

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Caracterización fenotípica y molecular de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la ciudad de Mar del Plata

## *Phenotypic and molecular characterization of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in the city of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina*

Giletto, Giuliana<sup>1\*</sup>; García, Martina<sup>3</sup>; Chianalino, Daniela<sup>3</sup>; Keller, Lorena<sup>2</sup>; Morvay, Laura<sup>1</sup>; Tomassini, Lorian<sup>1</sup>; Cortazar, María Mercedes<sup>1</sup>; Cañas, Marisol<sup>3</sup>; Damiano, Rocío<sup>3</sup>; Moran, Natalia<sup>4</sup>; Elorza, María Victoria<sup>2</sup>; Giustina, Silvina<sup>2</sup>; Fares Taie, Hernan<sup>2</sup>; Faccone, Diego<sup>5</sup>; Guerriero, Leonor<sup>2</sup>; Quintana, Silvina<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil (HIEMI) Don Victorio Tetamanti. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Fares Taie Biotecnología. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital Interzonal General de Agudos (HIGA) Dr. Oscar Alende. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Servicio de Laboratorio del INAREPS. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina;

<sup>5</sup>Servicio de Antimicrobianos, INEI ANLIS "Dr. C. Malbran". Buenos Aires, Argentina.

<sup>6</sup>Instituto de Investigaciones en Producción Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

\*Contacto: Giletto, Giuliana. Sector Bacteriología, Laboratorio del HIEMI V. Tetamanti. Castelli 2450. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; giuliana.giletto@gmail.com

### Resumen

Introducción: Los carbapenémicos constituyen uno de los grupos de antibióticos utilizados como último recurso en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias multiresistentes aisladas en muestras clínicas. La resistencia a los mismos es causada, en mayor medida, por enzimas que hidrolizan este grupo de antibióticos entre las que se destacan las carbapenemasas de clase A (como KPC), las de clase B (metalobetalactamasas como NDM, IMP y VIM) y las de clase D (oxacilinasas como la OXA-48 y sus variantes). Objetivos: El presente trabajo describe las características epidemiológicas, fenotípicas y moleculares de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) aisladas en distintos centros de salud de la ciudad de Mar del Plata. Resultados: El 45 % [47/103] de los aislamientos fue productor de KPC; el 44 % [45/103], de OXA-163; el 8 % [8/103], de NDM y un 3 % fueron enterobacterias dobles productoras de carbapenemasas (1 KPC + NDM y 2 OXA-163 + NDM). De las 103 cepas, 25 fueron aisladas de muestras de hisopados de vigilancia, mientras que las 78 restantes correspondieron a muestras clínicas de infecciones. *Klebsiella pneumoniae* es el principal agente productor de carbapenemasas, y las enzimas de tipo KPC y OXA-163 son las más prevalentes en la ciudad. Discusión: Resulta de gran importancia conocer la epidemiología de las CPE, ya que debido al aumento en el uso indiscriminado de antibióticos, la resistencia antimicrobiana se ha convertido en una amenaza para la salud pública.

**Palabras clave:** resistencia, antimicrobianos, carbapenemasa, KPC, OXA, NDM.

### Abstract

Introduction: Carbapenems constitute one of the groups of antibiotics used in the treatment of infections caused by multiresistant Enterobacteriaceae isolated from clinical samples. Resistance to these antibiotics is caused mainly by enzymes that hydrolyze this group of antibiotics, among which the most studied are class A carbapenemases (such as KPC), class B carbapenemases (metallo beta-lactamases such as NDM, IMP and VIM) and those of class D (oxacillinases such as OXA-48 and its variants). Objectives: The present work describes the epidemiological, phenotypic and molecular characteristics of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) isolated in different health centers in the city of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. Results: About 45% [47/103] of the isolates were producers of KPC, 44% [45/103] of OXA-163, 8% [8/103] of NDM, and 3% were double carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (1 KPC + NDM and 2 OXA-163 + NDM). Twenty-five of the 103 strains were isolated from surveillance swab samples, while the remaining 78 were from clinical samples of infections. *Klebsiella pneumoniae* was the main carbapenemase-producing agent, with KPC and OXA-163-type enzymes being the most prevalent in the city. Discussion: It is of great importance to know the epidemiology of CPE, since due to the increase in the indiscriminate use of antibiotics, antimicrobial resistance has become a threat to public health.

