

# Caracterización fenotípica y molecular de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasas tipo OXA-48 circulantes en Chile

## Phenotypic and molecular characterization of OXA-48 like producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Chile

Ingrid Araya<sup>1</sup>, Freddy Roach-Poblete<sup>2</sup>, Teresa Tapia<sup>1</sup>, Paula I. Rodas<sup>1</sup>, Aura Villamil<sup>1</sup>, Rocío Aguero<sup>1</sup>, Rodrigo Iglesias<sup>1</sup>, Diego Gárate<sup>1</sup>, Oscar Duery<sup>1</sup>, Roberto Flores<sup>1</sup>, Daniel Ibáñez<sup>1</sup>, Jorge Fernández<sup>3</sup>, Pamela Araya<sup>1</sup>, Mauro Orsini<sup>4</sup> y Juan Carlos Hormazábal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bacteriología, Sub-departamento de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Laboratorio Biomédico, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, Chile.

<sup>2</sup>Laboratorio Clínico, Hospital Regional de Antofagasta Dr. Leonardo Guzmán, Antofagasta, Chile

<sup>3</sup>Sub-departamento de Genética Molecular, Departamento de Laboratorio Biomédico, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Departamento de Calidad y Seguridad de la Atención, Ministerio de Salud de Chile.

Financiamiento: Plan anual Instituto de Salud Pública de Chile.

Conflictos de interés: ninguno

Recibido: 16 de septiembre de 2021 (segunda versión: 17 de marzo de 2022) / Aceptado: 25 de agosto de 2022)

### Resumen

**Introducción:** La aparición y diseminación de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos ha generado un gran impacto en las infecciones asociadas a la atención de salud en el mundo. Recientemente, en Chile se detectó un brote por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas tipo oxacilinasas (OXA) de la subfamilia tipo OXA-48, reportándose los primeros casos en pacientes hospitalizados mayoritariamente en la zona norte del país. **Objetivo:** Determinar los perfiles fenotípicos, genotípicos y de susceptibilidad antimicrobiana de 16 cepas referidas durante mayo del año 2021 desde las regiones de Antofagasta y Metropolitana al Laboratorio de Referencia del Instituto de Salud Pública. **Metodología:** Las cepas provenientes de muestras clínicas fueron analizadas mediante técnicas tradicionales (Kirby-Bauer y epsilometría) y automatizadas, además de técnicas colorimétricas, inmunocromatográficas y moleculares (RPC y PFGE). **Resultados:** Se detectó la presencia de los genes *bla*<sub>oxa-48</sub> y *bla*<sub>oxa-232</sub> con una resistencia inusual, tanto a carbapenémicos (ertapenem, imipenem y meropenem) como a cefalosporinas (cefepime, cefotaxima y ceftazidima), además de piperacilina/tazobactam y temocilina. Se detectaron dos subtipos por PFGE, siendo predominante el clon CL-Kpn-Spe-329 (93,8%) con dos mecanismos de resistencia identificados: carbapenemasa y β-lactamasa de espectro extendido (BLEE). **Conclusión:** Ante esta alerta epidemiológica es necesario unificar criterios existentes en la red asistencial nacional para la oportuna detección, vigilancia y control de posibles brotes de cepas productoras de oxacilinas tipo OXA-48.

**Palabras clave:** carbapenemasas; oxacilinasas; subfamilia tipo OXA-48; susceptibilidad antimicrobiana; antimicrobianos.

### Abstract

**Background:** The appearance and spread of carbapenems-resistant *Enterobacterales* have generated a major impact on health care-associated infections worldwide. Recently, a *Klebsiella pneumoniae* outbreak expressing OXA-48 like-carbapenemases was detected in Chile, the first reported cases corresponded to hospitalized patients mainly from northern Chile. **Aim:** To characterize the phenotypic and genotypic profiles of antimicrobial susceptibility of 16 clinical isolates referred during May 2021 from Antofagasta and Metropolitan regions to the Reference Laboratory of Instituto de Salud Pública. **Methods:** Antimicrobial susceptibility of all strains was analyzed using traditional (Kirby-Bauer and epsilometry) and automated methods, and complemented with colorimetric, immunochromatographic and molecular (PCR and PFGE) techniques. **Results:** As a result of the genetic characterization, *bla*<sub>oxa-48</sub> and *bla*<sub>oxa-232</sub> genes were detected, showing the isolates an unusual resistance profile to both carbapenems (ertapenem, imipenem, and meropenem) and cephalosporins (cefepime, cefotaxime, and ceftazidime), as well as piperacillin/tazobactam and temocillin. Two subtypes were detected by PFGE, with a predominant clone CL-Kpn-Spe-329 (93.8%), with two resistance mechanisms identified: carbapenemase and extended-spectrum β-lactamase (ESBL). **Conclusion:** Due to this epidemiological alert, it is essential the establishment of national guidelines for early detection, surveillance, and control of future outbreaks of OXA-48 like carbapenemases isolates.

