

Resistencia a colistina en aislados de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos en un hospital pediátrico de Corrientes

Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from a pediatric hospital from Corrientes, Argentina

Juan Leandro Pellegrini¹, Clarisa Aguirre², Susana Marina Soto³, Laura Marcela Ramona Lovera², Liliana Silvina Lösch¹, José Alejandro Di Conza⁴ y Luis Antonio Merino¹

¹Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Chaco, Argentina.

²Hospital Pediátrico "Juan Pablo II", Corrientes, Argentina.

³Laboratorio Central de Redes y Programas, Corrientes, Argentina.

⁴Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Los autores declaran la ausencia de conflictos de intereses.

Este trabajo fue financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica (Código: PI 16L003) de la Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

Recibido: 16 de julio de 2021 (segunda versión: 4 de febrero de 2022) / Aceptado: 5 de marzo de 2022

Resumen

Introducción: Existe un incremento de las infecciones por *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos (KPRC) en la población pediátrica y los datos epidemiológicos son limitados. **Objetivos:** Conocer la frecuencia de KPRC en pacientes pediátricos, determinar la actividad *in vitro* de colistina y detectar el gen *mcr-1* en dichos aislados. **Materiales y Métodos:** Se estudiaron 220 aislados de *K. pneumoniae* en un hospital pediátrico durante los años 2018 y 2019. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó por microdilución en caldo según CLSI y EUCAST. Los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* y *mcr-1* se analizaron mediante reacción de polimerasa en cadena (RPC). **Resultados:** El 9,5% (n: 21) de los aislados fueron caracterizados como KPRC, donde se observó una resistencia a colistina de 47,6% (10/21) con valores de CIM_{50} de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y CIM_{90} de $\geq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$. En todos los aislados de KPRC se caracterizó el gen *bla_{KPC}* y no se detectó el gen *mcr-1*. El perfil de resistencia observado en otros antimicrobianos fue el siguiente: gentamicina 100% (n: 21), ciprofloxacina 100% (n: 21), cotrimoxazol 100% (n: 21) y amikacina 19% (n: 4). Se observó 100% de sensibilidad a tigeciclina y ceftazidima/avibactam. **Conclusión:** Este estudio demuestra un valor significativo de la resistencia a colistina en comparación a ceftazidima/avibactam y tigeciclina.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana; colistina; *Klebsiella pneumoniae*.

Abstract

Background: There is an increase of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) infections in the pediatric population and epidemiological data are limited. **Aim:** To calculate the frequency of CRKP in pediatric patients, to determine the *in vitro* activity of colistin and to detect the presence of *mcr-1* gene in said isolates. **Methods:** 220 isolates of *K. pneumoniae* were studied in a pediatric hospital between January 2018 and December 2019. Antimicrobial susceptibility was determined by microdilution in broth according to guidelines of CLSI and EUCAST. The genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* and *mcr-1* were detected by polymerase chain reaction (PCR). **Results:** 9.5% (n: 21) of the isolates were characterized as CRKP, where was observed a resistance to colistin of 47.6% (10/21) with values of MIC_{50} of 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and MIC_{90} of $\geq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$. In 100% of CRKP strains the *bla_{KPC}* gene was detected and the *mcr-1* gene was not found. The resistance profile to other antimicrobials was as follow: gentamicin 100% (n: 21), trimethoprim/sulfamethoxazole 100% (n: 21), ciprofloxacin 100% (n: 21), amikacin 19% (n: 4). All of the isolates were sensitive to ceftazidime/avibactam and tigecycline. **Conclusion:** This study demonstrates a significant value of resistance to colistin in pediatric patients compared to other last line antimicrobial such as ceftazidime/avibactam and tigecycline.

Keywords: antimicrobial resistance; colistin; *Klebsiella pneumoniae*.

Correspondencia a:

Juan Leandro Pellegrini
juancypelle@hotmail.com

Introducción

La resistencia antimicrobiana (RAM) es reconocida como una de las amenazas más importante para la salud pública del siglo XXI, debido al aumento del número de microorganismos resistentes a múltiples fármacos (MDR), como a la falta de disponibilidad de nuevos antimicrobianos¹. En la población pediátrica, los carbapenémicos suelen ser la única opción para el tratamiento de infecciones graves debido a los efectos secundarios producidos por otros antimicrobianos². Por el contrario, su utilidad ha disminuido considerablemente como consecuencia del aumento alarmante de la prevalencia de *Enterobacteriales* resistente a carbapenémicos (ERC). Por esta razón, en infecciones causadas por estos microorganismos, colistina es utilizada en combinación con otros antimicrobianos de último recurso como fosfomicina y tigeciclina³.