**Keywords:** resistance, antimicrobials, carbapenemase, KPC, OXA, NDM.

## Introducción

La emergencia de enterobacterias resistentes a una amplia variedad de antimicrobianos de importancia clínica es una realidad en nuestro medio; por ello es cada vez mayor la necesidad de detectar estas resistencias precozmente en el laboratorio.<sup>1</sup> La gran aceleración observada en la última década en la diseminación de la resistencia a los antimicrobianos tiene una vinculación directa con el abuso y el mal uso de estos agentes terapéuticos. Se estima que el 50 % de todos los antimicrobianos que se prescriben es innecesario o se usa de manera inadecuada. Las causas de esto son, entre otras, la indicación de antibióticos en infecciones que no lo requieren, la presión que ejercen el paciente o sus familiares por insuficiente comprensión de la utilidad de los antimicrobianos, la falta de pruebas apropiadas de diagnóstico y el uso creciente de antibióticos con fines no terapéuticos en la producción intensiva de animales destinados al consumo humano.<sup>2</sup>

La familia de los betalactámicos es una de las familias de antimicrobianos más numerosa y más utilizada en la práctica clínica. A lo largo de los años, se han ido incorporando nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos, capaces de superar las resistencias adquiridas frente a sus predecesores.<sup>3</sup>

Los carbapenémicos forman parte de la familia de betalactámicos y constituyen uno de los grupos de antibióticos utilizados como último recurso en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias multirresistentes aisladas en muestras clínicas. La resistencia a carbapenémicos en el ámbito hospitalario se puede atribuir a distintos mecanismos, entre los cuales se destacan las enzimas que hidrolizan este grupo de antibióticos.<sup>4</sup>

En enterobacterias, se han descrito las tres clases de enzimas con actividad frente a carbapenémicos, i) las carbapenemasas de clase A (como KPC), inhibibles por ácido borónico, ii) las de clase B (metalobetalactamasas como NDM, IMP y VIM), las cuales no presentan actividad frente a aztreonam y cuya acción es inhibida con EDTA; y iii) las de clase D (como la oxacilinasas OXA-48).<sup>3</sup> Estas enzimas crean una complejidad terapéutica, ya que aún no se ha determinado la antibioticoterapia de elección frente a dichas cepas y, además, porque generan multirresistencia frente a otras familias de antibióticos. Una preocupación actual es que los genes que las codifican se encuentran incluidos en plásmidos conjugativos que les confieren a las bacterias un gran potencial de diseminación a otros patógenos nosocomiales. El uso desmedido de carbapenémicos es un factor importante en la generación y selección de organismos productores de carbapenemasas.<sup>5</sup>

La primera carbapenemasa identificada en enterobacterias fue SME-1 (*Serratia marcescens* enzyme) en Londres en 1982 y, posteriormente, en 1984, se describe la enzima IMI-1 (*imipenem-hydrolyzing*  $\beta$ -lactamase) en Estados Unidos.<sup>6</sup> En 1996, se realizó el primer aislamiento clínico de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos

mediante la producción de carbapenemasa tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*) en Carolina del Norte, Estados Unidos. En Argentina, la primera detección de *K. pneumoniae* productora de KPC fue a finales de 2006.<sup>7</sup> En cuanto a NDM, los primeros microorganismos con este tipo de carbapenemasa fueron detectados en las Américas durante el 2010 en Estados Unidos y Canadá.<sup>8,9</sup> En nuestro país, el primer aislamiento fue realizado a mediados del año 2013, en una cepa de *Providencia rettgeri* proveniente de un hospital de la Ciudad de Buenos Aires y solo presentó sensibilidad a gentamicina y ampicilina (fenotipo de extrema resistencia).<sup>10</sup> Desde el descubrimiento de la carbapenemasa OXA-48, se han descrito múltiples variantes, que difieren en un pequeño número de aminoácidos con respecto a la secuencia de OXA-48 (OXA-48 like), entre las que se encuentran: OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA244 y OXA-245, entre otras. Desde las zonas tradicionalmente endémicas de enterobacterias productoras de OXA-48 (Turquía, Oriente Medio y África), en los últimos años se ha producido una rápida diseminación a los países europeos, mientras que en el continente americano, por el momento, solo se han comunicado casos esporádicos de enterobacterias productoras de OXA-48 like.<sup>11</sup>