**Keywords:** carbapenemases; oxacillinase; OXA-48 subfamily; antimicrobial susceptibility; antibiotics.

### Correspondencia a:

Juan Carlos Hormazábal, M.D.

Jchormazabal@ispch.cl

## Introducción

Existe mundialmente un gran desafío referente a la detección de las enzimas carbapenemasas como las del tipo oxacilinasas (OXA), cuya diseminación en la población es preocupante por la disponibilidad de alternativas terapéuticas cada vez más limitadas<sup>1</sup>. En nuestro país, el laboratorio de referencia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), a través de la vigilancia de carbapenemasas, mantiene un activo análisis de cepas bacterianas resistentes, en alerta frente a la aparición de una nueva carbapenemasa en el territorio nacional<sup>2</sup>. Así, en Chile en mayo de 2021 se detectó el primer brote por carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48, en cepas de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de tres centros de salud del país. Este hallazgo es inusual, ya que sólo existía el registro de un caso y cepa e importado de Brasil en el año 2014 (OXA-370)<sup>2,3</sup> y otro caso, compuesto de dos cepas del mismo paciente, cuya variante correspondió a la subfamilia OXA-48<sup>2</sup>.

La subfamilia de carbapenemasas tipo OXA-48 posee distintas variantes con una identidad > 76,6% en su secuencia aminoacídica, siendo la variante OXA-48 la más frecuente a nivel global<sup>4,5,6</sup>. En otros países de Latinoamérica (Argentina, Brasil, Colombia) se han reportado brotes asociados a carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48<sup>7</sup>, la que se caracteriza por exhibir resistencia a penicilinas, susceptibilidad disminuida a cefalosporinas de amplio espectro (tercera/cuarta generación) e hidrólisis parcial de imipenem<sup>6,8</sup>. No obstante, en asociación con otros mecanismos de resistencia propios de la bacteria como impermeabilidad, producción de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) o AmpC, pueden desarrollar una alta resistencia a carbapenémicos<sup>8</sup>.

La detección de variantes de la subfamilia tipo OXA-48 circulantes en Chile en *Enterobacterales* es preocupante por su riesgo de diseminación en el actual escenario sanitario nacional y mundial, dado que la mayoría de los casos corresponden a pacientes afectados por COVID-19. El objetivo de este estudio es caracterizar, mediante métodos fenotípicos, de susceptibilidad antimicrobiana y moleculares, las 16 cepas correspondientes al brote por *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48, con el fin de generar recomendaciones para su identificación en la red asistencial de salud nacional y latinoamericana, fortaleciendo además la vigilancia de resistencia a los antimicrobianos.

## Métodos

### Obtención e identificación de las cepas

Se realizó un estudio descriptivo de 16 cepas de *K. pneumoniae*, provenientes de diferentes pacientes aten-

didados en centros de salud de las ciudades de Antofagasta y Calama, en la Región de Antofagasta (n = 15) y de la ciudad de Santiago de Chile, en la Región Metropolitana (n = 1), ingresadas al Laboratorio de Referencia del ISP en mayo de 2021<sup>9</sup>. Las cepas provenían de muestras clínicas de aspirado endotraqueal (n = 1), aspirado nasofaríngeo (n = 3), sangre (n = 2), orina (n = 3), punta de catéter (n = 3), secreción de herida (n = 3) y hueso (n = 1). La confirmación de género y especie fue realizada por espectrometría de masa MALDI-TOF (Microflex LT Bruker Daltonik, Bruker, Alemania).

### Determinación fenotípica de actividad carbapenemasa

La actividad carbapenemasa se determinó mediante las pruebas fenotípicas<sup>10</sup> de Hodge con Tritón X-100 (THT), ácido borónico, EDTA, Blue Carba, CarbaNP (Biomérieux) e inmunocromatografía CORIS (BioConcept) y TP5NG (Liofilchem), según protocolos de los fabricantes y recomendaciones de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA-OPS)<sup>11</sup>. Los controles de calidad utilizados fueron las cepas *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705 como control positivo y *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706 como control negativo, además de *Escherichia coli* ATCC® BAA-25922 como indicador para el test de Hodge, específicamente<sup>10</sup>.