En Argentina, la prevalencia de ERC ha aumentado significativamente en los últimos años, siendo *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) el microorganismo más frecuentemente aislado y considerado endémico en el país⁴. Por otro lado, estudios publicados durante la última década informaron que la frecuencia de resistencia a carbapenémicos aumentó de 0% en el año 2000 a 0,47% en el año 2010 en *Enterobacteriales* provenientes de niños en Estados Unidos de América (E.U.A.)⁵.

Colistina (polimixina E), es un polipéptido policatiónico de la familia de las polimixinas, que a menudo se denominan antimicrobianos de último recurso⁶. Hasta hace unos años, la principal causa de resistencia a colistina conocida en *K. pneumoniae* se debía a mutaciones, tanto en los sistemas regulatorios de dos componentes mediados por *PmrA/PmrB* y *PhoP/PhoQ*, como en el gen cromosómico *mgrB*, que desencadenan la síntesis y adición de fosfoetanolamina (PEtN) al lípido A. Por consiguiente, se produce un aumento en la carga positiva del lipopolisacárido y, por lo tanto, una disminución de la unión de polimixinas^{7,8}. Sin embargo, en el año 2015 se reportó el primer gen de naturaleza plasmídica y móvil que confiere resistencia a polimixinas en cepas de *Escherichia coli* de origen humano y animal (porcino) en China, que denominaron *mcr-1*⁹. Así mismo, en Argentina en el año 2016 se describió por primera vez la presencia del gen *mcr-1* en aislados de *E. coli* en nueve pacientes adultos, cinco de ellos se asociaron con infecciones invasoras¹⁰.

A pesar de la gran disponibilidad de evidencia científica en cuanto a *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos (KPRC) en adultos, hasta la fecha se observa un amplio desconocimiento sobre el impacto clínico por estos microorganismos multirresistentes en pediatría¹¹. Esta situación genera gran preocupación, por tratarse de una población naturalmente vulnerable y donde el riesgo de colonización o infección puede variar dependiendo de la

madurez inmunológica, la presencia de comorbilidades, la presencia de dispositivos médicos invasivos e incluso el uso previo de antimicrobianos¹². Por tal motivo, los objetivos de este trabajo fueron conocer la frecuencia de KPRC en pacientes pediátricos, determinar la actividad *in vitro* de un antimicrobiano de último recurso como colistina y detectar el gen *mcr-1* en dichos aislados.

Materiales y Métodos

Diseño de estudio y población

Se diseñó un estudio retrospectivo, de corte transversal, observacional y analítico. En el período comprendido entre enero de 2018 y diciembre de 2019, se obtuvieron aislados de *K. pneumoniae* en pacientes internados en el Hospital Pediátrico “Juan Pablo II”, centro de salud regional de referencia en la Provincia de Corrientes, Argentina.

Criterios de inclusión

Pacientes con una estadía hospitalaria mayor a 3 días y pacientes con una edad de 2 meses hasta 15 años.

Se estudiaron muestras clínicas significativas e hisopados rectales de vigilancia. Se realizó una ficha epidemiológica para cada paciente a fin de consignar edad, sexo, área de procedencia y antimicrobianos recibidos durante su internación. Toda esta información fue recopilada a través de historias clínicas y registros internos (carpetas de trabajo, informes, etc.) del Laboratorio de Bacteriología.

Se obtuvo la aprobación del Comité de Bioética de la institución antes de realizar la revisión de los registros.

Identificación de los aislados clínicos

La identificación de las colonias compatibles con *K. pneumoniae* se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales¹³. Se seleccionó un solo aislado significativo por muestra para cada paciente.

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad *in vitro* se determinó a través del método de Kirby-Bauer por difusión con disco y por el método de microdilución en caldo mediante el sistema Sensititre® (Thermo Fisher Scientific, US) según las recomendaciones del CLSI, 2021¹⁴. Los agentes antimicrobianos que se ensayaron fueron los siguientes: cefazolina 30 µg (CFZ), cefotaxima 30 µg (CTX), ceftazidima 30 µg (CAZ), cefepime 30 µg (FEP), piperacilina/tazobactam 110 µg (PTZ), imipenem 10 µg (IPM), meropenem 10 µg (MEM), ertapenem 10 µg (ETP), ciprofloxacina 5 µg (CIP), ácido nalidíxico 30 µg (NAL), levofloxacina 5 µg (LEV), cotrimoxazol (trimetoprim/sulfa) 25/23,75 µg (TMS), amikacina 30 µg (AMI), nitrofurantoina 300 µg (NIT), tigeciclina (TGC) y ceftazidima/avibactam 10/4 µg (CZA). La resistencia a colistina (COL) se evaluó

