

Tipos de carbapenemasas expresadas en *Klebsiella* spp., y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos en seis hospitales de alta complejidad de la Ciudad de Bogotá - Colombia

Carbapenemases produced in *Klebsiella* spp., and *Pseudomonas aeruginosa* in six hospitals in Bogotá - Colombia

Sergio Andrés Remolina G.¹, Carlos Enrique Conde M.¹, José Camilo Escobar C.¹, Aura Lucia Leal C.^{2,3,4}, Juan Sebastián Bravo O.¹, Sandra Yamile Saavedra R.², Zandra Rocío de la Rosa N.³, Nella Sánchez F.⁵, Ana Yadira Santana G.⁵, Sandra Cortés C.⁶, Erika Acosta R.⁷, Luz Angélica Quintero B.⁸, María del Pilar López C.⁹ y Carlos Humberto Saavedra T.¹

¹Departamento de Medicina Interna, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

²Departamento de Microbiología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

³Departamento de Patología y Laboratorios, Fundación Santa Fe de Bogotá. Bogotá, Colombia.

⁴Departamento de Medicina Interna, Fundación Santa Fe de Bogotá. Bogotá, Colombia.

⁵Departamento de Microbiología, Sub Red Integrada de Servicios de Salud Centro Oriente E.S.E. Bogotá, Colombia.

⁶Área de Microbiología, Fundación San Carlos, Bogotá, Colombia.

⁷Área de Microbiología, Hospital Universitario San Rafael. Bogotá, Colombia.

⁸Área de Microbiología, Hospital Central de la Policía Nacional. Bogotá, Colombia.

⁹Área de Microbiología, ESE Hospital Kennedy. Bogotá, Colombia.

Conflicto de interés: no hay conflicto de interés en ninguno de los participantes.

Fuente de financiamiento: Este estudio recibió financiación de la Universidad Nacional de Colombia mediante: "Convocatoria nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, creación e innovación de la Universidad Nacional de Colombia 2016-2018" Modalidad: única. Código Quipu: 202010026014 y Código Hermes: 35948.

Recibido: 25 de agosto de 2021 (segunda versión) / Aceptado: 6 de octubre de 2021

Resumen

Introducción: En las últimas décadas, se ha incrementado la prevalencia de infecciones por bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos. **Objetivo:** Determinar los tipos y la frecuencia de las distintas carbapenemasas en aislados de *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*, en seis hospitales de alta complejidad de Bogotá- Colombia. **Métodos:** Estudio observacional descriptivo en seis hospitales de la ciudad de Bogotá, en el período de enero de 2017 a agosto de 2018. Se realizaron RPC para genes de KPC, GES, VIM, NDM, IMP y OXA-48 en cepas de *Klebsiella* spp y *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos. **Resultados:** 52 aislados de *P. aeruginosa* amplificaron para una carbapenemasa, de los cuales 39 (75%) fueron positivos para KPC, 11 (21%) para VIM y 2 co-producciones de KPC y VIM. En cuanto a *Klebsiella* spp., 165 cepas amplificaron al menos para una carbapenemasa, 98% expresaron KPC y 4 aislados tuvieron co-producciones de metalo-β-lactamasas y KPC. **Discusión:** Este estudio aporta

Abstract

Background: In the last decades, the prevalence of infections by carbapenem resistant gram-negative bacilli has been increased. **Objective:** To determine types and frequency of the different carbapenemases in *Klebsiella* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*, in six hospitals in Bogotá-Colombia. **Methods:** Descriptive and observational study, in six hospitals in the city of Bogotá, in the period from January 2017 to August 2018. PCR were performed for KPC, GES, VIM, NDM, IMP and OXA-48 genes, in carbapenem resistant *Klebsiella* spp. and *P. aeruginosa*. **Results:** 52 *P. aeruginosa* isolates amplified a carbapenemase gene, of which 39 (75%) were positive for KPC, 11 (21%) for VIM and two co-productions of KPC and VIM. Regarding *Klebsiella* spp. 165 strains amplified at least one carbapenemase gene, 98% expressed KPC and four isolates had co-productions of metallo-β-lactamases and KPC. **Discussion:** This study provides valuable information, such as the increased production of KPC in *P. aeruginosa*

información valiosa, como el incremento de producción de KPC en *P. aeruginosa* y la co-producción de KPC y metalo-β-lactamasas, lo cual tiene una implicancia tanto en la selección del tratamiento, las medidas de aislamiento de contacto y el pronóstico de los pacientes.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella* spp; KPC; carbapenemasas, infecciones por enterobacteriales; Colombia.