En el año 2014, la OMS informó que las cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos se habían diseminado mundialmente y que el principal mecanismo de resistencia era la enzima KPC. Además, se había producido un aumento en la tasa de resistencia a carbapenémicos por sobre el 50 %, lo cual ha llevado a un incremento de la mortalidad y morbilidad en pacientes con infecciones por *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos.<sup>12</sup> A comienzos de 2017, la OMS publicó una lista de patógenos prioritarios que representan la mayor amenaza para la salud humana. Se destacan en el grupo crítico las bacterias resistentes a los carbapenémicos como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación y/o resistentes a carbapenémicos.<sup>7</sup>

La difusión mundial de cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC ha revelado la diseminación exitosa de un clon definido como *secuenciotipo* (ST) 258. La epidemiología de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) en nuestro país es fuertemente dominada por *K. pneumoniae* productora de KPC, mayoritariamente perteneciente al ST 258.<sup>13</sup> El gen codificante para la enzima KPC ha sido comúnmente asociado con el transposón Tn4401, que es posiblemente responsable de su adquisición. Un entorno diferente fue descrito en plásmidos de enterobacterias detectadas en China, donde *bla*KPC se asoció con un transposón similar a Tn801. Además, ST11 demostró ser el clon dominante de *K. pneumoniae* productora de KPC en China, donde ST258 no fue detectado.<sup>14</sup>

El ST258 es un clon híbrido, derivado de eventos de recombinación entre el ST11 y ST442. Particularmente, ST258 es levemente virulento, sin embargo, las tasas de mortalidad atribuidas a este clon son elevadas, y esto puede ex-

plicarse, en parte, por la baja eficacia de los antimicrobianos utilizados contra *K. pneumoniae* productora de KPC y la gravedad de las condiciones subyacentes de los pacientes. En los últimos años, nuevas cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC han surgido en el nivel internacional y corresponden a clones hipervirulentos que han adquirido ampliamente marcadores genéticos de resistencia a los antimicrobianos.<sup>15</sup>

La detección de CPE por métodos fenotípicos es con frecuencia difícil. De hecho, estos aislamientos no siempre muestran un valor de concentración inhibitoria mínima (CIM) para carbapenémicos que esté en el rango de resistencia y que, por lo tanto, podría pasar desapercibido. La detección se basa primero en los resultados de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos obtenidos por métodos de difusión o por sistemas automatizados.<sup>16</sup> En Argentina, para la sospecha fenotípica y la clasificación de los aislamientos, se utilizan los puntos de corte actuales del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) y del Comité Europeo de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST), además de las recomendaciones del Servicio de Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”).

Los procedimientos microbiológicos tradicionales requieren varios días para aislar los patógenos causantes, responsables de la infección y proporcionar los resultados de sensibilidad a los antimicrobianos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método molecular más utilizado en estudios diagnósticos y epidemiológicos para la detección de resistencia a antibióticos. Consiste en la amplificación con cebadores específicos de un gen *target* que se supone que confiere la resistencia, y la posterior visualización de los productos de amplificación. Este tipo de técnicas permite obtener resultados en menos de 4 horas, lo que otorga utilidad para el diagnóstico rápido y tratamiento oportuno y específico de infecciones causadas por bacterias resistentes.<sup>17</sup>

El objetivo de este estudio fue describir las características epidemiológicas, fenotípicas y moleculares de las enterobacterias productoras de carbapenemasas CPE aisladas en distintos centros de salud de la ciudad de Mar del Plata. Los objetivos específicos fueron describir la epidemiología de las carbapenemasas en las diferentes poblaciones de los centros de salud de la ciudad de Mar del Plata a través de la caracterización fenotípica y genotípica de las CPE de tipo KPC, NDM y OXA-48 like, y detectar *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC perteneciente al ST258 mediante la amplificación de gen *pilV*.

## Materiales y métodos

### Descripción del estudio

Ámbito de estudio: Se estudiaron cepas de CPE obtenidas de muestras clínicas en 5 centros de salud públicos y privados de la ciudad de Mar del Plata: Sanatorio Belgrano, Hospital Bernardo A. Houssay, Hospital Interzonal Especializado

Materno Infantil “Don Victorio Tetamanti”, Hospital Interzonal General de Agudos “Dr. Oscar E. Alende” y el Instituto Nacional de Rehabilitación Psicosfísica del Sur. La investigación abarcó desde febrero de 2020 hasta noviembre de 2021.