### Determinación del perfil de susceptibilidad

El perfil de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por difusión en agar (Kirby-Bauer), epsilometría y microdilución en caldo (CLSI, 2021), mientras que la medición de la concentración inhibitoria mínima (CIM) fue efectuada mediante los sistemas automatizados Phoenix (Becton Dickinson) y Sensititre (Thermo Fisher Scientific). Los antimicrobianos se seleccionaron según los protocolos establecidos para la detección de BLEE por sinergia entre los discos de amoxicilina/ácido clavulánico, cefotaxima y cefotaxima/ácido clavulánico. Se evaluó la susceptibilidad a cefalosporinas (tercera/cuarta generación): cefotaxima, ceftazidima y cefepime, a carbapenémicos: ertapenem, imipenem, meropenem<sup>10</sup>, junto con los indicadores de resistencia piperacilina/tazobactam y temocilina, además de tabletas diagnósticas KPC+MBL y OXA-48 (Rosco Diagnostica®). Los controles de calidad utilizados fueron las cepas *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705 (control positivo) y *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706 (control negativo)<sup>10</sup>. Las interpretaciones se realizaron de acuerdo a las recomendaciones de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI-2021)<sup>12</sup>.

### Análisis molecular de las cepas

El análisis molecular se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (sigla en inglés PCR) para

los genes frecuentemente descritos en la epidemiología regional, que codifican las carbapenemasas  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{OXA}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$  y  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)  $bla_{PER}$ ,  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{SHV}$ ,  $bla_{CTX-M}$ ,  $bla_{GES}$ , según protocolos estandarizados en el ISP (Tabla 1), basados en las recomendaciones de ReLAVRA-OPS. Para el gen  $bla_{SHV}$  se detectó la variante  $bla_{SHV-11}$  a través de la secuenciación NGS (manuscrito en preparación). Las variantes de  $bla_{OXA}$  fueron determinadas por secuenciación automatizada mediante el método de Sanger, y su alineamiento e identidad se realizó utilizando la base de datos ResFinder<sup>20</sup> a través del programa Bioedit 7.0. El análisis de tipificación genética (clonalidad) de las bacterias se realizó por electroforesis en gel de campo pulsado (sigla en inglés PFGE), con la enzima de restricción *SpeI* e interpretada según Tenover y cols., 1995<sup>21</sup>. Las imágenes se analizaron mediante el software BioNumerics v6.6 (Applied Maths NV, Belgium).

## Resultados

### Determinación de actividad carbapenemasa

Las 16 cepas de *K. pneumoniae* (100%) resultaron positivas por el test de Hodge THT, pero negativas para los métodos colorimétricos Blue Carba y Carba NP-directo. No se detectó sinergia entre los discos de los carbapenémicos y el disco de ácido borónico, como tampoco entre los discos de los carbapenémicos con el disco de EDTA, descartando así la presencia de carbapenemasas de tipo serina- $\beta$ -lactamasas (KPC) y metalo- $\beta$ -lactamasas (NDM y VIM). Adicionalmente, en todas las cepas se detectó la presencia de antígeno de carbapenemasa tipo OXA-48 mediante inmunocromatografía.

### Determinación del perfil de susceptibilidad

La interpretación de resultados para los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana fue equivalente en todos

**Tabla 1. Secuencia de los oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los genes que codifican las carbapenemasas y los genes codificantes de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)**

