

# Screening fenotípico para detecção de mecanismos de resistência em isolados clínicos da família Enterobacteriaceae

Adriano Rostirolla Linhares<sup>1,2</sup>; Érica Santos Maciel<sup>1</sup>; Vanessa Bley Ribeiro<sup>1,2</sup>; Ana Lúcia Peixoto de Freitas<sup>1</sup>; Afonso Luís Barth<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia – UFRGS; <sup>2</sup>Serviço de Patologia Clínica – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

## INTRODUÇÃO

Os membros da família Enterobacteriaceae são importantes causadores de infecções comunitárias e hospitalares. Embora a produção de carbapenemases do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) seja o mecanismo de resistência aos carbapenêmicos mais emergente nessas bactérias, a diminuição de sensibilidade a estes antimicrobianos pode ocorrer devido a outros mecanismos, como a produção de enzimas  $\beta$ -lactamases de amplo espectro (ESBLs) e AmpC  $\beta$ -lactamases (AmpC), associados à diminuição da permeabilidade da célula à entrada de fármacos, e outros tipos de carbapenemases, como as metalo- $\beta$ -lactamases. A correta detecção e identificação dos mecanismos de resistência é essencial tanto na escolha adequada da terapia antimicrobiana quanto na tomada de medidas de controle de propagação, visto que muitos genes de resistência localizam-se em elementos genéticos móveis.

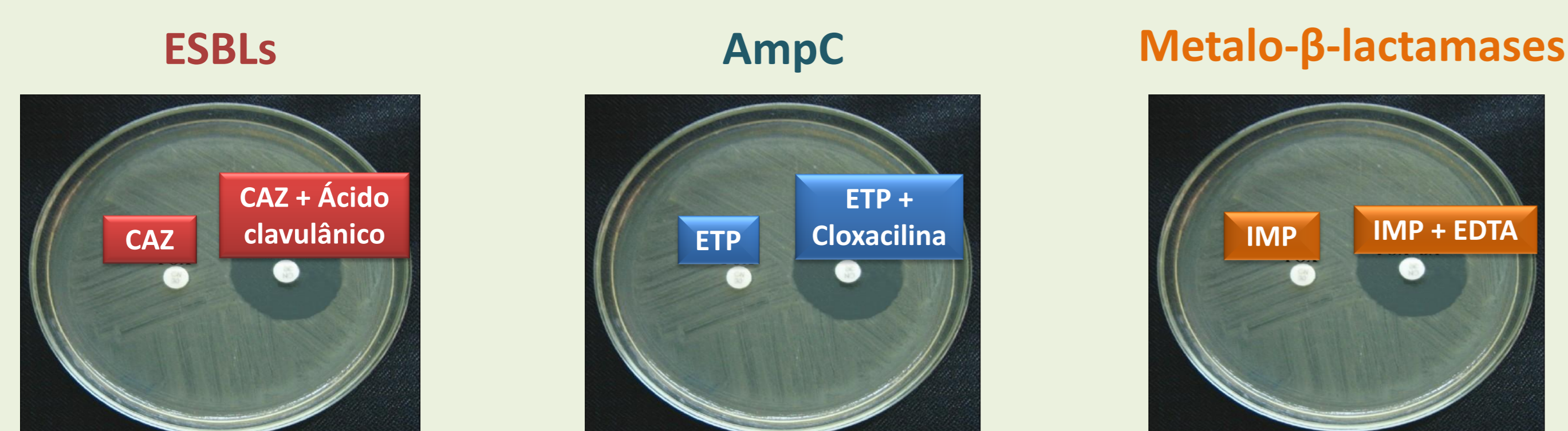
**Objetivo:** Pesquisar os mecanismos de resistência em enterobactérias não produtoras de KPC, com sensibilidade diminuída ao ertapenem

## MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras bacterianas: 165 isolados não produtores de KPC, apresentando resistência ou sensibilidade reduzida ao ertapenem, de dois hospitais de POA

### 1. Screening fenotípico (triagem)

Detecção de ESBLs, AmpC e metalo- $\beta$ -lactamases: discos de antimicrobianos combinados com inibidores enzimáticos específicos para cada enzima.



(resultados positivos quando diâmetro do halo de inibição ao redor do disco contendo inibidor for  $\geq$  5 mm em relação ao halo do disco sem inibidor)

### 2. PCR (Polimerase Chain Reaction)\* - Teste confirmatório (padrão ouro)

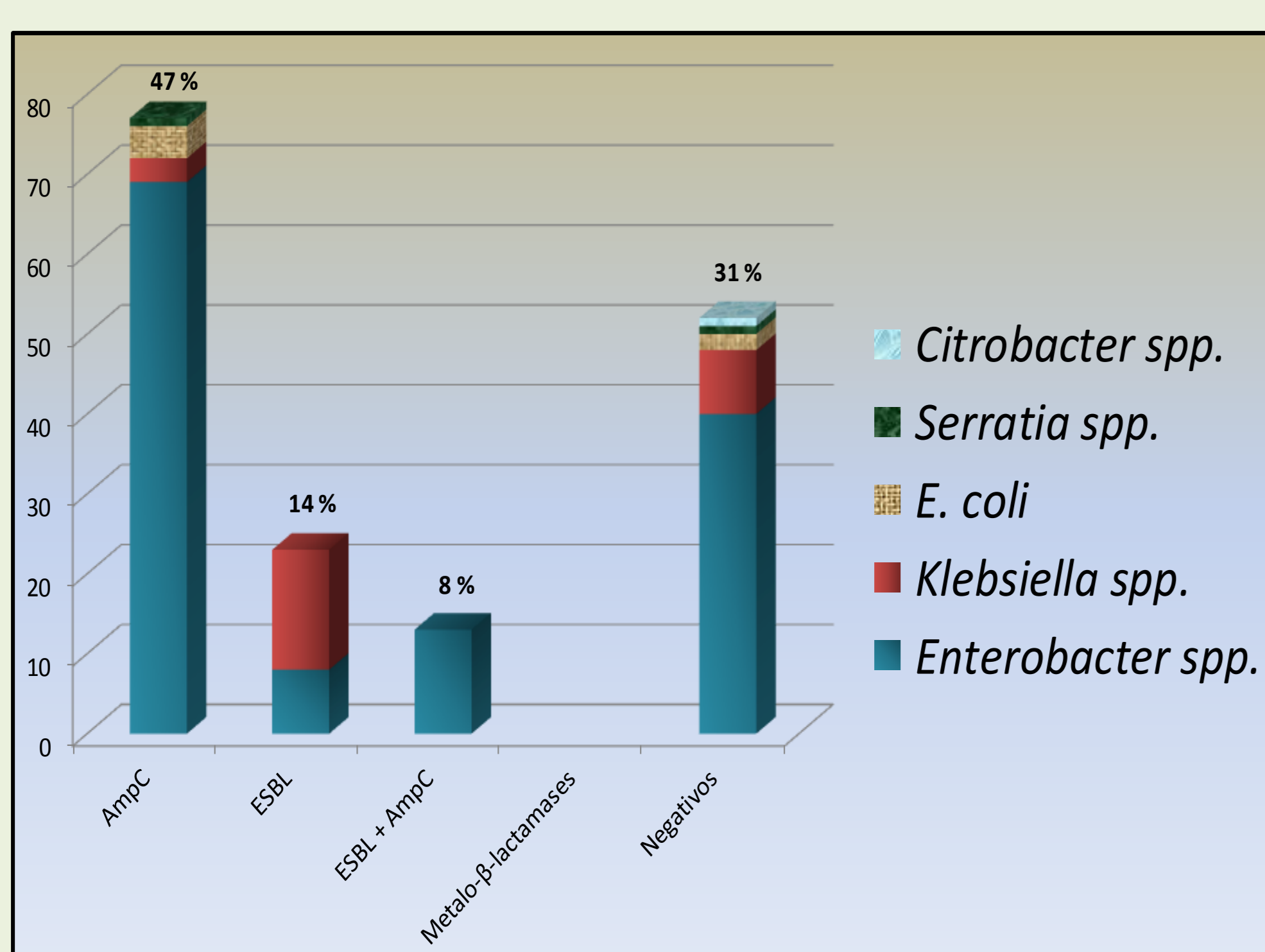
ESBLs (TEM, SHV e CTX-M)	Metallo- $\beta$ -lactamases (IMP, VIM, SPM e NDM)	OXA-48 e GES carbapenemases
-----------------------------	-------------------------------------------------------	--------------------------------

