



Secuencias tipo de *Klebsiella pneumoniae*-KPC aisladas de muestras invasivas en Hospitales del Ecuador



R. Tamayo¹, C. Satán¹, F. Villavicencio², Grupo Whonet Ecuador⁴, J. Reyes², P. Cárdenas³, J. E. Villacís^{1,2}

1. Laboratorio de Investigación, Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
2. Centro de Referencia Nacional de Resistencias a Antimicrobianos, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, Quito.
3. Centro de Investigación traslacional, Universidad de las Américas
4. Red de Resistencias a Antimicrobianos del Ecuador

Resumen

Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasa (*Kpn*-KPC) representa un verdadero desafío clínico, asociado a brotes intrahospitalarios y por presentar altas tasas de mortalidad⁴. Esto debido a que presenta resistencia a antibióticos de amplio espectro como los carbapenémicos, característica otorgada por la expresión del gen *bla*_{KPC}. Este póster presenta la diversidad clonal de 14 cepas de *Kpn*-KPC mediante MLST, sus características microbiológicas y la distribución de este patógeno en nuestro medio. Los resultados revelan diversidad clonal y una mayor presencia de la ST 25 focalizada en la ciudad de Quito. Se plantea una posible transferencia horizontal de este microorganismo y un déficit en las medidas de control y manejo de pacientes infectados por este microorganismo.

Introducción:

Klebsiella pneumoniae-KPC (*Kpn*-KPC) se presenta hoy en día como uno de los principales agentes que producen infecciones asociadas a la atención en salud alrededor del mundo⁴, donde la secuencia tipo 258 (ST 258) es la cepa que se reporta con mayor frecuencia en estudios de brotes intrahospitalarios⁴. Esta cepa está asociada a la producción de KPC tipo 2 y en el desarrollo de resistencia a colistín, como se ha reportado recientemente²⁻³, donde el uso continuo de esta droga para el tratamiento de infecciones producidas por *Kpn*-KPC, se presenta como el principal factor para el desarrollo de la resistencia. Por este motivo se plantea investigar la secuencia tipo presente en nuestro medio utilizando MLST (*Multilocus Sequence Typing*), como herramienta para este objetivo.

Materiales y Métodos

Para realizar este estudio, se inició con la selección de 14 cepas representativas de un total de 87 aislamientos de *Kpn*-KPC tipificadas por PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*). Donde los criterios de selección incluyeron: cepas que hayan sido aisladas en diferentes hospitales del país y cepas con fenotipo de posible Panresistencia (PDR), las cuales fueron identificadas mayoritariamente en un hospital de la ciudad de Quito. Se tomaron en cuenta los datos epidemiológicos y las características tanto microbiológicas como genéticas de las 14 cepas, en base a perfiles de susceptibilidad por Concentración mínima Inhibitoria y PCR respectivamente. Se utilizó al sistema MacroGen para la secuenciación de las 14 cepas y se analizaron los resultados en la página: <http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html> para determinar los perfiles alélicos y la secuencia tipo de cada una de las cepas.

No. ID	MIC ug/mL				ST	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX}
	IMP ^a	ETP ^a	MEM ^b	CT ^{b*}				
278	>=16	>=8	2	0,125	1296	+	+	+
14	>=16	>=8	3	0,125	556	+	+	+
445	4	4	0,5	0,125	1271	+	+	+
423	>=16	>=8	>=32	0,125	258	+	+	-
320	8	>=8	3	0,25	25	+	+	+
310	>=16	>=8	>=32	0,125	258	+	+	-
193	8	>=8	3	0,125	348	+	+	+
77	>=16	>=8	4	0,125	25	+	+	+
67	8	4	1	0,125	25	+	+	+
59	>=16	4	1	0,125	25	+	+	+
50	>=16	>=8	>=32	0,125	258	+	+	-
29	>=16	>=8	3	0,125	392	+	+	+
2	8	>=8	4	0,125	258	+	+	-
56	>=16	>=8	>=32	12	25	+	+	+