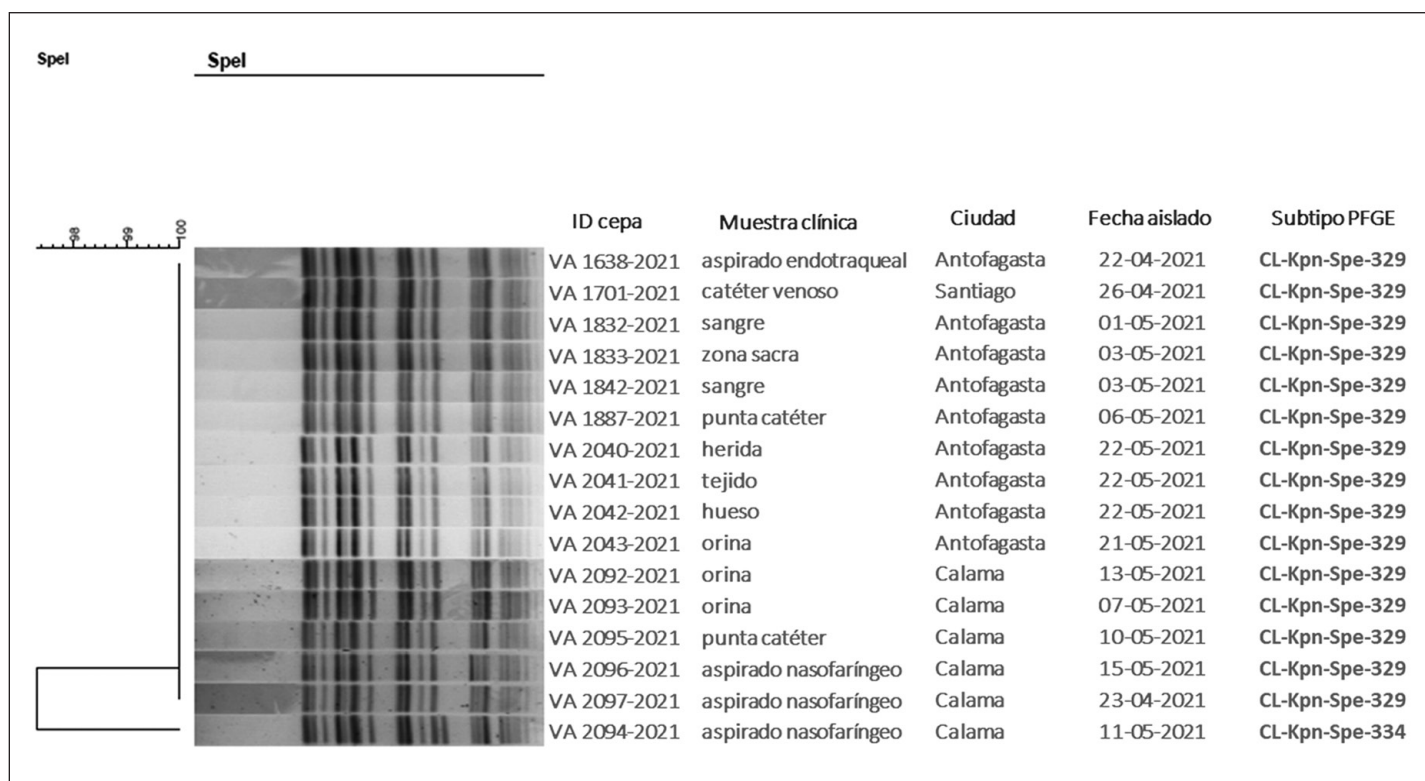
Gen(Referencia)	Nombre partidior	Secuencia	Tamaño producto PCR (pb)	Temperatura de alineamiento (°C)
$bla_{KPC}$	KPC-F	5'-AACAAAGGAATATCGTTGATG-3'	916	55
	KPC-R	5'-AGATGATTTTCAGAGCCTTA-3'		
$bla_{VIM}$	VIM-F	5'-GGTCTAYWTGACCGGTCTR-3'	700	55
	VIM-R	5'-STGCTCCGGTAGTGTTK-3'		
$bla_{NDM}$	NDMU-F	5'-CGAAGCTGAGCACCGCATT-3'	800	55
	NDMU-R	5'-ATGCGGGCCGTATGAGTGAT-3'		
$bla_{OXA}^{13}$	OXA LIKE-F	5'-GTGGGATGGACAGACGCG-3'	450	55
	OXA LIKE-R	5'-CCACACATTATCATCAAGTTC-3'		
$bla_{OXA}^{14}$	OXA-48-F	5'-TTGGTGGCATCGATTATCGG-3'	744	55
	OXA-48-R	5'-GAGCACTCTTTGTGATGGC-3'		
$bla_{TEM}^{15}$	TEM-C	5'-ATCAGCAATAAACCCAGC-3'	516	57
	TEM-H	5'-CCCCGAAGAACGTTTTC-3'		
$bla_{CTX-M}^{16}$	CTX-M-10F	5'-GCAGCACCAGTAAAGTGATGG-3'	534	55
	CTX-M-10R	5'-GCGATATCGTTGGTGTACC-3'		
$bla_{SHV}^{17}$	SHV-4	5'-GGTTATGCGTTATATTCGCC-3'	867	55
	SHV-5	5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTC-3'		
$bla_{PER}^{18}$	PER2-A	5'-CGCTTCTGCTCTGCTGAT-3'	469	57
	PER2-B	5'-GGCAGCTTCTTAACGCC-3'		
$bla_{GES}^{19}$	GES-1F	5'-ATGCGCTTCATTCACGCAC-3'	864	57
	GES-1R	5'-CTATTTGTCCGTGCTCAGG-3'		