como crecimiento o no en placas de agar Mueller Hinton con suplemento de 3 µg/mL de colistina (COLTEST®, Britania)¹⁵ y la concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó por el método de microdilución en caldo, utilizando como control negativo *E. coli* ATCC 25922 y control positivo *Citrobacter amalonaticus*, portador del gen *mcr-1.5* (Cepa N°4, Encuesta N°56, Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Argentina, 2019). Para la interpretación de los valores de COL, TGC y CZA se utilizaron los puntos de corte del EUCAST¹⁶. La CIM₅₀ y CIM₉₀ fueron calculadas en función de la CIM de cada aislado.

En este estudio, definimos a MDR como la resistencia adquirida en al menos un agente en tres o más categorías de antimicrobianos y a la resistencia extrema a los fármacos (XDR), como la resistencia en todas las categorías de antimicrobianos excepto en dos o menos, según la definición establecida previamente¹⁷.

Detección fenotípica de carbapenemasas

En aquellos aislados de *K. pneumoniae* resistentes a uno o más carbapenémicos (meropenem, imipenem o ertapenem), se realizó la detección de la producción de carbapenemasa por medio de las siguientes metodologías: método colorímétrico Blue-Carba-Test (BCT)^{18,19}, test de Hodge modificado¹⁴ y prueba de sinergia con doble disco MEM (10 µg) -ácido 3-aminofenil borónico (APB, 400 µg) (DCM BRIT®, Britania), considerándose prueba positiva si se observó un aumento del diámetro de 5 mm o más en la zona de inhibición de crecimiento alrededor de los discos combinados MEM-APB con respecto a la zona de inhibición alrededor del disco de MEM.

Caracterización molecular de carbapenemasas

La detección de genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} y *bla*_{OXA-48} se realizó por medio de reacción de polimerasa en cadena (RPC), utilizando oligonucleótidos específicos (Tabla 1).

Caracterización molecular de resistencia a colistina

En todos los aislados en estudio, se determinó la presencia del gen *mcr-1* mediante RPC, empleando cebadores específicos (Tabla 1).

Análisis estadístico

Se utilizó el programa SPSS versión 22.0 para la descripción de las variables de estudio. Para valores de edad se calculó la media, desviación estándar (DS) y su respectivo índice de confianza (IC₉₅) al 95%. Se analizaron las variables cualitativas con la prueba de chi cuadrado (χ^2) de Pearson y la significación estadística se evaluó para un valor de p < 0,05.

Resultados

Características microbiológicas de los aislados clínicos

Durante el período de estudio se obtuvo un total de 220 aislados de *K. pneumoniae*; en 9,5% (n: 21) se confirmó la resistencia a uno o más carbapenémicos. De los 21 pacientes con aislados de KPRC, 5 (23,8%) presentaron colonización y 16 (76,2%) desarrollaron infección clínicamente documentada. El 52,4% (n: 11) correspondió al sexo femenino, con una edad media de 46 meses (DS = 61,65) e IC₉₅ entre 2 y 186 meses.

Tabla 1. Tabla de oligonucleótidos a utilizar y genes a amplificar

Nombre primer	Gen	Secuencia (5' a 3')	Tamaño Amplicon(pb)	Referencia
KPC-F KPC-R	<i>bla</i> _{KPC}	AACAAGGAATATCGTGTAG AGATGATTTCAAGGCCCTA	916	(4)
VIM-F VIM-R	<i>bla</i> _{VIM}	AGTGGTAGATCCGACAG ATGAAAGTCGCTGGAGAC	261	(20)
IMP-UF1 IMP-UR1	<i>bla</i> _{IMP}	GGYGGTTWTGTTCATACWTCCTTYGA GGYARCCAACCCTASGTTATCT	404	(21)
NDM-F NDM-R	<i>bla</i> _{NDM}	AGCACACTCCTATCTCGAC GGCGTAGTGCTCAGTGT	512	(22)
OXA48-F OXA48-R2	<i>bla</i> _{OXA-48}	ATGCGTGTATTAGCCTTATCGG TGAGCACTTCTTGTGATG	775	(23)
CLR5-F CLR5-R	<i>mcr-1</i>	CGGTCAGTCGTTGTC CTTGGTCGGTGTAGGG	309	(9)