Tipo de estudio y diseño: Se llevó a cabo un estudio descriptivo, observacional, transversal y prospectivo.

Población y muestra: Se incluyeron 103 enterobacterias obtenidas por cultivo de muestras clínicas (orina, sangre, partes blandas, hisopados de vigilancia, catéter, etc.), que fueron previamente identificadas como CPE o sospechosas de ser CPE mediante métodos fenotípicos. Las bacterias se clasificaron según género y especie, sitio de aislamiento clínico y tipo de carbapenemasa producida (KPC, MBL u OXA-48 like). Criterios de inclusión: Se incluyeron cultivos positivos para enterobacterias que cumplieran criterios para sospecha de carbapenemasa según algoritmos del Servicio de Antimicrobianos (LNR), INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” (definidas en el apartado 2., “Métodos fenotípicos de identificación y sensibilidad”). Criterios de exclusión: Se excluyeron Bacilos gramnegativos no fermentadores u otras especies no incluidas en el orden de *Enterobacterales*.

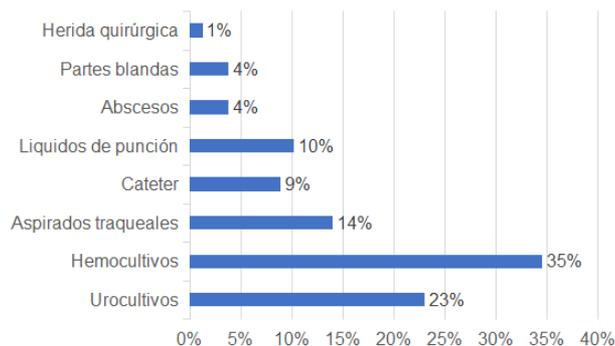
### Métodos fenotípicos de identificación y sensibilidad

De cada cepa bacteriana aislada de un medio de cultivo, fue identificado el género y la especie por métodos manuales (pruebas bioquímicas para enterobacterias: citrato, SIM, urea, TSI, fenilalanina, etc) o automatizados (BD Phoenix). A su vez, se realizaron las pruebas de sensibilidad correspondientes a enterobacterias por métodos de difusión en discos y automatizados. Se estudiaron aquellas que presentaban halos de disco de imipenem  $\leq 22$  mm (Proteae: meropenem  $\leq 22$  mm) para sospecha de KPC y MBL o ertapenem  $\leq 24$  mm + piperacilina/tazobactam  $\leq 15$  mm para sospecha de OXA-48. En el caso de la utilización de equipos automatizados, se aplicó el criterio de la CIM a imipenem  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$  (Proteae: meropenem  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$ ) para KPC y MBL o CIM a ertapenem  $\geq 0,5$   $\mu\text{g/ml}$  + CIM a piperacilina/tazobactam  $\geq 64$   $\mu\text{g/ml}$  + CIM a cefepime  $\geq 16$   $\mu\text{g/ml}$  para OXA-163. En cualquiera de estos casos, se procedió a la realización de diferentes métodos que dan sustento a la presencia de una carbapenemasa: método de Hodge, métodos colorimétricos (Blue Carba o Carba NP), método de discos combinados (DCM-Brit), método modificado de inactivación de carbapenemes (mCIM) e inmunocromatografías, según correspondiera.<sup>18,19</sup>

### Métodos genotípicos confirmatorios

La confirmación genotípica se realizó por métodos moleculares de PCR en tiempo real en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto Fares Taie. Se hizo la detección de los genes implicados en los mecanismos que confieren resistencia a los carbapenémicos: *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>OXA48L</sub>, según correspondiera, con el antibiograma previo realizado.

Extracción del ADN bacteriano: Se llevó a cabo a partir de aislamientos puros, utilizando el kit comercial *ADN High Pure PCR Template preparation Kit*, según indicaciones del

**Figura 1.** Distribución de los aislamientos bacterianos de muestras clínicas.

fabricante (Roche Diagnostics Corporation). Como control de la extracción, se realizó una PCR de detección de ADN ribosomal 16s.