\*Indica la secuencia de oligonucleótidos usados para la secuenciación de las variantes de  $bla_{OXA}$ . PCR: polymerase chain reaction

Tabla 2. Identificación, mecanismo de resistencia y perfil de susceptibilidad antimicrobiana de Enterobacterias productoras de carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48 circulantes en Chile

Caso (no.)	ID. cepa	Sexo	Edad	Ciudad	Especie	Carbapenemasa	Otras β-lactamas (BLEEs)	Blue Carba	THT	Sinergia AMC	Confirmación de BLEEs, CTX/CLV	ERT	IMI	MEM	FEP	CTX	CAZ	TZP	TEM <sup>b</sup>
1	VA 1638-2021	M	32	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	> 8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
2	VA 1701-2021	M	34	Santiago	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
3	VA 1832-2021	M	59	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	4	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
4	VA 1833-2021	F	56	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232	CTX-M, SHV	-	+	+	+	> 1	> 8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
5	VA 1842-2021	M	55	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
6	VA 1887-2021	M	64	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	> 8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
7	VA 2040-2021	M	56	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	4	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
8	VA 2041-2021	M	47	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	4	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
9	VA 2042-2021	M	71	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	> 8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
10	VA 2043-2021	M	59	Antofagasta	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232	CTX-M, SHV	-	+	+	+	> 1	> 8	32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
11	VA 2092-2021	F	65	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
12	VA 2093-2021	M	68	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
13	VA 2094-2021	F	51	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	> 8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
14	VA 2095-2021	F	66	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	> 8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
15	VA 2096-2021	M	68	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	> 32	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9
16	VA 2097-2021	M	59	Calama	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	CTX-M, SHV, TEM	-	+	+	+	> 1	8	16	> 16	> 4	> 16	> 64/4	9

THT, test Hodges con tritón X-100; AMC, amoxicilina/ácido clavulánico; CTX/CLV, cefotaxima/ácido clavulánico; ERT, ertapenem (> 1 = R); IMI, imipenem (> 4 = R); MEM, meropenem (> 4 = R); CAZ, ceftazidima (> 16 = R); FEP, cefepime (> 4 = R); CTX, cefotaxima (> 4 = R); TZP, piperacilin/tazobactam (> 64/4 = R); TEM, temocilina (9 = R). BLEEs, β-lactamas de espectro extendido. a, susceptibilidad determinada por sistema automatizado Phoenix. b, susceptibilidad determinada por tabletas diagnósticas OXA-48 (Rosco Diagnóstica).



**Figura 1.** Dendrograma de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y características de las cepas de *Klebsiella pneumoniae*, productoras de carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48, genéticamente relacionados.

los métodos utilizados, mostrando un perfil inusual, con resistencia a los antimicrobianos carbapenémicos ertapenem, imipenem y meropenem; además se observó resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro (tercera/cuarta generación): cefepime, cefotaxima y ceftazidima (Tabla 2). La detección de BLEE fue evidenciada mediante la sinergia entre los discos de cefotaxima y amoxicilina/ácido clavulánico, y confirmado por una diferencia ( $\geq 5$  mm) entre el disco de cefotaxima y el disco de cefotaxima/ácido clavulánico. Por otra parte, las 16 cepas resultaron altamente resistentes al inhibidor tazobactam de la combinación piperacilina/tazobactam y al antimicrobiano temocilina, característico de carbapenemasas tipo OXA-48 (Tabla 2).

### Descripción del análisis molecular de las cepas

El estudio molecular confirmó la presencia de carbapenemasas de la subfamilia tipo OXA-48 (Tabla 2). En 14 de las cepas de *K. pneumoniae* (87,5%) se identificó la variante  $bla_{OXA-48}$ , y además, la presencia de genes que otorgan resistencia a cefalosporinas, tales como  $bla_{CTX-M}$ ,  $bla_{SHV}$  y  $bla_{TEM}$ , mientras que en las dos cepas restantes (12,5%), se detectó la variante  $bla_{OXA-232}$  y con la presencia

de los genes  $bla_{CTX-M}$  y  $bla_{SHV}$ . Estos resultados, junto al análisis fenotípico, sugieren la coproducción de dos mecanismos de resistencia, mediante carbapenemasa y  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE), en las 16 cepas de *K. pneumoniae* de este estudio. Por otra parte, la tipificación genética por PFGE identificó un subtipo predominante en 15 de las cepas de *K. pneumoniae* (93,8%) denominado CL-Kpn-Spe-329, y una cepa perteneciente al subtipo CL-Kpn-Spe-334 (Figura 1), con un patrón de fragmentos similar al subtipo predominante, con 97% de similitud, indicando que las cepas están genéticamente relacionadas con un origen común, a pesar de provenir de tres centros de salud diferentes.