Tabla 1: Perfiles de susceptibilidad e investigación de genes de resistencia de las 14 cepas de *Kpn*-KPC
^a Puntos de Corte: IMP (Imipenem): S≤1; ETP (Ertapenem): S ≤0,5 MEN (Meropenem): ≤1 (CLSI 2015); CT (Colistín): S≤2 (EUCAST 2016)
^b VITEK® 2: Healthcare bioMérieux
^b eTest

ID cepa	<i>rpoB</i>	<i>gapA</i>	<i>mdh</i>	<i>pgi</i>	<i>tonB</i>	<i>infB</i>	<i>phoE</i>	Secuencia tipo (ST)
C-002	1	3	1	1	79	3	1	258
C-014	15	2	1	28	138	1	12	556*
C-029	4	3	6	1	40	4	7	392
C-050	1	3	1	1	79	3	1	258
C-056	4	2	1	1	13	1	10	25
C-059	4	2	1	1	13	1	10	25
C-067	4	2	1	1	13	1	10	25
C-077	4	2	1	1	13	1	10	25
C-193	15	2	20	1	16	1	12	348
C-278	70	4	2	1	12	1	7	1296
C-310	1	3	1	1	79	3	1	258
C-320	4	2	1	1	13	1	10	25
C-423	1	3	1	1	79	3	1	258
C-445	4	2	2	2	4	3	4	1271

Tabla 2: Variación alélica y Secuencias Tipo de *Kpn*-KPC encontradas utilizando MLST
 *Secuencia tipo no descrita anteriormente