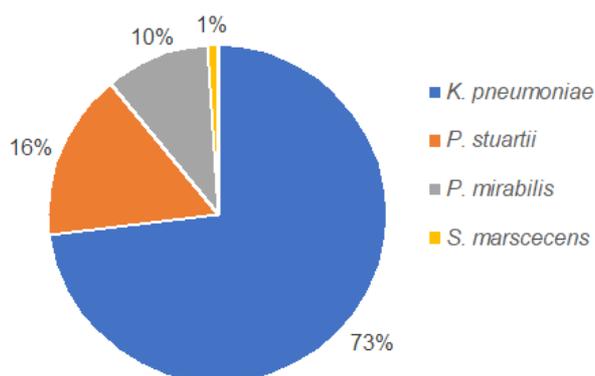
Detección de genes codificantes para carbapenemasas: Con el fin de detectar las variantes descriptas se llevaron a cabo amplificaciones por PCR en tiempo real en un termociclador Rotor Gene Q, utilizando una mezcla fluorescente EvaGreen preformada y optimizada con los componentes de la reacción (Master Mix 2X KAPA HRM, Biosystems), exceptuando *primers* y agua, en un volumen final de 20  $\mu$ l. Para cada gen, se validaron protocolos específicos basados en los utilizados por el Servicio de Antimicrobianos INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", pero modificados para ser realizados por PCR en tiempo real.

Protocolo para la detección de *bla*<sub>KPC</sub>: Con los cebadores KPC-F 5-AACAAGGAATATCGTTGATG-3 y KPC-R 5-AGATGATTT-CAGAGCCTTA-3-] se amplifica un producto de 916 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 40 segundos a 54°C y 40 segundos a 72°C.

Protocolo para la detección de *bla*<sub>NDM</sub>: Con los cebadores NDM-F 5-AGCACACTTCTATCTCGAC-3 y NDM-R 5-GGCGTAGT-GCTCAGTGTC-3-] se amplifica un producto de 512 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 52°C y 40 segundos a 72°C.

Protocolo para la detección de *bla*<sub>OXA48L</sub>: Con los cebadores OXA48-F 5-ATGCGTGTATTAGCCTTATCGG-3 y OXA48-R 5-TGAGCACTTCTTTTGTGATG-3, se amplifica un producto de 775 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 54°C y 40 segundos a 72°C.

Confirmación por secuenciación: Durante el proceso de puesta a punto de las metodologías moleculares, se estudió la secuencia de los amplicones generados con el fin de corroborar la especificidad de las PCR para detectar las diferentes resistencias. Los fragmentos de ADN amplificados se purificaron con el kit de purificación de gel Accuprep (Bio-ner, Corea del Sur) y se secuenciaron directamente (ABI 3500 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Las similitudes de secuencias se determinaron

**Figura 2.** Identificación de los aislamientos según género y especie.

mediante la herramienta de búsqueda de alineación local básica BLAST, NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Detección del gen *pilV*: En aquellos aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC, se realizó la detección del gen *pilV* utilizado como marcador del clon internacional ST258. Como cebadores se utilizaron el *pilV* TGATGCTGAT-GGCAGACTGA y *pilV*R TGTAGTCACACCTGCCCA, que amplifican un producto de 320 pb.

## Resultados

### Análisis del total de aislamientos

De las 103 cepas remitidas al laboratorio, 25 fueron aisladas de muestras de hisopados rectales de vigilancia, mientras que las 78 restantes correspondieron a muestras clínicas de infecciones. La distribución según origen de estas últimas fue: 35 % (n=27) de hemocultivos, 23 % (n=18) de urocultivos, 14 % (n=11) de aspirados traqueales, 10 % (n=8) de líquidos de punción, 9 % (n=7) de catéteres, 4 % (n=3) de abscesos, 4 % (n=3) de partes blandas y 1 % (n=1) de heridas quirúrgicas (Figura 1).

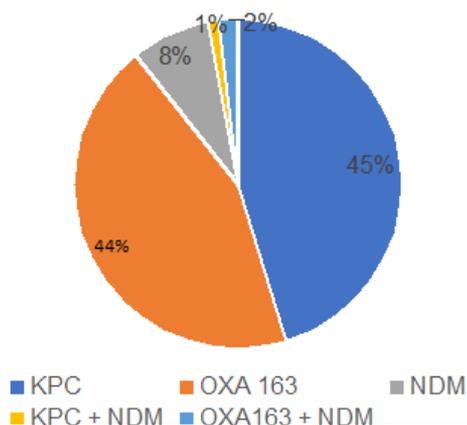
Del total de cepas, 73 % (n=75) correspondió a *K. pneumoniae*, mientras que un 16 % (n=17), a *Providencia stuartii*, un 10 % (n=10), a *Proteus mirabilis* y un 1 % (n=1), a *Serratia marcescens* (Figura 2).

