

## PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Vinícius V. Lorenzoni<sup>1\*</sup>, Danielly C. Silva<sup>1</sup>, Roberta F. Rampelotto<sup>1</sup>, Tacieli F. Rosa<sup>2</sup>, Fernanda A. Carvalho<sup>1</sup>, Mônica A. Rodrigues<sup>3</sup>, Rosmari Hörner<sup>4</sup>

1. Estudante de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do PPGCF/UFMS

2. Estudante de Farmácia/UFMS

3. Estudante de Doutorado em Ciências Farmacêuticas do PPGCF/UFMS

4. UFSM - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas / Orientador

### Resumo:

A disseminação de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) tornou-se preocupante na última década, elevando as taxas de mortalidade e morbidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana de setenta amostras de ERC isoladas em um hospital universitário do Rio Grande do Sul entre agosto a dezembro de 2015. Através de métodos fenotípicos e genotípicos, foi possível verificar a prevalência de *Klebsiella pneumoniae* (97,71%) produtora de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (80%). As cepas apresentaram alta resistência aos carbapenêmicos (>98%) e boa sensibilidade às polimixinas (>86%) e amicacina (98,57%). A análise do perfil de susceptibilidade é de suma importância na clínica, pois auxilia na escolha de uma terapia antimicrobiana adequada, reduzindo o uso indiscriminado de fármacos e o surgimento de bactérias multirresistentes.

**Autorização legal:** Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UFMS) número 38850614.4.0000.5346.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos; *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; Multirresistência.

**Apoio financeiro:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFSM.

### Introdução:

A resistência bacteriana tem sido uma ameaça global à saúde e seu desenvolvimento é acelerado pela pressão seletiva exercida pelo uso generalizado de antimicrobianos, bem como à variedade de genes de resistência (BASSET *et al.*, 2015).

Atualmente, a família *Enterobacteriaceae* está entre os principais patógenos envolvidos em infecções nosocomiais. Entre os distintos mecanismos de resistência já relatados, destaca-se a produção de enzimas beta-lactamases, especialmente as carbapenemases (exemplo, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase – KPC, metalo-beta-lactamases – MBL, oxacilinas – OXA) (PITOUT; NORDMANN; POIREL, 2015).

A propagação de carbapenemases levou à resistência aos carbapenêmicos, até então utilizados no tratamento de Gram-negativos multirresistentes, tornando-se necessário o uso de outros fármacos, como aminoglicosídeos e polimixinas (MORRIL *et al.*, 2015). Considerando este fato, torna-se necessário a detecção laboratorial dessas bactérias multirresistentes, bem como a avaliação do perfil de susceptibilidade frente aos antimicrobianos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de susceptibilidade de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, isolados de diversos materiais clínicos, de pacientes admitidos no Hospital Universitário de Santa Maria, entre agosto a dezembro de 2015.

### Metodologia:

Realizou-se um estudo retrospectivo de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos isoladas no período compreendido entre agosto a dezembro de 2015, cedidas pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria e mantidas no Laboratório de Bacteriologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Instituição.

Inicialmente, utilizou-se o sistema automatizado Vitek 2 (bioMérieux, França) para

promover a identificação bacteriana.

A confirmação da resistência aos carbapenêmicos foi realizada por métodos fenotípicos (difusão de disco com inibidores enzimáticos, Blue-Carba e Carba-NP) e moleculares (Reação em Cadeia da Polimerase – PCR). A difusão de disco baseou-se no uso de carbapenêmicos suplementados com ácido fenilborônico e etilenodiaminotetracético a fim de detectar a presença de enzimas KPC e MBL, respectivamente (ANVISA, 2013). As técnicas de Blue-Carba e Carba-NP basearam-se na hidrólise do anel beta-lactâmico pelas carbapenemases, utilizando indicadores azul de bromotimol e vermelho de fenol, respectivamente (PIRES *et al.*, 2016). Através da PCR, buscou-se detectar a presença dos genes *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>GES</sub> e *bla*<sub>NDM</sub>.

Posteriormente, analisou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo programa *Advanced Expert System*, incluso no Vitek 2, empregando os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2016) e *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUSCAST, 2016). Os antimicrobianos testados foram os carbapenêmicos (meropenem, ertapenem, imipenem), aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina), gliciliclinas (tigeciclina) e polimixinas B e (colistina). Paralelamente, foram avaliados a idade, gênero, unidade hospitalar e o material clínico onde ocorreram as infecções ou colonizações.