and the co-production of KPC plus metalloβ-lactamases, which has an implication both in treatment selection, isolation precautions and patient prognosis.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella* spp; KPC; carbapenemases; *Enterobacteriaceae* infections; Colombia.

Introducción

La resistencia a los antimicrobianos es un problema creciente alrededor del mundo, especialmente en los bacilos gramnegativos como *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este hecho ha generado aumento de mortalidad, costos y estancia hospitalaria¹⁻³. El uso masivo de antimicrobianos, tanto en la industria agropecuaria como para el consumo humano, sumado a las deficiencias en el control de infecciones asociadas a la atención de salud, han disparado las tasas de resistencia antimicrobiana^{4,5}.

En Colombia se han documentado diferentes tipos de carbapenemasas (KPC, GES, VIM, NMD, NMC-A, IMP, OXA-23, OXA-48, OXA-51, OXA-58, OXA-72, OXA-255, entre otras)⁶⁻⁸ incluso co-producción de metalo-β-lactamasas y KPC en bacilos gramnegativos⁹. Actualmente, en registros de seguimientos locales como el del Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO), se ha descrito un aumento importante de la resistencia a carbapenémicos; mostrando frecuencias de hasta 19-28% en *P. aeruginosa* y de 21% en *K. pneumoniae*¹⁰.

El objetivo de este estudio fue determinar los tipos y la frecuencia de las distintas carbapenemasas en aislados de *Klebsiella* spp., y *P. aeruginosa* en seis hospitales de alta complejidad en Bogotá, Colombia.

Métodos

Se realizó un estudio observacional descriptivo de tipo corte transversal en seis hospitales de la ciudad de Bogotá, Colombia en el período de enero de 2017 a agosto de 2018. El cálculo de la muestra se realizó en base a registros locales de resistencia a carbapenémicos, con un resultado de 206 aislados de *Klebsiella* spp. y 79 de *P. aeruginosa*¹¹. Se incluyeron todas las cepas de *Klebsiella* spp. o *P. aeruginosa* con concentración inhibitoria mínima (CIM) de carbapenémicos, correspondientes a resistencia intermedia o resistentes de acuerdo con los puntos de corte del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) de 2018, provenientes de pacientes mayores de 18 años (12). Los aislados fueron recuperados en un medio cromogénico (CHROMagar de Beckton Dickinson) para confirmar el género. El ADN de las cepas se obtuvo por lisis celular a partir de colonias bacterianas frescas de un cultivo en agar BHI. La detección de genes codificantes de carbapenemasas se realizó por RPC usando partidores específicos para *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{GES}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{NDM}¹³⁻¹⁵.

Consideraciones éticas: Este estudio fue considerado sin riesgo y aprobado por los comités de ética de la Universidad Nacional de Colombia y las instituciones hospitalarias participantes.

Resultados

Se obtuvo un total de 289 aislados (80 de *P. aeruginosa* y 209 de *Klebsiella* spp.), con sensibilidad disminuida a los carbapenémicos. Se logró

amplificación de alguno de los genes de carbapenemasas estudiados en 217 muestras (75%). En 65% (52/80) de los aislados de *P. aeruginosa* se documentó al menos un gen de alguna carbapenemasa, de las cuales la más identificada fue KPC con 39 aislamientos (75%), seguida de VIM con 11 casos (21%); solo dos aislados presentaron co-producción de KPC y VIM (Tabla 1). Para el caso de *Klebsiella* spp., un 78,9% (165/209) amplificó alguno de los genes de carbapenemasas, de las cuales la más frecuente fue KPC con 159 (96,4%); solo se presentaron dos casos de metalo-enzimas (uno de VIM y uno de NDM) y cuatro casos de co-producción: dos KPC + VIM y dos KPC + NDM (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los pacientes con aislados de *P. aeruginosa* y *Klebsiella* spp. productores de carbapenemasas