### Discusión

Dos variantes, OXA-48 y OXA-232, de la subfamilia tipo OXA-48 se identificaron en cepas de *K. pneumoniae* provenientes del primer brote detectado en Chile, mostrando alta similitud en sus perfiles de PFGE y clonalmente relacionadas. Además, estas cepas son co-portadoras de los genes que codifican las enzimas  $\beta$ -lactamasas de

espectro extendido (CTX-M, SHV y/o TEM), generando un perfil inusual de resistencia a carbapenémicos y cefalosporinas de tercera/cuarta generación. Este mecanismo de resistencia antimicrobiana representa un gran impacto clínico y epidemiológico. Estos hallazgos hacen necesario fortalecer el diagnóstico microbiológico a través del establecimiento de criterios y algoritmos de selección y vigilancia a nivel nacional para la detección oportuna de posibles futuros brotes.

Frente a la importante derivación y ocupación de pacientes en las unidades de cuidados intensivos de la red asistencial nacional, a causa de la pandemia por COVID-19, el hallazgo de esta subfamilia tipo OXA-48 generó una alerta epidemiológica por el alto riesgo de diseminación. Las primeras evidencias, tanto clínicas como moleculares, de las cepas de este estudio, surgieron en la Región de Antofagasta y fueron confirmadas por el ISP de Chile. Cabe señalar que la sospecha microbiológica de estas enzimas oxacilinasas es difícil, ya que usualmente exhiben perfiles de resistencia variables, con reducida o parcial hidrólisis de carbapenémicos<sup>22</sup>. En su mayoría resultan negativas por métodos de tamizaje colorimétricos Carba NP o Blue Carba, pruebas habituales en la red asistencial de salud, mientras que son positivas por métodos tradicionales laboriosos y operador dependiente como el test de Hodge THT, utilizado como una de las pruebas fenotípicas en este estudio. Por lo mismo, son fundamentales las acciones iniciales que ejercen los laboratorios locales en su detección para la correcta indicación de la terapia antimicrobiana y las oportunas intervenciones de los equipos de control de infecciones, considerando que el perfil de resistencia antimicrobiana de las 16 cepas de este brote no es característico de oxacilinasas de la subfamilia tipo OXA-48<sup>6</sup>. El clon circulante CL-Kpn-Spe-329 es específico de nuestro país; desafortunadamente, su diseminación hospitalaria se ha facilitado por las condiciones sanitarias actuales, donde ha sido necesario el traslado de pacientes críticos entre diferentes recintos asistenciales de salud.

La variante OXA-48 fue identificada inicialmente en Turquía en el año 2001<sup>23</sup>, convirtiéndose en endémica en algunas regiones de África y Oriente Medio, siendo de gran potencial expansivo, ya que los plásmidos que contienen *bla*<sub>OXA-48</sub> poseen una rápida diseminación por transferencia horizontal en *Enterobacterales*<sup>24</sup>. Por su parte, la variante *bla*<sub>OXA-232</sub> fue reportada por primera vez en Francia en el año 2011<sup>25</sup>, siendo endémica en India y reportándose en importantes brotes de IAAS en Corea del Sur, México, Estados Unidos de América y China<sup>26-30</sup>. Esta última se diferencia de la enzima OXA-48 por la sustitución de cinco aminoácidos: Thr104Ala, Asn110Asp, Glu168Gln, Ser171Ala, Arg214Ser<sup>24</sup>. Sin embargo, algunos estudios plantean que OXA-232 deriva

de la variante OXA-181, de la que discrepa por un cambio nucleotídico resultando en Arg214Ser<sup>6</sup>. Esta familia de *Enterobacterales*, especialmente *K. pneumoniae* y *E. coli* con genes *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-232</sub> y *bla*<sub>OXA-181</sub> ha surgido en diferentes partes del mundo<sup>24</sup>, reportándose incluso una inserción cromosómica de *bla*<sub>OXA-232</sub> en una cepa de *K. pneumoniae* en Canadá<sup>31</sup>. En Latinoamérica, pocos estudios han reportado variantes de la subfamilia tipo OXA-48<sup>7</sup>. En Argentina, Brasil y Colombia se han identificado las variantes *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-163</sub>, *bla*<sub>OXA-247</sub> y *bla*<sub>OXA-370</sub> confirmando la presencia de la subfamilia OXA-48 en la región, y que además incluye a Chile dentro de este evento de diseminación regional.

