Objetivo: Realizar a caracterização fenotípica e genotípica de um isolado clínico de K. pneumoniae produtor de NDM e KPC de um hospital localizado na Amazônia Brasileira.

Métodos: A amostra de K. pneumoniae foi isolada em 2021 do swab retal de um paciente pediátrico em um hospital público na cidade de Belém, Pará. O isolado foi encaminhado a partir da identificação realizada pelo LACEN-PA para o Instituto Evandro Chagas. Realizou-se a microdiluição em ágar para determinar a Concentração Inibitória Mínima e o Sequenciamento de Genoma Total pelo Termo Fischer Ion GenStudio TM S5 Plus. As análises de bioinformática foram feitas com Sickle, SPAdes, Gap2Seq, Scaffolder, Medusa e Prokka. A análise funcional foi realizada utilizando o PlasmidFinder, CARD, Resfinder, PHASTER, Pathogen Watch e VFDB.

Resultados: O isolado apresentou resistência a todas as 12 drogas testadas, e resistência intermediária a tetraciclina. O genoma montado apresentou 5.7 MB, 5.605 regiões codificantes, quatro profagos intactos e seis plasmídeos. O Multi Locus Sequence Type tipado foi o Sequence Type (ST) 11, que faz parte do CC258, que é de alto risco de disseminação. Para os resultados de virulência, foram preditos genes das fímbrias do tipo 1 e 3, do sideróforo yersiniabactin e do SST6 subtipos 1 e 3. O tipo capsular foi considerado desconhecido e o antígeno O foi o O1/O2v2. Além das carbapenemases NDM-7 e KPC-2, foram encontradas as ESBL CTX-M-15, SHV-182, TEM-1, OXA-1 e 9 e outros genes de resistência.

Conclusão: A presença de carbapenemases em elementos genéticos móveis é um alerta para a saúde pública como um todo, principalmente quando encontrada em K. pneumoniae de um ST de alto risco de disseminação e com mecanismos de resistência concentrados em seu aparato genético. A vigilância sanitária em saúde pública é essencial para realizar o rastreio desses patógenos e com auxílio de ferramentas genômicas pode tornar-se fundamental no combate a difusão de superbactérias em ambientes hospitalares.

Palavras-chave: Klebsiella pneumoniae NDM KPC Resistência Antimicrobiana IRAS

https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102814

ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE CÓPIAS NA EXPRESSÃO DO GENE BLAKPC EM ISOLADOS CLÍNICOS DE MORGANELLA MORGANII E PROVIDENCIA STUARTII

Michelly Maria Pereira e Oliveira[a,*], Crisvania Pedrosados Santos Nascimento[a], Paula Mariana Salgueiro de Souza[a], Márcia Maria Camargo de Morais[a], Anna Carolina Soares Almeida[b]

[a] *Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil;*
[b] *Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil*

Introdução/Objetivo: Organismos produtores de Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) são desafiadores em termos terapêuticos e diagnósticos, pois comumente apresentam resistência a todos os beta-lactâmicos. Além disso, esse determinante possui rápida disseminação pela localização do gene blaKPC em plasmídeos transferíveis e transposons. Por esta razão, estudos sugerem que o gene blaKPC pode apresentar diferentes níveis de expressão, bem como variação no número de cópias, influenciando diretamente nos níveis de resistência aos carbapenêmicos. Um fenótipo atípico de susceptibilidade aos carbapenêmicos apresentado por isolados da tribo Proteeae que abrigavam o gene blaKPC motivou este trabalho, que analisou a influência do número de cópias na expressão do gene blaKPC.

Métodos: O DNA genômico dos isolados bacterianos foi extraído a partir do kit Wizard™ Genomic DNA Purification. Os genes utilizados como controles endógenos foram selecionados a partir da literatura. Os primers foram desenhados para ambas as espécies bacterianas e posteriormente analisados in sílico. A quantificação absoluta, foi baseada na proporção relativa entre gene alvo e controle endógeno (2-DCq), utilizando equipamento StepOneTM (Applied Biosystems) e o fluoróforo SYBR® Green. Os experimentos de quantificação absoluta foram realizados com o gene alvo, blaKPC, e com os genes de controle endógenos (tufMm, tufPs, tufKp e HKEc).

Resultados: As amplificações do gene blaKPC ocorreram no mesmo ciclo de quantificação ou com diferença ≤2 nos isolados analisados, tanto nos isolados clínicos (Mm01 = 13,027; Ps28 = 13,687; Kp125 = 14,74), quanto nos respectivos isolados transformantes (TMm01 = 14,584; TPs28 = 15,807; TF125 = 14,135). As amplificações dos genes controles endógenos se mostraram estáveis e eles foram utilizados para normalizar os dados. A quantificação absoluta relativa do gene blaKPC foi menor ou igual a 2 em todos as linhagens analisadas, indicando que não há diferença significativa no número de cópias entre eles.

Conclusão: Apesar dos distintos perfis fenotípicos observados, os dados de quantificação absoluta demonstraram que o número de cópias do gene blaKPC para os isolados transformantes e para os isolados clínicos não variam significativamente, portanto algum mecanismo a nível de regulação transcricional deve estar atuando na expressão do gene blaKPC, influenciando diretamente os níveis de resistência.

Palavras-chave: blaKPC Genes de resistência Número de cópias Enterobacterias

https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102815

ANÁLISE IN SILICO DA DISTRIBUIÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA À ANTIMICROBIANOS E BIOCIDAS EM CENTENAS DE ISOLADOS CLÍNICOS E NÃO-CLÍNICOS PSEUDOMONAS

João Pedro Vasques da Conceição*, Fabio Faria da Mota

Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas (LBCS), Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: Pseudomonas é um gênero de bactérias Gram negativas com mais de 300 espécies que colonizam diversos ambientes. Entre estas, a espécie P. aeruginosa é a de maior relevância na clínica médica, especialmente em infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), sendo responsável por mais de 559 mil óbitos no ano de 2019 (Antimicrobial