Característica	<i>P. aeruginosa</i> (n = 52)	<i>Klebsiella</i> spp. (n = 165)
Mediana de edad (años)	68 ± 38	61 ± 23
Sexo		
Masculino	40 (77%)	112 (68%)
Femenino	12 (23%)	53 (32%)
Tiempo entre el ingreso y la toma de la muestra		
Menor a 48 h	7 (14%)	59 (36%)
Mayor a 48 h	45 (86%)	106 (64%)
Origen de la muestra		
Orina	18 (35%)	76 (46%)
Respiratorias	13 (25%)	22 (13%)
Sangre	4 (8%)	29 (18%)
Piel y tejidos blandos	12 (23%)	11 (7%)
Abdominales	2 (4%)	17 (10%)
Otros	3 (6%)	10 (6%)
Tipos de carbapenemasas		
<i>bla</i> _{KPC}	39 (75%)	159 (96%)
<i>bla</i> _{VIM}	11 (21%)	1 (0,6%)
<i>bla</i> _{NDM}	0	1 (0,6%)
<i>bla</i> _{KPC} + <i>bla</i> _{VIM}	2 (4%)	2 (1,2%)
<i>bla</i> _{KPC} + <i>bla</i> _{NDM}	0	2 (1,2%)
<i>bla</i> _{IMP} , <i>bla</i> _{GES} , <i>bla</i> _{OXA-48}	0	0

Discusión

En la actualidad, existe un incremento progresivo en la resistencia a los carbapenémicos, antimicrobianos empleados generalmente en infecciones graves, por microorganismos resistentes y especialmente en pacientes críticamente enfermos, lo cual ha generado un problema de salud pública en el mundo¹⁶. La resistencia mediada por β -lactamasas es uno de los mecanismos de resistencia más importantes en los bacilos gramnegativos. Nuestro estudio encontró que 65% de *P. aeruginosa* expresó alguna de las carbapenemasas estudiadas; para el caso de *Klebsiella* spp., 78,9% tuvo amplificación de al menos un gen. La proporción restante de las cepas podría corresponder a la presencia de otra carbapenemasa o resistencia a carbapenémicos mediada por otros mecanismos.

Estudios previos de *P. aeruginosa* en Colombia, encontraron que la carbapenemasa más frecuente fue VIM (60,6%), seguida por KPC (27,6%) y la co-producción más encontrada fue KPC + VIM (83,7%)^{17,18}. Estos datos son similares a los ya documentados en otros países, que informan una mayor producción de metalo- β -lactamasas en comparación con las serina-carbapenemasas de tipo A¹⁹⁻²¹. Nuestros resultados muestran una modificación en la frecuencia entre metalo- β -lactamasas y β -lactamasas tipo serina (VIM vs KPC); dado que encontramos una proporción 3:1 a favor de KPC. Es posible que la capacidad de transmisión más eficiente de este gen tenga relación con el complejo clonal ST235 (describiéndose mayor frecuencia de *bla*_{KPC}), en el cual se ha detectado la presencia de elementos genéticos móviles, que generan un gran poder de diseminación; asociado además a la plasticidad genómica de *P. aeruginosa* mediada por el transposon Tn4401b-*bla*_{KPC-2}²². Abril y cols. informaron de una doble inserción cromosómica de Tn4401b que albergaban *bla*_{KPC-2} en *P. aeruginosa*²³. Esta duplicación de Tn4401 podría llevar a una mayor producción de la enzima KPC; sin embargo, no se ha determinado si esto proporciona alguna ventaja en la hidrólisis del carbapenémico. Se desconoce el origen de Tn4401b, aunque se sugiere que probablemente adquirió un plásmido que alberga *bla*_{KPC-2} de un aislado de *K. pneumoniae*, que favoreció la transposición de Tn4401b al cromosoma, dado que el clon de *K. pneumoniae* productor de KPC es endémico en Colombia²⁴.