Las fuentes de aislamiento fueron orina (42,8%, n: 9); lavado broncoalveolar (LBA) (14,3%, n: 3); hisopado rectal (23,8%, n: 5); sangre (4,8%, n: 1); catéter intravascular (4,8%, n: 1); líquido pleural (4,8%, n: 1) y líquido peritoneal (4,8%, n: 1) (Tabla 2). La Unidad de Cuidados Intensivos Pediátrico (UCIP) fue el servicio con la mayor tasa de recuperación de KPRC (66,7%, n: 14), seguido del sector de Clínica 2 (14,3%, n: 3), sector de Clínica 1 (9,5%, n: 2), Nefrología (4,8%, n: 1) y por último, Emergencias (4,8%, n: 1). Se utilizó colistina como tratamiento antimicrobiano en seis pacientes de UCIP, en tres se empleó como único antimicrobiano y en los tres restantes, se administró en combinación con meropenem (n: 2) y con amikacina (n: 1) con un promedio total de 14 días de tratamiento.

Perfil de sensibilidad antimicrobiana y caracterización de carbapenemasas

Se observó que 100% (IC_{95} ; [84-100%]) de los aislados fueron resistentes a CTX, CAZ, FEP, PTZ, IMI, MEM y ERT. Además, se determinó una elevada tasa de resistencia a quinolonas, 100% fueron resistentes a CIP, NAL y LEVO (IC_{95} ; [84-100%]). La resistencia a TMS fue de 100% (IC_{95} ; [84-100%]) y de NIT fue 9,5% (IC_{95} ; [1-30%]). Por otra parte, el porcentaje de aislados no sensibles a aminoglucósidos fue dependiente del fármaco analizado, GEN evidenció 100% (IC_{95} ; [84-100%]) de resistencia y AMI 9,5% (IC_{95} ; [1-30%]). Todos los microorganismos en estudio fueron sensibles a TGc y a CZA (100%; IC_{95} ; [84-100%]) (Figura 1).

En todos los aislados de KPRC analizados, las prue-

Tabla 2. Caracterización de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC y sensibilidad antimicrobiana a colistina en este estudio (n: 21)

Aislamiento	Fuente	Servicio	Fenotipo		Gen blaKPC	COLTEST	CIMCOL	MDR	XDR
			BCT	THM					
I-2404	H. rectal	C2	+	+	+	-	≤ 1	+	-
T-729	Catéter	UCIP	+	+	+	+	> 4	+	-
T-770	LBA	UCIP	+	+	+	+	4	+	-
U-16635	L. pleural	UCIP	+	+	+	+	4	+	-
T-803	H. rectal	UCIP	+	+	+	+	4	+	-
T-805	Orina	UCIP	+	+	+	+	> 4	+	-
U-17475	Orina	NEF	+	+	+	+	> 4	-	+
U-789	Sangre	UCIP	+	+	+	+	4	+	-
U-2943	LBA	UCIP	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-3239	Orina	C2	+	+	+	-	2	+	-
U-3314	L. peritoneal	UCIP	+	+	+	+	> 4	+	-
T-163	Orina	UCIP	+	+	+	+	> 4	+	-
U-9037	H. rectal	UCIP	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-12351	H. rectal	C1	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-13080	Orina	C1	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-14936	Orina	C2	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-497	Orina	UCIP	+	+	+	-	2	+	-
U-945	Orina	EM	+	+	+	-	≤ 1	+	-
T-120	LBA	UCIP	+	+	+	-	≤ 1	+	-
U-1703	Orina	UCIP	+	+	+	+	4	-	+
T-143	H. rectal	UCIP	+	+	+	-	2	+	-

H. rectal: hisopado rectal, LBA: lavado bronco-alveolar, L. pleural: líquido pleural, L. peritoneal: líquido peritoneal, UCIP: Unidad de Cuidados Intensivos Pediátrico, C1: Clínica 1, C2: Clínica 2, NEF: Nefrología, EM: Emergencias, BCT: Blue Carba Test, THM: test de Hodge modificado, COLTEST: método de dilución en agar. CIM: concentración inhibitoria mínima. MDR: resistencia a múltiples fármacos. XDR: resistencia extrema a fármacos (definición según Magiorakos y col.)