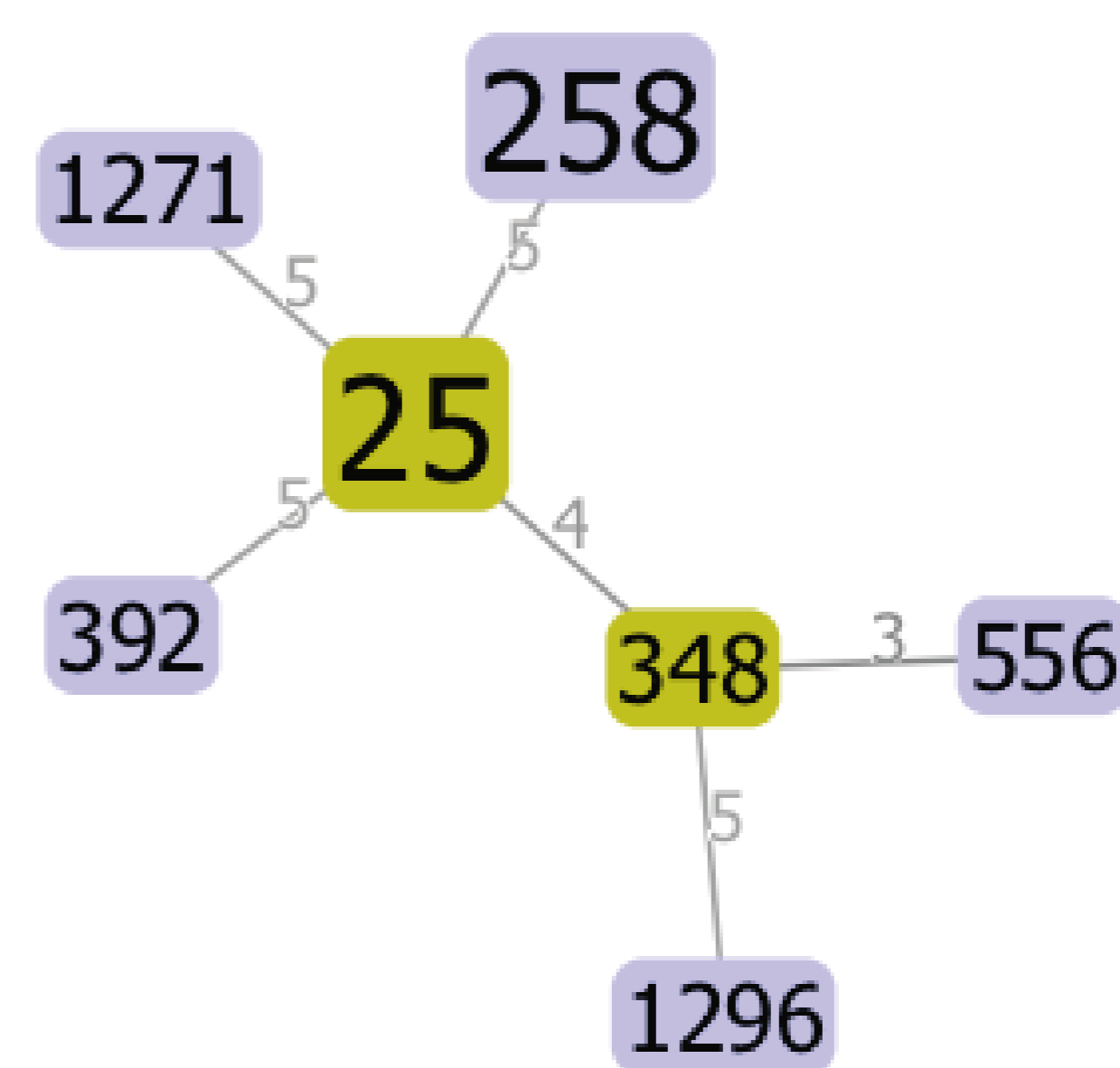


Figura 2: Filogenia de las Secuencias Tipo encontradas en este estudio

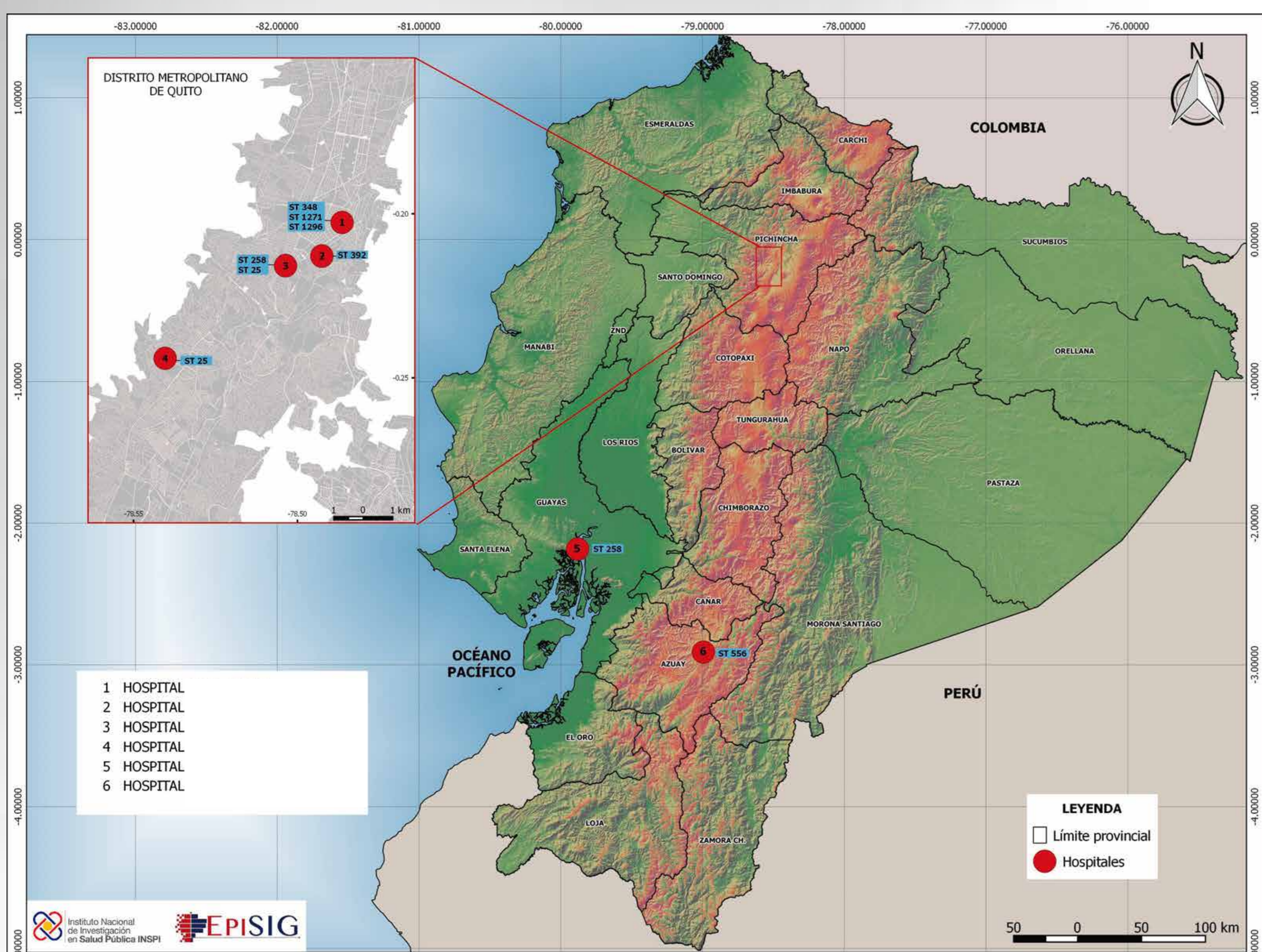


Figura 1: Distribución de Secuencias Tipo de *Kpn*-KPC en Ecuador

Resultados

Los perfiles de susceptibilidad demuestran que todas las secuencias tipo presentan resistencia a los carbapenémicos y todas las cepas excepto una fueron susceptibles al colistín. El 100% de las cepas amplificaron para los genes *bla*_{SHV} y *bla*_{TEM} mientras que el 71% para el gen *bla*_{CTX}. Se encontraron 7 Secuencias Tipo: ST 25 (5; 35.7%), ST 258 (4; 28.57%), ST 1271 (1; 7.14%), ST 1296 (1; 7.14%), ST 392 (1; 7.14%), ST 348 (1; 7.14%) y ST 556 (1; 7.14%). El 42,86% de las secuencias tipo fueron aisladas de la UCI con las ST 25 y ST 258, presentes en varios hospitales del país. Se destaca la presencia de dos clones en el Hospital 1 (ST 25; ST258) y la presencia de 3 clones en el Hospital 2 (ST 1296; ST 1271; ST 348). Los resultados revelan diversidad clonal entre los diferentes hospitales del país, sugiriendo endemidad de este tipo de microorganismo en nuestro medio.

Conclusiones

- Se observa diversidad clonal mediante MLST
- Se mantiene la sensibilidad al colistín, a excepción en una cepa: *Kpn*-56 (ST 25).
- La ST 25 y la ST 258 se presentan como las cepas con mayor frecuencia en nuestro medio.
- Se presentan las ST 1271 y ST 1296, las cuales solo han sido previamente descritas en Asia.