Se logró la correcta puesta a punto de las metodologías moleculares y la especificidad de las mismas fue corroborada por secuenciación. En cuanto a los resultados obtenidos del estudio de los diferentes aislamientos, el 45 % (n=47) fueron productores de KPC, el 44 % (n=45) de OXA-163, el 8 % (n=8) de NDM y el 3 % (n=3) fueron dobles productores de carbapenemasas: uno de ellos de KPC y NDM y dos de ellos de OXA-163 y NDM (Figura 3).

### Distribución en el tiempo

Con base en los períodos de tiempo estudiados, se observó que, durante el año 2020, prevalecieron las carbapenemasas productoras de KPC, mientras que durante el año 2021, esto se fue modificando con un claro aumento de las carbapenemasas de tipo OXA-163 y la aparición de las cepas dobles productoras de carbapenemasas (DP) (Figura 4).

**Figura 3.** Tipos de carbapenemasas.



**Distribución de aislamientos por centro de salud**

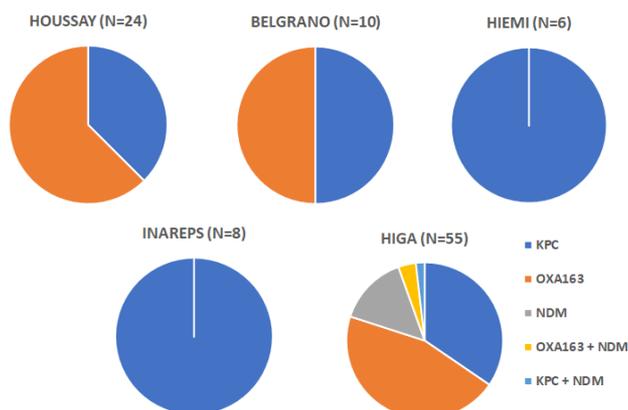
De los 103 aislamientos totales, el 53 % (n=55) fue remitido del HIGA Dr. Alende; el 23 % (n=24), del Hospital Houssay; el 10 % (n=10), del Sanatorio Belgrano; el 8 % (n=8), del INAREPS y el 6 % (n=6), del HIEMI V Tetamanti. La distribución de carbapenemasas en cada centro de salud se observa en la Figura 5.

**Detección del gen *pilV* en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC**

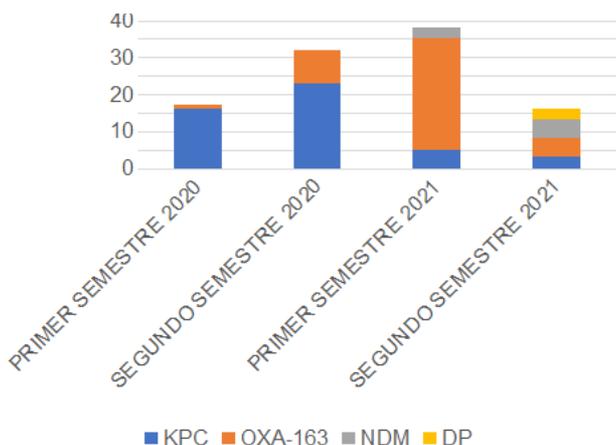
De los 47 aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC, en solo 7 (15 %) se detectó el gen *pilV*, utilizado como marcador del clon ST258. En el 85 % restante (40 aislamientos), la PCR resultó no detectable para este marcador (Figura 6).

Los aislamientos pertenecientes al ST258 fueron hallados en dos de los centros de salud estudiados: 2 de ellos en el Sanatorio Belgrano y 5 en el Hospital Houssay. Todos ellos aparecieron dentro de los primeros tres meses que abarcó la investigación.