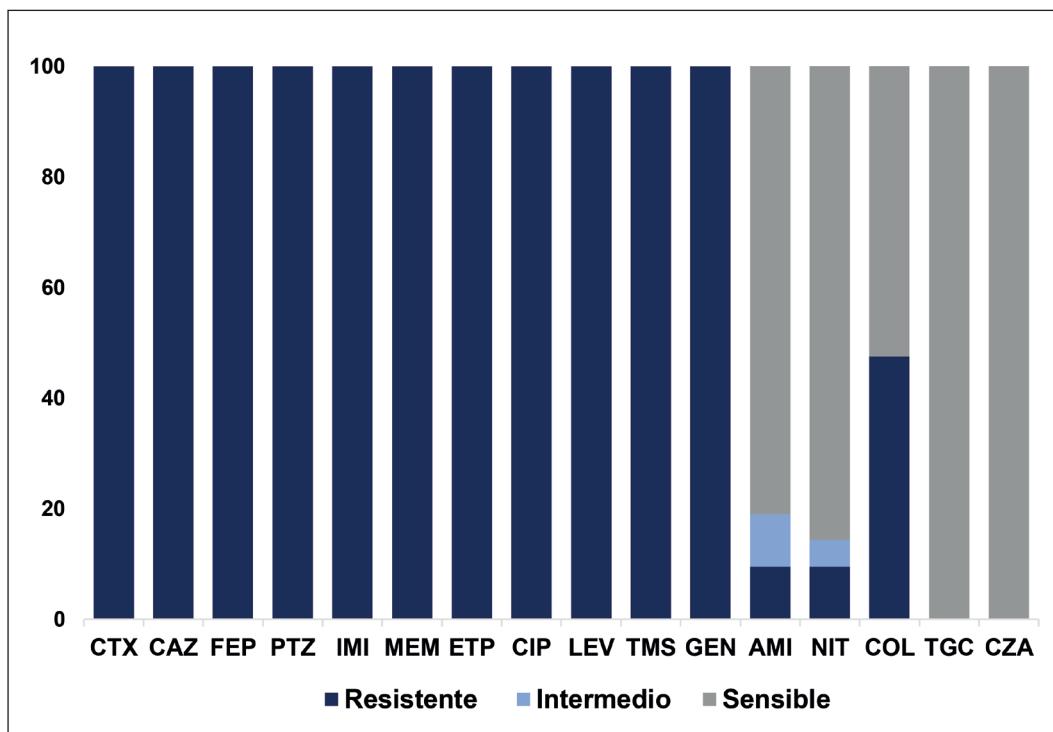


Figura 1. Perfil de sensibilidad de los antimicrobianos ensayados. CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima, FEP: cefepime, PTZ: piperacilina/tazobactam, IMI: imipenem, MER: meropenem, ETP: ertapenem, CIP: ciprofloxacina, LEV: levofloxacina, TMS: cotrimoxazol, GEN: gentamicina, AMI: amikacina, NIT: nitrofurantoína, COL: colistina, TGC: tigeciclina y CZA: ceftazidima/avibactam.

bas fenotípicas como BCT, test de Hodge modificado y de sinergia con doble disco fueron positivas, demostrando la actividad carbapenemasa con una sensibilidad y especificidad de 100%. A su vez, el análisis molecular basado en RPC reveló la presencia del gen *bla_{KPC}* en todas las cepas analizadas (100%, IC₉₅; [84%; 100%]) y no se detectaron genes *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}* (Tabla 2).

El 47,6% (n: 10) de los aislados de KPRC fueron fenotípicamente categorizados como resistentes a COL y presentaron una prueba de COLTEST® positiva. Los valores de CIM de COL presentaron una distribución bimodal, con una CIM₅₀ de 2 µg/mL, CIM₉₀ de > 4 µg/mL y un rango de ≤ 1 a > 4 µg/mL (Figura 2). El 90% (9/10) correspondió a UCIP y 10% (1/10) al servicio Nefrología. En ninguno de estos aislados se evidenció la presencia del gen *mcr-1* (Tabla 2). Por otro parte, de los microorganismos recuperados en orina, 4/9 (44%, IC₉₅: [21-86%]) evidenciaron una resistencia significativamente mayor a COL que aquellos obtenidos de LBA (1/3; 33%, IC₉₅: [10%; 90%]) ($p = 0,04$).

En este estudio, 19/21 (90,5%, IC₉₅: [67-99%]) de los aislados de KPRC fueron clasificados como MDR y 2/21 (9,5%, IC₉₅: [1-30%]) fueron categorizados como XDR, según lo definido por Magiorakos y cols. (Tabla 2).