En relación con *Klebsiella* spp. resistente a carbapenémicos, encontramos una alta producción de KPC, similar a otros reportes locales e internacionales^{17,25}. Se encuentran dos principales fuentes de expansión de la carbapenemasa KPC, el primero de ellos es la transferencia horizontal mediada por elementos genéticos móviles como plásmidos o transposones, especialmente el Tn4401 y el segundo por la diseminación clonal, principalmente el ST258²⁶⁻²⁸. En los resultados del estudio encontramos una cepa productora de VIM, otra de NDM y cuatro aislados con co-producción de KPC+NDM o VIM. La co-producción KPC + metalo- β -lactamasas también ha sido descrita en Colombia, Brasil, India, Grecia, China y Alemania entre otros; la expresión de diferentes genes de resistencia en una misma especie dificulta el manejo de este tipo de pacientes²⁹⁻³¹.

Este estudio aporta una información valiosa sobre el comportamiento epidemiológico en la distribución de las carbapenemasas, como lo es el incremento de la producción de KPC en *P. aeruginosa* y la co-producción de KPC más metalo- β -lactamasas. La resistencia a los carbapenémicos es un fenómeno dinámico que requiere seguimiento y una vigilancia periódica, debido a las implicancias tanto en la selección de tratamientos, medidas de control de infecciones y pronóstico de los pacientes.

Agradecimientos: A todas los laboratorios clínicos e instituciones de salud de alta complejidad participantes que permitieron el desarrollo de la investigación y a la Universidad Nacional de Colombia.

Referencias bibliográficas

- 1.- Akova M, Daikos G L, Tzouveleakis L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 439-48. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03823.x
- 2.- Cosgrove S E. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. Clin Infect Dis 2006; 42 Suppl 2: S82-9. doi: 10.1086/499406.
- 3.- Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! Trends Mol Med 2012; 18: 263-72. doi: 10.1016/j.molmed.2012.03.003.
- 4.- ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. EFSA J 2017;15(7):e04872. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4872
- 5.- Ruiz-Garbajosa P, Curiao T, Tato M, Gijón D, Pintado V, Valverde A, et al. Multiclonal dispersal of KPC genes following the emergence of non-ST258 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Madrid, Spain. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2487-92. doi: 10.1093/jac/dkt237.
- 6.- 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: 277-97. doi: 10.1080/14787210.2017.1268918.
- 7.- Saavedra S Y, Prada-Cardozo D, Rincón V, Pérez-Cardona H, Hidalgo A M, González M N, et al. Whole-genome sequence of a Colombian *Acinetobacter baumannii* strain, a coproducer of OXA-72 and OXA-255-like carbapenemases. Genome Announc 2017; 5(7): e01558-16. doi: 10.1128/genomeA.01558-16
- 8.- Rada A M, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas M V. Distribution and molecular characterization of beta-lactamases in Gram-negative bacteria in Colombia, 2001-2016. Biomedica 2019; 39(s1): 199-220. doi: 10.7705/biomedica.v39i3.4351.
- 9.- Instituto Nacional de Salud. Caracterización fenotípica y genotípica de perfiles de resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos recuperados en infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) septiembre 2012 - diciembre 2014 Instituto Nacional de Salud; 2015. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscar-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20Laboratorio%20Resistencia%20Antimicrobiana%20IAAS%202012-2014.pdf>.
- 10.- GREBO. Grupo para el control de la resistencia bacteriana en Bogotá. Boletín informativo. Bogotá: GREBO; 2019. Número 11. ISSN no. 2027-0860
- 11.- GREBO. Grupo para el control de la resistencia bacteriana en Bogotá. Boletín informativo. Bogotá: GREBO; 2017. Número 9, ISSN no. 2027-0860.
- 12.- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement (ISBN 978-68440-032-4). 2018.
- 13.- Hrabák J, Chudáková E, Papagiannitsis C C. Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. Clin Microbiol Infect 2014; 20: 839-53. doi: 10.1111/1469-0691.12678.
- 14.- Mendes R E, Kiyota K A, Monteiro J, Castanheira M, Andrade S S, Gales A C, et al. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. J Clin Microbiol 2007; 45: 544-7. doi: 10.1128/JCM.01728-06.