**Figura 5.** Distribución de carbapenemasas en los cinco centros de salud.



**Figura 4.** Distribución de carbapenemasas en los períodos de tiempo estudiados.

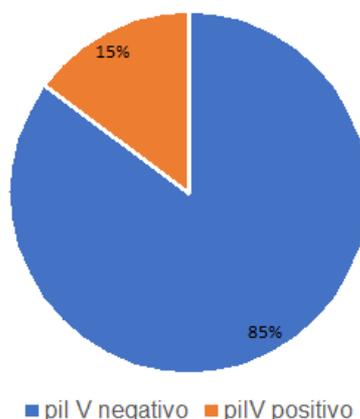


**Discusión**

Los carbapenémicos constituyen uno de los grupos de antibióticos disponibles más potentes que existen y son el tratamiento de elección para infecciones graves causadas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y para infecciones nosocomiales producidas por *P. aeruginosa* y *A. baumannii* multiresistentes. Su amplia utilización durante los años 80 y 90 para el tratamiento de infecciones originadas por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE ha contribuido, junto con otros factores, al rápido desarrollo de la resistencia a carbapenémicos. En la actualidad, la diseminación de CPE se considera un grave problema en la práctica clínica debido al fracaso en el tratamiento de las infecciones que ellas producen.

Esta investigación resume el trabajo colectivo y permanente de 2 años (2020 - 2021) realizado en diferentes laboratorios de la ciudad de Mar del Plata, en Argentina, contribuyendo al conocimiento de la prevalencia de estos patógenos en la localidad. A lo largo del estudio, se identificaron 4 especies distintas de CPE, de las que *K. pneumoniae* fue la más frecuentemente aislada y representó el 76 % de las cepas, coincidiendo con lo

**Figura 6.** Detección del gen *pilV* en *K. pneumoniae* productores de KPC.



referido en bibliografía nacional y mundial.<sup>6,20,21</sup>

En cuanto a los mecanismos enzimáticos, tanto las enzimas de tipo KPC como OXA-163 fueron las más prevalentes en nuestra ciudad. Si bien es coincidente con la situación epidemiológica de Provincia de Buenos Aires y CABA, esto no sucede en otras provincias del país donde no es tan frecuente el aislamiento de CPE de tipo OXA-163.<sup>22</sup>

La coproducción de distintas carbapenemasas en una misma cepa se ha descrito por primera vez en Argentina durante la primera ola de la pandemia de COVID-19, en 2020.<sup>23</sup> En el presente estudio, recién en el último período de tiempo estudiado (noviembre de 2021) aparecieron las primeras cepas DP solo en uno de los hospitales participantes. Estos aislamientos constituyen un doble desafío para el control de infecciones y para la selección del tratamiento antimicrobiano óptimo. Las pruebas fenotípicas pueden no poner de manifiesto la presencia de ambas carbapenemasas, por lo que se destaca la importancia de utilizar métodos adecuados y complementarlos con técnicas moleculares de detección genotípica.

Es importante resaltar que todos los aislamientos fueron de pacientes internados, por lo que se puede atribuir su existencia a ciertos factores de riesgo como haber recibido tratamientos antibióticos previos, haber sido sometidos a intervenciones quirúrgicas, presencia de dispositivos (sondas urinarias y catéteres centrales), presencia de comorbilidades y estancias hospitalarias prolongadas. Debe destacarse la alta proporción de bacteriemias (27 %) producidas por estas bacterias, siendo esta la situación clínica más grave que puede llevar al aumento en las tasas de mortalidad en el ámbito hospitalario.

*K. pneumoniae* ST258 es un clon de alto riesgo y ha sido en gran parte responsable de la propagación global de la resistencia a los carbapenémicos entre las enterobacterias.<sup>15</sup> La amplificación del gen *pilV* en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC se encuentra asociada al clon ST258. En nuestro estudio, se vio que la mayoría de los aislamientos no pertenecían a este secuenciotipo, lo que indicaría que hay una mayor diversidad de clones circulantes o que el clon ST258 fue reemplazado por otro clon mayoritario.

El presente es el primer trabajo en el cual se estudia en profundidad la epidemiología de las CPE en la ciudad de Mar del Plata y constituye un importante aporte, ya que debido al aumento en el uso indiscriminado de antibióticos, la resistencia antimicrobiana se ha convertido en una amenaza para la salud pública.

