

**Phenotypic, Biochemical, and Genetic Analysis of KPC-41, a KPC-3 Variant
Conferring Resistance to Ceftazidime-Avibactam and Exhibiting Reduced
Carbapenemase Activity.**

Linda Mueller, Amandine Masseron, Guy Prod'Hom, Tatiana Galperine, Gilbert Greub, Laurent Poirel, Patrice Nordmann. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. December 2019. DOI: 10.1128/AAC.01111-19

RESUMEN

Ceftazidima-avibactam (CZA) está indicado en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias multirresistentes incluyendo enterobacterias productoras de carbapenemasas tipo KPC. A pesar de su uso limitado, se han descrito variantes de KPC resistentes a CZA debido principalmente a sustituciones de aminoácidos en la secuencia del gen *bla_{KPC}* que a menudo ocurren en el *omega loop*, una región conservada de las betalactamasas de clase A. Curiosamente, las cepas con estas variantes pueden recuperar la sensibilidad a carbapenémicos simulando un fenotipo de betalactamasa de espectro extendido (BLEE).

Este estudio describe la betalactamasa KPC-41, una nueva variante de KPC-3 resistente a CZA que contiene una inserción de 3 aminoácidos en su secuencia, identificada en una cepa clínica de *Klebsiella pneumoniae*.

Se estudiaron dos cepas de un paciente ingresado en el Hospital Universitario de Lausanne, Suiza, que previamente había estado ingresado en un hospital de Sicilia, Italia. En el estudio de colonización realizado al ingreso se aisló en el hisopo rectal una *K. pneumoniae* productora de KPC sensible a CZA y colistina. Tras una cirugía pancreática el paciente desarrolló una peritonitis siendo tratado con colistina y CZA. En estudios posteriores de colonización se aisló otra cepa de *K. pneumoniae* productora de

KPC resistente a CZA y sensible a meropenem, imipenem y colistina. Posteriormente el paciente tuvo una colangitis tratada con éxito con colistina y meropenem.

El análisis de las secuencias del genoma completo de ambos aislamientos descartó cualquier relación clonal. Se identificó la primera cepa como KPC-3 perteneciente al clon ST307 y en la segunda cepa se observó una inserción de tres aminoácidos (269-ProAsnLys-270) en el gen de la KPC-3 dando lugar a la nueva variante KPC-41 perteneciente al clon ST395.

La clonación y expresión de ambos genes en *Escherichia coli* TOP10 para determinar valores de CMI y parámetros cinéticos mostró que KPC-41 produjo una ligera reducción de la sensibilidad a carbapenémicos y confirió resistencia a ceftazidima y CZA. Los estudios de cinética confirmaron una menor hidrólisis de cefotaxima, aztreonam e imipenem para KPC-41, sin embargo, la tasa de hidrólisis de la ceftazidima fue mucho menor que para KPC-3. Estudios de afinidad a ceftazidima mostraron un mayor nivel de inhibición de hidrólisis de nitrocefina en presencia de KPC-41, siendo la K_i tres veces menor que para KPC-3. La actividad inhibitoria de avibactam fue mucho más baja para KPC-41 que KPC-3, mientras que para tazobactam y ácido clavulánico fue similar.

COMENTARIO

Es destacable en este estudio que ambos aislados perteneciesen a clones diferentes. La cepa de *K. pneumoniae* productora de KPC-41 perteneció al clon ST395. Este clon está bastante extendido en Italia donde existen varios casos descritos de variantes de KPC resistentes a CZA. Los autores especulan que este paciente podría haber sido previamente colonizado en su ingreso en el hospital de Sicilia por *K.*

pneumoniae productora de KPC-41 y que el tratamiento adicional con CZA dado en el hospital de Suiza probablemente contribuyó a su selección.

A diferencia de la mayoría de las variantes de KPC descritas, en KPC-41 la sustitución de aminoácidos se produjo fuera del *omega loop* produciendo igualmente resistencia a CZA. A pesar de la recuperación total o parcial de la sensibilidad a los carbapenémicos observada en estas variantes, el uso terapéutico de carbapenémicos en este tipo de infecciones es aún incierto ya que se ha demostrado *in vitro* que sucesivos pases en medios con carbapenémicos pueden restablecer la resistencia a los mismos. En el presente caso la combinación de meropenem y colistina fue exitosa. No obstante, la cepa fuese sensible a colistina, lo que hace difícil saber si la respuesta terapéutica estuvo influido por la adición de un carbapenémico. Existen otros estudios que apoyan un régimen de terapia combinada con carbapenémicos como opción terapéutica para este tipo de infecciones (1).

Finalmente, el estudio subraya que esta variante puede detectarse en un cribado de rutina de cepas resistentes a carbapenémicos ya que el aislado permaneció resistente a ertapenem y dio positivo el test de detección de carbapenemasas CarbaNP. Sin embargo, existen otras variantes de KPC como KPC-31 en las que los test fenotípicos como el método de inactivación de carbapenemasas y los test inmunocromatográficos son negativos, siendo solo detectables mediante métodos moleculares (1).

Es importante que los microbiólogos clínicos estén alerta sobre este fenómeno ya que estas variantes pueden simular fenotípicamente una BLEE siendo algunas de ellas no detectables mediante métodos fenotípicos de rutina. A pesar de que estas variantes surgen tras el tratamiento con CZA, su sospecha solo en pacientes tratados con este fármaco podría favorecer su diseminación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cano Á, Guzmán-Puche J, García-Gutiérrez M, Castón JJ, Gracia-Ahufinger I, Pérez-Nadales E, Recio M, M Natera A, Marfil-Pérez E, Martínez LM, Torre-Cisneros J. Use of carbapenems in the combined treatment of emerging ceftazidime/avibactam-resistant and carbapenem-susceptible KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: report of a case and review of the literature. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019 Nov 13. doi: 10.1016/j.jgar.2019.11.007.

Dra Julia Guzmán Puche

Hospital Virgen de la Victoria

Málaga