- La ST 556 aislada en Cuenca se presenta como una nueva ST la cual no ha sido descrita anteriormente.
- La mayoría de los casos provienen de hospitales localizados en la ciudad de Quito.
- La presencia de un clon predominante sugiere la falta de medidas de control de pacientes infectados con *Kpn*-KPC.

Referencias:

- 1) Bogdanovich, T., Adams-Haduch, J. M., Tian, G. B., Nguyen, M. H., Kwak, E. J., Muto, C. A., & Doi, Y. (2011). Colistin-resistant, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to the international epidemic clone ST258. *Clinical Infectious Diseases*, 53(4), 373–376. <http://doi.org/10.1093/cid/cir401>
- 2) Brisse, S., Fevre, C., Passet, V., Issenhuth-Jeanjean, S., Tournebise, R., Diancourt, L., & Grimont, P. (2009). Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: Identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS ONE*, 4(3). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0004982>
- 3) Humphries, R. M., Yang, S., Hemarajata, P., Ward, K. W., Hindler, J. A., Miller, S. A., & Gregson, A. (2015). First Report of Ceftazidime-Avibactam Resistance in a KPC-3-Expressing *Klebsiella pneumoniae* Isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(10), 6605–7. <http://doi.org/10.1128/AAC.01165-15>
- 4) Muñoz, S., Poirel, L., Bonomo, R., Schwab, M., Cornaglia, G., Garau, J., y otros. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious Diseases*, 13 (9), 785-796.

Agradecimientos :



Red WhonetEcuador