### Resultados e Discussão:

No período de estudo, 70 amostras foram isoladas, sendo *Klebsiella pneumoniae* o microrganismo prevalente (67; 95,71%), seguido de *Escherichia coli* (1; 1,43%), *Citrobacter freundii* (1; 1,43%) e *Enterobacter cloacae* (1; 1,43%). Através dos testes fenotípicos e moleculares, foi possível detectar a expressão de enzima KPC (gene *bla*<sub>KPC</sub>) em 80% das amostras.

O material clínico em que ocorreu maior isolamento foi *swab* retal (32; 45,71%), seguido de urina (21; 30%), escarro (3; 4,29%), fezes (3; 4,29%), sangue (2; 2,86%), entre outros (9; 12,85%). Em relação ao gênero, houve o predomínio do sexo masculino (50; 71,43%), com faixa etária superior aos 60 anos (37; 52,86%), 21 a 59 anos (29; 41,43%) e zero a 20 anos (4; 5,71%). A Unidade de Terapia Intensiva (19; 27,14%) foi a unidade hospitalar que demonstrou os maiores índices de isolamento, seguida do 3º andar (18; 25,71%), 5º andar (8; 11,43%), Pronto Atendimento (8; 11,43%), Ambulatório (6; 8,57%), Nefrologia (3; 4,29%), Centro de Tratamento da Criança e do Adolescente com Câncer (3; 4,29%), Unidade

Cardioativa Intensiva (2; 2,86%), 2º andar (1; 1,43%), Psiquiátrico (1; 1,43%) e Bloco Cirúrgico (1; 1,43%). O 2º, 3º e 5º andar compreendiam unidades de Sistema Respiratório, Materno-infantil e Atenção à Saúde da Mulher. Em relação ao perfil de susceptibilidade, os microrganismos apresentaram elevada resistência ao ertapenem (100%), meropenem (98,57%), imipenem (98,15%), tigeciclina (75%) e gentamicina (64,29%). Contudo, foram sensíveis à colistina (89,09%), amicacina (98,57%) e polimixina B (86,96%).

Em um estudo realizado por Arend *et al.* (2014) em Curitiba/PR, também foi possível verificar o predomínio de *K. pneumoniae* (85,5%) produtora de KPC (94,29%), isolada principalmente em *swab* retal (35,46%). Hayder *et al.* (2012) descreveu em seu trabalho um padrão de susceptibilidade similar ao nosso estudo, onde *K. pneumoniae* foi 100% resistente aos carbapenêmicos e 93,5% à gentamicina, mas 100% sensível à colistina. No presente trabalho, 6 cepas de *K. pneumoniae* apresentaram resistência às polimixinas. Este perfil de resistência aumentou nos últimos meses, devido ao uso indiscriminado de colistina na medicina veterinária e a rápida transmissão de genes de resistência entre distintas espécies, como *mcr-1* mediado por plasmídeos, fazendo-se necessária a adoção de medidas de controle de infecção hospitalar e pesquisas laboratoriais a fim de reduzir a disseminação de bactérias multirresistentes e evitar a perda da atividade destes antimicrobianos (ANVISA, 2016; Fernandes *et al.*, 2016).

### Conclusões:

*Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC foi a enterobactéria mais isolada, sendo *swab* retal o material clínico prevalente. A sensibilidade às polimixinas e amicacina demonstrou que estes antimicrobianos apresentaram boa atividade frente a estes microrganismos. No entanto, o padrão de resistência encontrado neste nosocômio no período de estudo é preocupante, uma vez que as opções terapêuticas são limitadas.

### Referências bibliográficas

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comunicado de risco nº 01/2016 – GVISMGGTES/ANVISA: Detecção do gene responsável pela resistência à polimixina mediada por plasmídeos (*mcr-1*) no Brasil. Brasília: ANVISA, 2016.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº 1/2013 – Medidas de prevenção e

controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília: ANVISA, 2013.

AREND, L. N. et al. Phenotypic and molecular characterization of 942 carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) in southern Brazil. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v.21, p.316-318, 2014.

BASSETTI, M. et al. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. *Intensive Care Medicine*, v.41, p.776-795, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S26. Wayne, PA: CLSI; 2016.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. V.6.0, 2016.

FERNANDES, M. R. et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. *Euro Surveillance*, v.21, pii=30214, 2016.

HAYDER, N. et al. Determination of the frequency of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Dhaka city, Bangladesh. *Stamford Journal of Microbiology*, v. 2, n. 1, p. 28–30, 2012.

MORRIL, H. J. et al. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infectious Diseases*, v.2, ofv050, 2015.

PIRES, J. et al. Comparison of the in-house made Carba-NP and BlueCarba tests Considerations for better detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Microbiological Methods*, v.122, p.33-37, 2016.

PITOUT, J. D.; NORDMANN, P.; POIREL, L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.59, p.5873-5884, 2015.