\* AmpC não foi confirmada por métodos genotípicos

### 3. Perfil de sensibilidade aos carbapenêmicos

O perfil de sensibilidade dos isolados foi avaliado a partir das **Concentrações Inibitórias Mínimas (MICs)** realizadas pelo método de microdiluição em caldo para os antibióticos imipenem, meropenem e ertapenem, sendo os resultados interpretados conforme os pontos de corte do CLSI (2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



**Figura 1.** Mecanismos de resistência encontrados nas enterobactérias estudadas.

- **A produção de AmpC foi o mecanismo predominante no screening fenotípico (Figura 1)**, justificada pela elevada prevalência (80 %) do gênero *Enterobacter* (presença intrínseca do gene AmpC cromossomal).
- **Baixa detecção fenotípica de ESBLs** – dos 135 isolados carreadores de um ou mais genes de ESBLs confirmados na PCR, 70 % não foram detectados no teste do ácido clavulânico. Possíveis causas:
  - **presença simultânea de ESBL e AmpC** (pode hidrolisar a cefalosporina utilizada no teste, gerando falsos negativos para ESBLs) – 79 % dos isolados positivos para AmpC confirmaram a presença de genes ESBLs;
  - **presença de ESBLs resistentes ao ácido clavulânico (ex.: variantes TEM)** - não são detectadas no *screening*;
  - **utilização de apenas um substrato (ceftazidima) no teste**
- **Todos os isolados foram negativos para metalo- $\beta$ -lactamases** no teste fenotípico e na PCR.
- **52 isolados (31 %) foram negativos no screening fenotípico** para os três mecanismos estudados (**Figura 1**), dos quais 48 confirmaram genes de ESBLs. Possíveis causas:
 

<input type="checkbox"/> Falsos negativos
<input type="checkbox"/> ESBLs resistentes ao ácido clavulânico
<input type="checkbox"/> Outros mecanismos (?)
- **90 % do total de isolados apresentou suscetibilidade a imipenem e/ou meropenem** através das MICs (resultados não mostrados) – somente 14 isolados resistentes/intermediários aos três carbapenêmicos

## CONCLUSÕES

- ✓ A produção de  $\beta$ -lactamases não carbapenemases (ESBL e AmpC), provavelmente associadas à diminuição da permeabilidade de membrana à entrada de fármacos, é o mecanismo de resistência predominante entre as enterobactérias não produtoras de KPC estudadas. Outros mecanismos devem ser avaliados naquelas que não apresentaram positividade nos testes realizados.
- ✓ Testes fenotípicos de *screening* são de fácil execução e apresentam custo relativamente baixo, sendo úteis para a escolha da terapia antimicrobiana adequada e para dados epidemiológicos dos mecanismos de resistência. Falsos negativos poderiam ser diminuídos através de testes que empreguem substratos mais sensíveis.
- ✓ Necessidade da inclusão de um método fenotípico alternativo capaz de detectar ESBLs quando há presença simultânea de AmpC.
- ✓ A grande maioria dos isolados apresentou perfil de suscetibilidade a imipenem e/ou meropenem nas MICs, demonstrando que os carbapenêmicos podem ser escolhidos como agentes terapêuticos contra a maioria dos isolados ertapenem-resistentes não produtores de KPC.