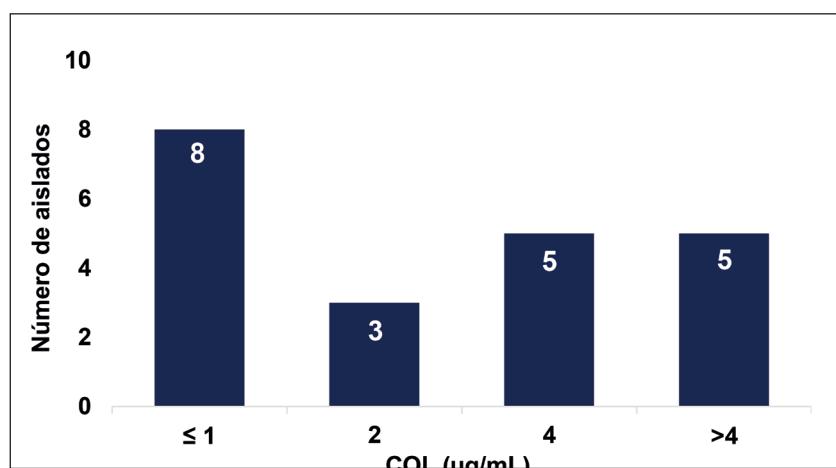


Figura 2. Distribución de los valores de CIM de colistina en la población estudiada.

Discusión

El creciente nivel de resistencia a carbapenémicos observado en infecciones producidas por *Enterobacteriales* en niños ha sido reconocido como un importante problema de salud pública durante los últimos años¹¹. Por tal motivo, realizamos un estudio retrospectivo observacional,

que evaluó la actividad *in vitro* de COL en aislados de KPRC en pacientes internados de un hospital pediátrico y comprobamos un valor significativo de la resistencia a COL en comparación a otro antimicrobiano de último recurso como CZA. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio que proporciona información sobre la epidemiología molecular del gen *mcr-1* en aislados de KPRC en un hospital pediátrico del noreste argentino.

Durante el período 2004-2012, en un estudio de vigilancia global de resistencia antimicrobiana en *Enterobacteriales* aislados de pacientes de 1 a 17 años, se reportó una prevalencia de KPRC de 10,1% (n: 436) en América Latina, en comparación con Europa que fue de 3,2% (n: 901) y Norteamérica de 2,1% (n: 726)²⁴. A su vez, un estudio retrospectivo de dos años en China evidenció una frecuencia de KPRC de 32,5% (n: 523) en pacientes pediátricos, 17,7% correspondieron a KPC, 39,6% a MBL y 42,6% a OXA-48-like²⁵. Por otro lado, en un ensayo prospectivo realizado en cuatro hospitales pediátricos independientes de E.U.A., observaron una frecuencia de KPRC de 1,8% (n: 2.969), con una tasa de aislamiento en orina de 71%, 23% en sangre y 4% en líquido peritoneal²⁶. Sin embargo, en nuestro estudio la frecuencia de KPRC calculada fue de 9,5% (n: 220), con 38,1% (8/21) de recuperación en orina y 4,8% (1/21) en sangre, en concordancia con lo reportado en la primera instancia. Cabe destacar que 100% de los aislados de *K. pneumoniae* estudiados fueron productores de carbapenemas tipo KPC; por lo tanto, estos resultados indican que este mecanismo sería el único responsable de la resistencia observada en carbapenémicos.

Hallazgos recientes sobre la resistencia a carbapenémicos en aislados de *K. pneumoniae* en niños revelaron que el fenotipo MDR y XDR fue de 80 y 10%, respectivamente²⁷. En concordancia con lo informado anteriormente, nuestro estudio reportó una tasa de XDR de 9,5% y el resto fueron categorizados como MDR (90,5%). Esto nos indica que la resistencia antimicrobiana constituye una situación preocupante en la institución y si no se adoptan las medidas necesarias, dicho problema se irá profundizando aún más.

En los últimos años, la aparición de múltiples mecanismos de resistencia ha reducido las opciones terapéuticas disponibles para el tratamiento de infecciones por ERC, provocando de esta manera la utilización masiva de otros antimicrobianos como aminoglucósidos y polimixinas²⁸. En un estudio multicéntrico, llevado a cabo en tres centros pediátricos de tercer nivel de atención en diferentes regiones de E.U.A., observaron una resistencia moderada a COL de 20% y una sensibilidad a AMI de 92%, sobre un total de 63 aislados de KPRC analizados²⁹. En cuanto al perfil de sensibilidad de los antimicrobianos evaluados en nuestro estudio, es importante resaltar el hallazgo significativo de resistencia a COL (47,6%), considerando

que este antimicrobiano se utiliza como último recurso para el tratamiento de infecciones por estos microorganismos en combinación con AMI, la cual ha demostrado una actividad *in vitro* de 81%, en concordancia con lo reportado anteriormente. Al mismo tiempo, también se observó una susceptibilidad *in vitro* a TIG de 100%, pero se debe destacar que, en pediatría, estos hallazgos tendrían un beneficio teórico para la utilización de este antimicrobiano en forma compasivo y ocasional dada la disponibilidad de CZA.