Resulta pertinente, considerando los lineamientos definidos por el sistema de vigilancia del ISP para la detección oportuna de bacterias productoras de este tipo de carbapenemasas, establecer la importancia de la disponibilidad de técnicas como test de Hodge THT, resistencia a temocilina, inmunocromatografía y/o PCR, dentro de flujogramas de diagnósticos estandarizados. Dada la contingencia sanitaria actual, que ha implicado centralizar la atención de pacientes críticos, fomentando los traslados interhospitalarios locales e interregionales, resulta necesario junto al equipo de control de infecciones, establecer protocolos que permitan una detección adecuada, antes o inmediatamente posterior al traslado de pacientes, con la finalidad de tomar medidas que eviten su diseminación. La presencia de este mecanismo de difícil identificación obligará a los laboratorios de microbiología clínica a fortalecer su capacidad de detección; siendo necesario buscar, en el corto plazo, estrategias para disponer de los recursos para la implementación de metodologías rápidas en sus diagnósticos de rutina.

## Conclusión

Este primer reporte de brote por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas de la subfamilia OXA-48, refleja la rápida expansión global de este mecanismo de resistencia como consecuencia de la pandemia en curso por SARS-CoV-2 y la alta ocupación de las unidades de pacientes críticos. Considerando su difícil detección en los laboratorios de rutina, es fundamental el trabajo coordinado y la comunicación expedita entre los laboratorios clínicos asistenciales, el laboratorio de referencia del ISP, y los equipos de control de infecciones a nivel local y nacional. Este estudio refleja la importancia del laboratorio de microbiología en la detección de pacientes infectados y colonizados, siendo la base, para establecer y dar curso a las acciones de apoyo y medidas de intervención para contener la diseminación de este mecanismo a otros hospitales de nuestro país.

