuentran dentro los rangos reportados por otros autores; así mismo, se demuestra la validez de la técnica DDDS para la investigación de MBL, la acción inhibitora del EDTA sobre las MBL y la sensibilidad de las MBL sobre el ATM. Si bien hay datos reportados que no concuerdan con los nuestros, establecemos que la producción de las MBL por *P. aeruginosa*, está en relación con el tiempo y área geográfica. Recomendamos que se siga en el estudio de las carbapenemasas, pero en su conjunto, es decir investigando los otros grupos, no solo fenotípicamente, sino también establecer el tipo de gen del cultivo estudiado.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a los responsables del Laboratorio de Referencia Regional en Salud Pública-La Libertad, por haber proporcionado los cultivos de estudio. Así mismo, su agradecimiento al Laboratorio de Fisiología y Genética Bacteriana de la Universidad Nacional de Trujillo por brindar sus instalaciones para la realización de la presente investigación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilar, F.; Labrín, H.; Moreno, M. 2016. Frecuencia y comparación de tres métodos de detección fenotípica de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalobetalactamasas aisladas en el Hospital Regional Lambayeque. Durante el 2014. *Rev Exp Med*. 2(1): 6-12. DOI: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=25183>
- Bassetti, M.; Vena, A.; Croxatto, A.; Righi, E.; Guery, B. 2018. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context*, 7: 212527. DOI: 10.7573/dic.212527
- Bolaños, C.; Iannacone, J. 2016. Patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* de muestras clínicas a nivel de Sudamérica. *Cátedra Villarreal* 4(1): 73-100.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 24th Informational Supplement, USA. 230pp.
- Correa, K.; Bravo, V.; Silva, R.; Montiel, M. 2015. Susceptibilidad a antibióticos de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de agua de consumo humano de la comunidad Santa Rosa de Agua, Maracaibo, Estado Zulia. *Rev Soc Venez Microbiol* 35: 83-88.
- Da Silva, T.; Soares, H.; da Trindade, E.; Veloso, N.; Souza, L. 2019. Avaliação temporal do perfil de resistência de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes internados em hospital oncológico em Belém-PA, Brasil em 2017. *Braz. J. Hea. Rev.*, Curitiba 2(4): 2453-2465. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n4-018>
- García, T.; Castillo, A.; Salazar, D. 2014. Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Rev Cubana Salud Pública* 40(1): 129-135.
- Gastelo, M.; Díaz, S.; Maguiña, C. 2016. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional de Lambayeque, diciembre 2014 – julio 2015. *Acta Med Peru* 33(3): 183-8.
- Gómez, J.; García, E.; Vázquez, A. 2015. Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter* 28(1): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Guevara, A.; Sahai, J.; Tedesco, R. 2015. Persistencia clonal de *Pseudomonas aeruginosa* productora de Metal- $\beta$ -lactamasas en un hospital de Ciudad Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35, núm. 2, 2015, pp. 77-82.
- Inacio, A.; Bomfim, M.; França, R.; Farias, L.; Carvalho, M.; Serufo, J.; Gonçalves, S. 2014. Phenotypic and Genotypic Diversity of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Bloodstream Infections Recovered in the Hospitals of Belo Horizonte, Brazil. *Chemotherapy* 60: 54–62. DOI: <https://doi.org/10.1159/000365726>
- Martínez, L. 2019. Carbapenemasas: The never-ending story. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 37(1): 73-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.004>
- Molin, C. 2016. Detección Fenotípica de Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en Pacientes que acudieron al Hospital de Clínicas San Lorenzo de febrero a julio 2013. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 14(1): 25-31.
- Moradali, M.; Ghods, S.; Rehm, B. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Front Cell Infect Microbiol*, 7: 39. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>
- Palma, N.; Pons, MJ.; Gomes, C.; Mateu, J.; Riveros, M.; García, W.; Jacobs, J.; García, C.; Ochoa, T.; Ruiz, J. 2017. Resistance to quinolones, cephalosporins and macrolides in *Escherichia coli* causing bacteraemia

- in Peruvian children. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 11: 28-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.06.011>
- Perozo, A.; Castellano, M.; Ling, E. & Arraiz, N. 2012. Detección fenotípica de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Kasmera*, 40(2), 113-121. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0075-52222012000200002&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222012000200002&lng=es&tlng=es).
- Saavedra, S.; Duarte, C.; González, M.; Realpe, M. 2014. Caracterización de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia. *Biomédica*, 34(1): 217-223. DOI: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1685>
- Salimi, F.; Eftekhar, F. 2014. Prevalence of blaIMP and blaVIM gene carriage in metallo- $\beta$ -lactamase-producing burn isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Tehran. *Turk J Med Sci* 44: 511-514. DOI: <https://doi.org/10.3906/sag-1302-67>
- Salvador, g.; García, R.; Gonzales, G. 2018. Caracterización de metalo- $\beta$ -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes hospitalizados en el Hospital Militar Central. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 35(4): 636-41. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.354.3755>
- Winstanley, C.; O'Brien, S.; Brockhurst, M. 2016. *Pseudomonas aeruginosa* Evolutionary Adaptation and Diversification in Cystic Fibrosis Chronic Lung Infections. *Trends in Microbiology*, 24(5): 327-337. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.008>
- Wu, W.; Feng, Y.; Tang, G.; Qiao, F.; McNally, A.; Zong, Z. 2019. NDM metallo- $\beta$ -lactamasas and their bacterial producers in health care settings. *Clin Microbiol Rev*. 32: 115-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00115-18>
- Yagui, M. 2018. Resistencia antimicrobiana: nuevo enfoque y oportunidad. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 35(1): 7-8. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3594>