En todos los aislados de KPRC analizados no se detectó el gen plasmídico *mcr-1*, lo que coincide con los datos reportados en la literatura científica, que muestran que la prevalencia de *mcr-1* en todo el mundo es mucho mayor en especies de origen animal y ambiental que en el ser humano³⁰. Estos resultados sugieren que los aislados que presentaron un perfil fenotípico de resistencia a COL, podrían presentar alteraciones en los genes cromosómicos que codifican para el sistema *pmrAB* o en el gen *mgrB*.

Por otro lugar, la sensibilidad a COL fue variando en función del tipo de espécimen, ya que en muestras de orina se observó una resistencia significativamente mayor ($p = 0,04$), como también en función del área hospitalaria, donde UCIP fue el servicio más afectado con 90% de los aislados categorizados como resistentes. Esta situación podría ser consecuencia de la utilización previa de COL, sola o combinada con otros antimicrobianos, como tratamiento en pacientes de UCIP con infección por KPRC (54,5%) y generándose de esta manera un ambiente particularmente favorable para la selección de microorganismos resistentes.

Limitaciones

En primer lugar, no se realizó la determinación de secuencirotipos (ST) en los aislados de KPRC y, por ende, no se pudo establecer los clones circulantes más frecuentes en nuestro hospital. Además, nuestro estudio se centró en la detección molecular del gen plasmídico *mcr-1* en CRKP, pero en aquellos aislados que presentaron un perfil fenotípico de resistencia a COL, no se realizó la detección de genes cromosómicos del sistema *pmrAB*, y *mgrB*.

Conclusiones

Nuestros hallazgos demuestran un nivel considerable en la frecuencia de aislamiento de KPRC y un perfil de resistencia a COL significativo en estos microorganismos multirresistentes en pacientes pediátricos. Esta situación se ha convertido en un motivo de gran preocupación y esto podría ser consecuencia de la utilización de COL como antimicrobiano de último recurso en los pacientes estudiados.

Finalmente, consideramos oportuno destacar que nuestro trabajo es de suma utilidad para la institución, ya que

ayuda a definir cuándo son necesarias la implementación de medidas de prevención y control de infecciones o la revisión de los esquemas de antimicrobianos empleados, evitando la proliferación y diseminación de microorganismos con fenotipo MDR y XDR, que limitan las opciones de tratamiento en una población particularmente vulnerable.

Agradecimientos. Al recurso humano del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Pediátrico “Juan Pablo II” por proporcionar los aislados para este estudio y al Laboratorio Central de Redes y Programas por la detección molecular de los genes *bla_{KPC}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}* en las cepas de KPRC.