## Referencias bibliográficas

- 1.- Guidance for control of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (2012). [www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf](http://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf).
- 2.- Vigilancia de carbapenemasas en bacterias que pueden producir infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), Chile 2014-2017. <https://www.ispch.cl/boletin/vigilancia-de-carbapenemasas-en-bacterias-que-pueden-producir-infecciones-asociadas-a-la-atencion-en-salud-iaas-chile-2014-2017/>
- 3.- Carrasco-Anabalón S, Conceição Neto CO, D'Alincourt Carvalho-Assef AP, Lima CA, Cifuentes M, Silva F, et al. Introduction of NDM-1 and OXA-370 from Brazil into Chile in strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from a single patient. *Int J Infect Dis*. 2019; 81: 28-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.01.051>.
- 4.- Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database. National Center for Biotechnology Information. NIH <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/refgene/#KPC> (Revisado 03-07-2021).
- 5.- Rivera-Izquierdo M, Láinez-Ramos-Bossini AJ, Rivera-Izquierdo C, López-Gómez J, Fernández-Martínez NF, Redruello-Guerrero P, et al. OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriales* in Spanish hospitals: An updated comprehensive review on a rising antimicrobial resistance. *Antibiotics* (Basel). 2021; 10(1): 89. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010089>.
- 6.- Yoon E J, Jeong S H. Class D  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2021; 76(4): 836-64. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa513>.
- 7.- Escandón-Vargas K, Reyes S, Gutiérrez S, Villegas M V. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017;15(3):277-97. <https://doi.org/10.1080/14787210.2017.1268918>.
- 8.- Oueslati S, Nordmann P, Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70(4): 1059-63. <https://doi.org/10.1093/jac/dku524>.
- 9.- Exento 16 de 2019 modifica NT 175 Vigilancia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos en Agentes que pueden producir IAAS. 12 marzo 2019. [https://www.minsal.cl/infecciones\\_intrahospitalarias/](https://www.minsal.cl/infecciones_intrahospitalarias/) (revisado 03-07-2021).
- 10.- Recomendaciones para detección carbapenemasas en enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*. Documento técnico para el laboratorio clínico. Instituto de Salud Pública de Chile. Santiago, Chile, 2018. <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20detecci%C3%B3n%20carbapenemasas%20en%20enterobacterias%20y%20pseudomonas%20aeruginosa.pdf>
- 11.- Jiménez Pearson M A, Galas M, Corso A, Hormazábal J C, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, et al. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Rev Panam Salud Publica*. 2019 Aug 22;43:e65. Spanish. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.65>.
- 12.- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. M100, p118-142. 2021.
- 13.- Balm M N, Ngan G, Jureen R, Lin R T, Teo J W. OXA-181-producing *Klebsiella pneumoniae* establishing in Singapore. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 58. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-58>.
- 14.- Bado I, Papa-Ezdra R, Delgado-Blas J F, Gaudio M, Gutiérrez C, Cordeiro NF, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in the Intensive Care Unit of Uruguay's University Hospital identifies the first rmtC Gene in the species. *Microb Drug Resist*. 2018; 24(7): 1012-9. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0300>.
- 15.- Mabilat C, Courvalin P. Development of "oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990 Nov; 34(11): 2210-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.34.11.2210>.
- 16.- Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Leavitt A, Carmeli Y. Dissemination of the CTX-M-25 family beta-lactamases among *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* and identification of the novel enzyme CTX-M-41 in *Proteus mirabilis* in Israel. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62(2): 289-95. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn182>.
- 17.- Rasheed J K, Anderson G J, Yigit H, Queenan A M, Doménech-Sánchez A, Swenson J M, et al. Characterization of the extended-spectrum beta-lactamase reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(9): 2382-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.9.2382-2388.2000>.
- 18.- Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Mangold P, Amann S, Akalin E, et al. Characterization of beta-lactamase gene blaPER-2, which encodes an extended-spectrum class A beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996 Mar; 40(3): 616-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.3.616>.
- 19.- Wang C, Cai P, Chang D, Mi Z. A *Pseudomonas aeruginosa* isolate producing the GES-5 extended-spectrum beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(6): 1261-2. <https://doi.org/10.1093/jac/dk1116>.
- 20.- Bortolaia V, Kaas RS, Ruppe E, Roberts M C, Schwarz S, Cattoir V, et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Dec 1; 75(12): 3491-500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>.
- 21.- Tenover F C, Arbeit R D, Goering R V, Mickelsen P A, Murray B E, Persing D H, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995; 33(9): 2233-9. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.9.2233-2239.1995>.
- 22.- Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(7): 1597-606. <https://doi.org/10.1093/jac/dks121>.
- 23.- Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jan;48(1): 15-22. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>.
- 24.- Pitout J D D, Peirano G, Kock M M, Strydom K A, Matsumura Y. The global ascendancy of OXA-48-type carbapenemases. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 33(1): e00102-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-19>.
- 25.- Potron A, Rondinaud E, Poirel L, Belmonte O, Boyer S, Camiade S, et al. Genetic and biochemical characterisation of OXA-232, a carbapenem-hydrolysing class D  $\beta$ -lactamase from *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents*. 2013; 41(4): 325-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.11.007>.
- 26.- Shankar C, Mathur P, Venkatesan M, Kumari Pragasaam A, Anandan S, Khurana S, et al. Rapidly disseminating blaOXA-232 carrying *Klebsiella pneumoniae* belonging to ST231 in India: multiple and varied mobile genetic elements. *BMC Microbiol* 2019; 19, 137. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1513-8>.
- 27.- Jeong S H, Kim H S, Kim J S, Shin D H, Kim H S, Park M J, et al. Prevalence and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from five hospitals in Korea. *Ann Lab Med*. 2016 Nov; 36(6): 529-35. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.6.529>.
- 28.- Aquino-Andrade A, Merida-Vieyra J, Arias de la Garza E, Arzate-Barbosa P, De Colsa Ranero A. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Mexico: report of seven non-clonal cases in a pediatric hospital. *BMC Microbiol* 2018; 18: 38. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1166-z>

- 29.- Doi Y, O'Hara J A, Lando J F, Querry A M, Townsend B M, Pasculle A W, et al. Co-production of NDM-1 and OXA-232 by *Klebsiella pneumoniae*. Emerg Infect Dis. 2014; 20(1): 163-5. <https://doi.org/10.3201/eid2001.130904>.
- 30.- Yin D, Dong D, Li K, Zhang L, Liang J, Yang Y, et al. Clonal dissemination of OXA-232 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in neonates. Antimicrob Agents Chemother. 2017; 61: e00385-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00385-17>.
- 31.- Mataseje L F, Boyd D A, Fuller J, Haldane D, Hoang L, Lefebvre B, et al. Characterization of OXA-48-like carbapenemase producers in Canada, 2011-14. J Antimicrob Chemother. 2018; 73(3): 626-33. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx462>.