## Referencias bibliográficas

- Famiglietti A, Quinteros M, Vázquez M, Marín M, Nicola F, Radice M, et al. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. Rev Argent Microbiol. 2005;37: 57-66.
- Lazovski J, Corso A, Pasteran F, Monsalvo M, Frenkel J, Cornistein W, et al. Estrategia de control de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Argentina. Rev Panam Salud Pública. 2018;41:e88.
- Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2010;28(9):638-45.
- Gomez S, Rapoport M, Togneri A, Viegas-Caetano J, Faccione D, Corso A, et al. Emergence of Metallo- $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae from Argentina. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;69(1):94-7.
- García DMM. Carbapenemasas, una amenaza actual. Rev Cuba Med Intensiva Emerg. 2012;11(4):2613-2618.
- Vera-Leiva A, Barría-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al. KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. Rev Chil Infectol. 2017;34(5):476-84.
- Córdova E, Lespada MI, Gómez N, Pasterán F, Oviedo V, Rodríguez-Ismael C. Descripción clínica y epidemiológica de un brote nosocomial por Klebsiella pneumoniae productora de KPC en Buenos Aires, Argentina. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2012;30(7):376-379.
- Center of Disease Control and Prevention. Detection of Enterobacteriaceae Isolates Carrying Metallo-Beta-Lactamase - United States, 2010. Morb Mortal Wkly Rep. 2010;59(24):750.
- Mulvey MR, Grant JM, Plewes K, Roscoe D, Boyd DA. New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli, Canada. Emerg Infect Dis. 2011;17(1):103.
- Pasteran F, Meo A, Gomez S, Derdoy L, Albronz E, Faccione D, et al. Emergence of genetically related NDM-1-producing Providencia rettgeri strains in Argentina. J Glob Antimicrob Resist. 2014;2(4):344-345.
- Carrascoso GR. Características microbiológicas y clínico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48 en el contexto de un brote hospitalario. Tesis inédita de la Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología. 2016.
- World Health Organization. Regional Office for Europe. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2014. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/346076>
- Anchordoqui MS, De Belder D, Lucero C, Rapoport M, Faccione D, Rodriguez A, et al. In vivo horizontal dissemination of the blaKPC-2 gene carried on diverse genetic platforms among clinical isolates of Enterobacteriaceae. J Glob Antimicrob Resist. 2015;3(3):210-213.
- Gomez SA, Pasteran FG, Faccione D, Tijet N, Rapoport M, Lucero C, et al. Clonal dissemination of Klebsiella pneumoniae ST258 harbouring KPC-2 in Argentina. Clin Microbiol Infect. 2011;17(10):1520-1524.
- Cejas D, Elena A, Guevara Nuñez D, Sevillano Platero P, De Paulis A, Magariños F, et al. Changing epidemiology of KPC-producing Klebsiella pneumoniae in Argentina: Emergence of hypermucoviscous ST25 and high-risk clone ST307. J Glob Antimicrob Resist. 2019;18:238-242.
- Hara GL, Gould I, Endimiani A, Pardo PR, Daikos G, Hsueh PR, et al. Detection, treatment, and prevention of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Recommendations from an International Working Group. J Chemother. 2013;25(3):129-140.
- Lupo A, Papp-Wallace KM, Sendi P, Bonomo RA, Endimiani A. Non-phenotypic tests to detect and characterize antibiotic resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013;77(3):179-194.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. M100-S27. 2020.
- Prat Miranda MS. Recomendaciones para detección de carbapenemasas en enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa. Chile: Instituto de Salud Pública. Ministerio de Salud; 2018.
- Nastro DM, de Gregorio S, Rodríguez H, Farina J, Foccoli M, Vay C, et al. Enterobacterias portadoras de KPC en un hospital universitario. Rev Asoc Médica Argent. 2016;129(2):3.
- Tártara SG. Patógenos emergentes - Tercera parte «Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas (Kpn-KPC)». Rev Nefrol Dial Trasp. 2013;33(2):7.
- Gritti MA, Favalesso MM, Capará LGG, Peichoto ME. Resistencia a antibióticos de relevancia clínica en un hospital de Corrientes. Medicina (Mex). 2021;81(6):8.
- Pasteran F, Ceriana P, Lucero C, Faccione D, Gomez S, De Belder D, et al. Emergence of Enterobacteriales with co-expression of two carbapenemasas during COVID-19 pandemic in Argentina: KPC+NDM, NDM+OXA-48 and KPC+IMP. 2021. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/04/Emergence-of-Enterobacteriales-with-co-expression-of-two-carbapenemasas-during-COVID-19-pandemic-in-Argentina.pdf>