Referencias bibliográficas

- 1.- Hsu A J, Tamma P D. Treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections in children. *Clin Infect Dis.* 2014; 58(10): 1439-48. doi: 10.1093/cid/ciu069.
- 2.- Vardakas K Z, Tansarli G S, Rafailidis P I, Falagas M E. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteremia due to *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β-lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(12): 2793-803. doi: 10.1093/jac/dks301.
- 3.- Temkin E, Adler A, Lerner A, Carmeli Y. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: biology, epidemiology and management. *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1323: 22-42. doi: 10.1111/nyas.12537.
- 4.- Pasteran F G, Otaegui L, Guerriero L, Radice G, Maggiore R, Rapoport M, et al. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(7): 1178-80. doi: 10.3201/eid1407.070826.
- 5.- Logan L K, Renschler J P, Gandra S, Weinstein R A, Laxminarayan R. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in children, United States, 1999-2012. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(11): 2014-21. doi: 10.3201/eid2111.150548.
- 6.- Tang S S, Apisarnthanarak A, Hsu L Y. Mechanisms of β-lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014; 78: 3-13. doi: 10.1016/j.addrev.2014.08.003.
- 7.- Olaitan A O, Morand S, Rolain J M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014; 5: 643. doi: 10.3389/fmicb.2014.00643.
- 8.- Lee J Y, Choi M J, Choi H J, Ko K S. Preservation of acquired colistin resistance in gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 60(1): 609-12. doi: 10.1128/AAC.01574-15.
- 9.- Liu Y Y, Wang Y, Walsh T R, Yi L X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16(2): 161-8. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- 10.- Rapoport M, Faccione D, Pasteran F, Ceriana P, Albornoz E, Petroni A; MCR Group, Corso A. First description of mcr-1-mediated colistin resistance in human infections caused by *Escherichia coli* in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(7): 4412-3. doi: 10.1128/AAC.00573-16.
- 11.- Chiotos K, Han J H, Tamma P D. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections in children. *Curr Infect Dis Rep.* 2016; 18(1): 2. doi: 10.1007/s11908-015-0510-9.
- 12.- Berezin E N, Solórzano F. Gram-negative infections in pediatric and neonatal intensive care units of Latin America. *J Infect Dev Ctries.* 2014; 8(8): 942-53. doi: 10.3855/jidc.4590.
- 13.- Brenner D J, Farmer J. Chapter: *Enterobacteriaceae*. Whitman WB, Rainey F, Kämpfer P, Trujillo M, Chun J, DeVos P, Hedlund B, Dedysh S, editors. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2015, p. 1-24 doi:10.1002/9781118960608.fbm00222.
- 14.- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Thirty Informational Supplement M100-S31, Wayne, PA (USA), 2021.
- 15.- Bardet L, Rolain J M. Development of new tools to detect colistin-resistance among *Enterobacteriaceae* strains. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018; 2018: 1-25. doi: 10.1155/2018/3095249.
- 16.- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/
- 17.- Magiorakos A P, Srinivasan A, Carey R B, Carmeli Y, Falagas M E, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(3): 268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- 18.- Pires J, Novais A, Peixe L. Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(12): 4281- 3. doi: 10.1128/JCM.01634-13.
- 19.- Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, Albornoz E, et al. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2015; 53(6): 1996-8. doi: 10.1128/JCM.03026-14.
- 20.- Miriagou V, Tzelepi E, Gianneli D, Tzouvelekis L S. *Escherichia coli* with a self-transferable, multiresistant plasmid coding for metallo-beta-lactamase VIM-1. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(1): 395-7. doi: 10.1128/AAC.47.1.395-397.2003.
- 21.- Pasterán F, Rapoport M, Petroni A, Faccione D, Corso A, Galas M, et al. Emergence of PER-2 and VEB-1 in *Acinetobacter baumannii* strains in the Americas. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 3222-4. doi: 10.1128/AAC.00284-06.
- 22.- Pasterán F, Albornoz E, Faccione D, Gomez S, Valenzuela C, Morales M, et al. Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1795-7. doi: 10.1093/jac/dks101
- 23.- Poirel L, Castanheira M, Carrér A, Rodriguez C P, Jones R N, Smayevsky J, et al. OXA-163, an OXA-48-related class D β-lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(6): 2546-51. doi: 10.1128/AAC.00022-11.
- 24.- Kehl S C, Dowzicky M J. Global assessment of antimicrobial susceptibility among Gram-negative organisms collected from pediatric patients between 2004 and 2012: results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *J Clin Microbiol.* 2015; 53(4): 1286-93. doi: 10.1128/JCM.03184-14.
- 25.- Tian D, Pan F, Wang C, Sun Y, Zhang H. Resistance phenotype and clinical molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among pediatric patients in Shanghai. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 1935-43. doi: 10.2147/IDR.S175584.
- 26.- Zerr D M, Weissman S J, Zhou C, Kronman M P, Adler A L, Berry J E, et al. The molecular and clinical epidemiology of extended-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* at 4 US pediatric hospitals. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2017; 6(4): 366-75. doi: 10.1093/jpids/piw076.
- 27.- Patil S, Chen H, Zhang X, Lian M, Ren P G, Wen F. Antimicrobial resistance and resistance

- determinant insights into multi-drug resistant gram-negative bacteria isolates from paediatric patients in China. *Infect Drug Resist.* 2019; 12: 3625-34. doi: 10.2147/IDR.S223736.
- 28.- Chiotos K, Hayes M, Gerber J S, Tamma P D. Treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections in children. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2020; 9(1): 56-66.
- doi: 10.1093/jpids/piz085.
- 29.- Chiotos K, Tamma P D, Flett K B, Naumann M, Karandikar M V, Bilker W B, et al. Multicenter study of the risk factors for colonization or infection with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in children. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(12): e01440-17. doi: 10.1128/AAC.01440-17.
- 30.- Hamel M, Chatzipanagiotou S, Hadadj L, Petinaki E, Papagianni S, Charalampaki N, et al. Inactivation of *mgrB* gene regulator and resistance to colistin is becoming endemic carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in Greece: A nationwide study from 2014 to 2017. *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 55(4): 105930. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105930.