- 15.- Poirel L, Walsh T R, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70: 119-23. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002.
- 16.- Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 2019; 69(Suppl 7): S521-8. doi: 10.1093/cid/ciz824
- 17.- Ovalle M V, Saavedra S Y, González M N, Hidalgo A M, Duarte C, Beltrán M. Results of the national surveillance of antimicrobial resistance of Enterobacteriaceae and Gram negative bacilli in health care-associated infections in Colombia, 2012-2014. *Biomedica* 2017; 37(4): 473-85. doi: 10.7705/biomedica.v37i4.3432.
- 18.- INS. Instituto Nacional de Salud. Resultados de la Vigilancia por Laboratorio de Resistencia antimicrobiana en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) 2017 Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20Laboratorio%20Resistencia%20Antimicrobiana%20y%20Whonet%20IAAS%202017.pdf>.
- 19.- El Zowalaty M E, Al Thani A A, Webster T J, El Zowalaty A E, Schweizer H P, Nasrallah G K, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: arsenal of resistance mechanisms, decades of changing resistance profiles, and future antimicrobial therapies. *Future Microbiol* 2015; 10: 1683-706. doi: 10.2217/fmb.15.48.
- 20.- Moradali M F, Ghods S, Rehm B H. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7: 39. doi: 10.3389/fcimb.2017.00039.
- 21.- Saavedra S Y, Duarte C, González M N, Realpe M E. [Characterization of isolates of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* from seven Colombian provinces]. *Biomedica* 2014; 34 Suppl 1: 217-23. doi: 10.1590/S0120-41572014000500024.
- 22.- Correa A, Del Campo R, Perenguez M, Blanco VM, Rodríguez-Baños M, Perez F, et al. Dissemination of high-risk clones of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 2421-5. doi: 10.1128/AAC.03926-14.
- 23.- Abril D, Marquez-Ortiz R A, Castro-Cardozo B, Moncayo-Ortiz J I, Olarte Escobar N M, Corredor Roza Z L, et al. Genome plasticity favours double chromosomal Tn4401b-bla(KPC-2) transposon insertion in the *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *BMC Microbiol* 2019; 19(1): 45. doi: 10.1186/s12866-019-1418-6.
- 24.- Villegas M V, Lolans K, Correa A, Suarez C J, Lopez J A, Vallejo M, et al. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2880-2. doi: 10.1128/AAC.00186-06.
- 25.- Vera-Leiva A, Barria-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al. [KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, main carbapenemase in *Enterobacteriaceae*]. *Rev Chilena Infectol* 2017; 34: 476-84. doi: 10.4067/S0716-10182017000500476
- 26.- Chen L, Mathema B, Chavda K D, DeLeo F R, Bonomo R A, Kreiswirth B N. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol* 2014; 22: 686-96. doi: 10.1016/j.tim.2014.09.003.
- 27.- Naas T, Cuzon G, Villegas M V, Lartigue M F, Quinn J P, Nordmann P. Genetic structures at the origin of acquisition of the beta-lactamase bla KPC gene. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1257-63. doi: 10.1128/AAC.01451-07.
- 28.- Ocampo A M, Chen L, Cienfuegos A V, Roncancio G, Chavda K D, Kreiswirth B N, et al. A two-year surveillance in five Colombian tertiary care hospitals reveals high frequency of non-CG258 clones of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with distinct clinical characteristics. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 332-42. doi: 10.1128/AAC.01775-15.
- 29.- Logan L K, Weinstein R A. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis* 2017; 215(suppl_1): S28-S36. doi: 10.1093/infdis/jiw282.
- 30.- Kumarasamy K, Kalyanasundaram A. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* isolate co-producing NDM-1 with KPC-2 from India. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 243-4. doi: 10.1093/jac/dkr431.
- 31.- Quiles M G, Rocchetti T T, Fehlberg L C, Kusano E J, Chebabo A, Pereira R M, et al. Unusual association of NDM-1 with KPC-2 and *armA* among Brazilian *Enterobacteriaceae* isolates. *Braz J Med Biol Res* 2015; 48: 174-7. doi: 10.1590/1414-431X20144154.