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

Resistance Collaborators, 2022). Infecções persistentes e recorrentes por esta bactéria ocorrem principalmente em pacientes com fibrose cística, imunocomprometidos, ou sob ventilação mecânica e antibioticoterapia. A existência de cepas multirresistentes à diferentes classes de antibióticos, como aminoglicosídeos, quinolonas e até mesmo cepas resistentes a carbapenens dificulta o tratamento. A persistência nos hospitais é agravada devido a presença de genes que lhe conferem também resistência aos biocidas utilizados na desinfecção destes ambientes.

Objetivos: Avaliar a distribuição, em isolados clínicos e não-clínicos, de genes de resistência aos antimicrobianos e biocidas em Pseudomonas.

Métodos: Dados ômicos de mais de 800 Pseudomonas spp. separadas em isolados clínicos (36%) e não clínicos (64%), foram consultados nas bases de dados RefSeq e BioSample do NCBI. Para a análise de resistência à antimicrobianos foi utilizada a base de dados ResFinder, enquanto para a análise de resistência à biocidas foi utilizada a base de dados BacMet e BLAST.

Resultados: Foram encontrados quase cem genes distintos que conferem resistência à diferentes classes de antibacterianos: beta-lactâmicos (48.4%), aminoglicosídeos (27.2%), trimetoprima (11.1%), macrolídeos (4.4%), fosfomicina (3.3%), fenicol (3.3%) e sulfonamida (2.2%). Entre estes, 4 foram fortemente correlacionados à clínica, sendo identificados em mais de 80% dos isolados clínicos e em menos de 10% dos isolados não-clínicos. Outros 70 genes foram encontrados apenas em isolados clínicos, porém com baixa prevalência, 4 isolados ou menos. Em relação aos biocidas, foram encontrados cerca de 50 genes que conferem resistência principalmente à triclosan, cloreto de benzalcônio e dodecil sulfato de sódio. Entre estes genes de resistência aos biocidas, 16 foram fortemente correlacionados à clínica, sendo encontrados em mais de 80% dos isolados clínicos e em menos de 10% dos isolados não-clínicos.

Conclusões: Foram identificados 4 genes de resistência à antibióticos com alta relevância clínica e 16 genes de resistência aos principais biocidas utilizados na desinfecção hospital

Palavras-chave: Pseudomonas Antimicrobianos Biocidas Resistência

https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102816

ATIVIDADE IN VITRO DE NOVOS ANTIMICROBIANOS/COMBINAÇÕES CONTRA ISOLADOS CLÍNICOS DE KLEBSIELLA E PSEUDOMONAS RESISTENTES AOS CARBAPENÈMICOS

Carlos Henrique Camargo[a,*], Amanda Yaeko Yamada[a], Andreia Rodrigues de Souza[a], Pedro Smith Pereira Ferraro[a], Daniel de Sena Miranda[a], Maristela Pinheiro Freire[b], Monique Ribeiro Tiba-Casas[a]

[a] *Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil;*
[b] *Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil*

Introdução/Objetivo: Infecções por bactérias resistentes aos antimicrobianos são difíceis de tratar e podem resultar em pior prognóstico ao paciente. Neste estudo, avaliamos a atividade in vitro de novos antimicrobianos/concentrações contra isolados clínicos de Klebsiella e Pseudomonas resistentes aos carbapenêmicos.

Métodos: Foram incluídos neste estudo 149 isolados clínicos (57 P. aeruginosa e 92 K. pneumoniae KPC+), de pacientes não repetidos, atendidos em 57 diferentes hospitais de 21 municípios brasileiros. Isolados produtores de metalo-carbapenemases foram excluídos. Todos os isolados foram caracterizados como imipenem-resistente (disco-difusão ou método dilucional). Estes isolados foram testados contra meropenem-vaborbactam (MV), cefiderocol (FDC), ceftazidime-avibactam (CZA), imipenem-relebactam (IR), plazomicina (PLZ), cefoperazone-sulbactam (CPS), eravaciclina (ERV), e ceftolozane-tazobactam (CT) (por fitas de gradiente de concentração), e colistina e polimixina B (por microdiluição em caldo).

Resultados: Os antimicrobianos mais ativos contra K. pneumoniae foram CZA (96,7% de sensibilidade), MV (94,6%) e FDC (93,5%); colistina e polimixina B foram ativas contra 56,5% dos isolados de K. pneumoniae. Para P. aeruginosa, o antimicrobiano mais ativo foi FDC (100% de sensibilidade), seguido por CT (87,7) e CZA (84,2%); 5,3% e 3,5% dos isolados foram resistentes à colistina e polimixina, respectivamente.

Conclusão: Altas taxas de sensibilidade foram detectadas para antimicrobianos com uso restrito no país, indicando a necessidade de contínuo monitoramento e fortalecimento de políticas de controle de seu uso. Com isso, espera-se preservar a atividade destes fármacos contra patógenos resistentes causadores de infecções, principalmente no ambiente hospitalar.

Apoio: CNPq, FAPESP, FESIMA.

Palavras-chave: avibactam resistência microdiluição cefiderocol

https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102817

ATUAÇÃO DO FARMACÊUTICO CLÍNICO NO PROGRAMA DE STEWARDSHIP – CATEGORIZAÇÃO DE INTERVENÇÕES FARMACÊUTICAS EM PRESCRIÇÕES DE ANTIMICROBIANOS

Amanda Fouto Neves[a,*], Caio Henrique Bonaldo De Oliveira[b], Danilo Rodrigues Goncalves[b], Flávia Serafim de Oliveira Sudo[b], Karoline Tonon Francisconi[b], Luciana Razaboni Angelo[b], Susy Tiemi Dos Santos Karimata[b], Karine Maria Boll[c], Camilo Molino Guidoni[c], Marcia Cristina de Godoy Pelozo[b]

[a] *Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil;*
[b] *Hospital Evangélico de Londrina, Londrina, PR, Brasil;*
[c] *Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil*