



CARBAPENEMASES: EPIDEMIOLOGIA E DETECÇÃO LABORATORIAL

Gabriela Jorge da Silva

**Centro de Estudos Farmacêuticos e Faculdade de Farmácia
da Universidade de Coimbra**

20º Encontro Científico APAC 2011, 1 e 2 de Abril, Luso

O QUE SÃO CARBAPENEMASES?

- Beta-lactamases que actuam sobre os carbapenemos (imipenemo, meropenemo, doripenemo, ertapenemo)
- Contudo:
 - ✓ Podem não hidrolisar todos os carbapenemos com a mesma eficiência (diferentes níveis de susceptibilidade, traduzidos por CMIs diversas)
 - ✓ Podem não dar resistência (definida por breakpoints de clínica), mas sim se actuarem em sinergismo com outros mecanismos de resistência (efluxo e diminuição da permeabilidade)

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENEMOS

Enterobactérias	Cefalosporinases + Perda de porinas
	Carbapenemases
<i>P. aeruginosa</i> <i>A. baumannii</i>	Bombas de efluxo
	Cefalosporinases AmpC + Perda de porinas
	Carbapenemases

PRODUÇÃO DE CARBAPENEMASES

PROBLEMA EMERGENTE GLOBAL

- Apareceram no início dos anos 90 em bacilos Gram negativo não fermentadores

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter baumannii

(metalo- β -lactamases)

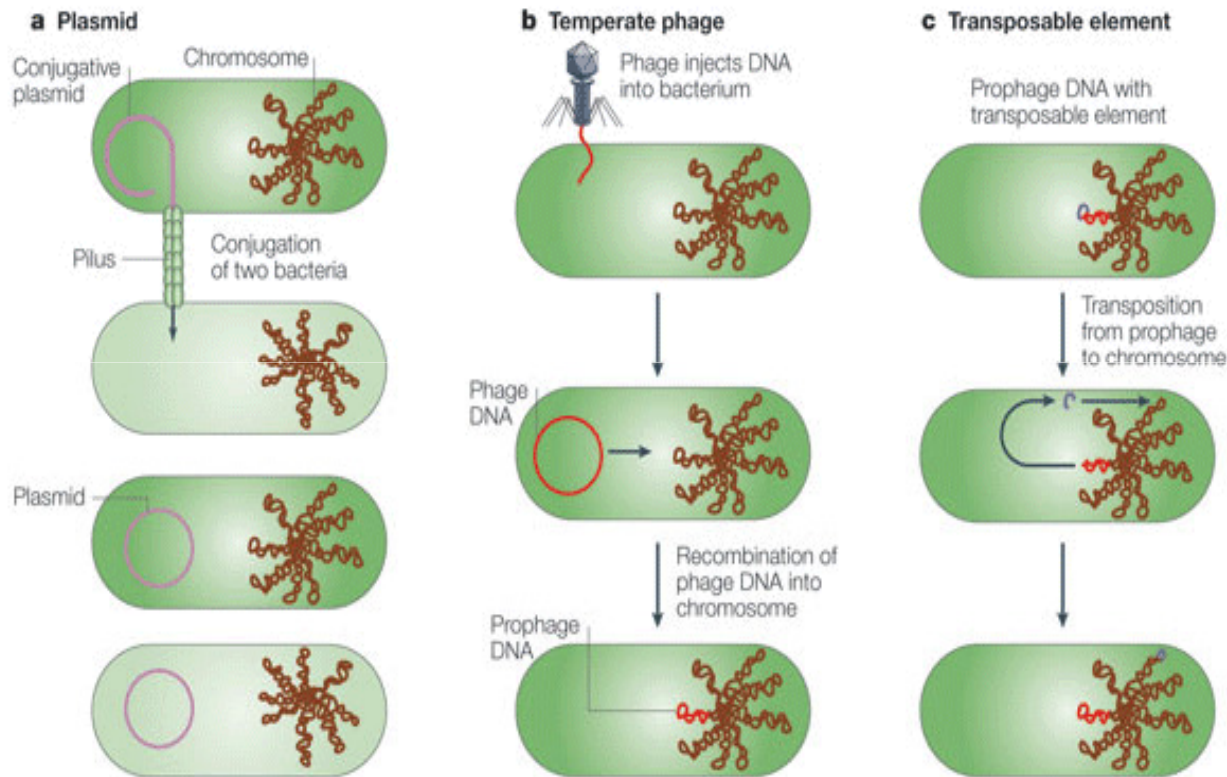
- Redução nas alternativas terapêuticas

- Recentemente começam a ser detectadas em Enterobactérias, em especial em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*

(metalo- β -lactamases)

(serina- β -lactamases)

- Geralmente, os genes que codificam as carbapenemases localizam-se em **elementos genéticos móveis**



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

Disseminação entre estirpes e espécies

- Plasmídeos (conjugação)
- Transposons
- Integções

CLASSIFICAÇÃO DAS CARBAPENEMASES

CLASSIFICAÇÃO DE AMBLER: DE ACORDO COM A SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

Serina- β -lactamases

○ Classe A

NMC-A, IMI, SME, GES, **KPC**
(entre outras)

○ Classe D

Oxacilinas

Principais grupos

- **OXA-23**
- OXA-24 (inclui a **OXA-40**)
- OXA-58
- OXA-48

Metallo- β -lactamases

○ Classe B

MBLs- Com iões zinco no local activo

- IMP
- **VIM**
- SPM
- **NDM**

(entre outras)

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE CONFERIDO

Serina- β -lactamases

- Geralmente, β -lactamases com baixa eficiência hidrolítica relativamente às MBLs
- Pode não haver resistência clínica. Geralmente, associados a outros mecanismos de resistência
- Susceptibilidade variável aos inibidores de β -lactamases

Metalo- β -lactamases

- O maior problema em terapêutica
- MBLs podem hidrolisar TODOS os antibióticos β -lactâmicos , excepto aztreonam
- Resistentes aos inibidores de β -lactamases (ác. clavulânico, sulbactam, tazobactam)

DISTRIBUIÇÃO EM FUNÇÃO DO MICRORGANISMO

Microrganismo	Classe A	Classe D	Classe B MBLs
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	++	++	+++
<i>Escherichia coli</i>	+/-	+	+/-
Outras Enterobactérias	+/-		+/- a +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+++
<i>Acinetobacter baumannii</i>		+++	+

- +++ Elevada prevalência (> 10%)
- ++ Moderada prevalência (1 - 10%)
- + Baixa prevalência
- +/- Casos isolados

K. pneumoniae: VIM 1/ 4, na Grécia; NDM-1 na Índia

A. baumannii: OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-143

Disseminação clonal

Enterobactérias: OXA-48 Disseminação por plasmídeos

A MAIORIA DOS PRODUTORES DE CARBAPENEMASES SÃO MULTIRRESISTENTES

Beta-lactâmicos

- Resistência a todos os β -lactâmicos é comum.
- Aztreonam é estável para as MBLs, mas muitas estirpes produzem AmpC ou ESBLs. Não é estável para não-MBLs incluindo a OXA-48 e KPC
- CAZ, CTX e AZT activos contra Enterobactérias excepto se produzirem AmpC ou ESBLs.
- Não há inibidores activos de carbapenemases

Aminoglicosídeos e fluoroquinolonas

- Estirpes com NDM-1 têm uma 16rRNA metilase, que confere resistência a todos Ag
- Estirpes com outras carbapenemases: resistência variável aos Ag e FQ.

Colistina, tigeciclina e fosfomicina com actividade *in vitro*. Dosagem varia com o doente e local de infecção

DISSEMINAÇÃO DE CARBAPENEMASES MAIS COMUNS

Tipo de enzima	Distribuição geográfica	Epidemiologia molecular
NDM (Nova Deli MBL)	Disseminada em Enterobactérias (<i>E. coli</i> e <i>K. pneumoniae</i>). Índia, Paquistão, Reino Unido (casos importados)	Disseminação por plasmídeos entre estirpes e espécies
VIM	Distribuição global. Endêmica na Grécia, sobretudo em <i>K. pneumoniae</i> .	Disseminação por plasmídeos
IMP	Distribuição global	Maioritariamente por disseminação por plasmídeos
KPC (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	USA desde 1999. Prevalente em Israel e Grécia. Vários surtos na Europa.	Plasmídeos em <i>K. pneumoniae</i> , por vezes a outras Enterobactérias. Disseminação clonal.
OXA-48	Disseminada em <i>K. pneumoniae</i> na Turquia, Médio Oriente e Norte de África	Plasmídeos e disseminação clonal

EPIDEMIOLOGIA DE MBLs EM PORTUGAL

CASOS ISOLADOS

	Microrganismo	Local e data	Referência
IMP-5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Hospitais da Universidade de Coimbra, 1998	Da Silva, GJ et al., FEMS Microb. Let. 2002
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hospital de Setúbal, Sta Maria e D ^a Estefânia, Lisboa, 2001, 2002, 2003	Brizio, A et al., Intern. J. Antimicrob. Agents 2006
VIM-2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hospital, 1995 Ambulatório 1998	Cardoso O et al., Microb Drug Resist. 2002
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Hospital Pediátrico D ^a Estefânia, Lisboa	Conceição T et al, Antimicrob Agents Chemother. 2005
	<i>Morganella morgannii</i>	Hospitais da Universidade de Coimbra, 2004	Da Silva GJ et al., Clin. Microbiol. Infect. 2008

EPIDEMIOLOGIA DE CARBAPENEMASES DE CLASSE D EM PORTUGAL

	Microrganismo	Disseminação por Clones	Referência
OXA-40	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Sub-grupo do Clone Europeu II Clone Ibérico ST-98	Da Silva GJ et al. J Antimicrob Chemother. 2004 Da Silva GJ et al. J Antimicrob Chemother. 2010
	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		Quinteira S et al. Antimicrob Agents Chemother. 2007
OXA-58	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ND, Hospital St Ant ^a dos Capuchos, Lisboa ST-103	Caneiras C. et al., Clin. Microbiol. Infect. 2008 Grosso F et al. Clin Microbiol Infect. 2011
OXA-23	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ST-92 ND, Hospital de Évora (2 isolados)	Grosso F et al. Clin Microbiol Infect. 2011 Da Silva GJ et al., em submissão

EPIDEMIOLOGIA DE CARBAPENEMASES DE CLASSE A EM PORTUGAL

- *K. pneumoniae* **KPC-3**, Hospital de Sta Maria, doente com leucemia
- Estirpe portuguesa, não detectada noutros locais do mundo (ST 11)
- CMIs imipenemo, aztreonamo e cefalosporinas de largo espectro: > 32 mg/L
- Localizada num plasmídeo

Machado P. et al. Clin. Microb. Inf. 2010

DETECÇÃO LABORATORIAL DE CARBAPENEMASES

14

O ANTIBIOGRAMA: PRIMEIRAS INDICAÇÕES

- CMIs elevadas para os carbapenemos e cefalosporinas de largo espectro- **Metallo- β -lactamase?**

NOTA:

P. aeruginosa: ausência de OprD

A. baumannii: sinergia entre as OXA e outros mecanismos de resistência

- **Enterobactérias**: reduzida susceptibilidade ao imipenemo (o isolado pode até ser classificado como susceptível).

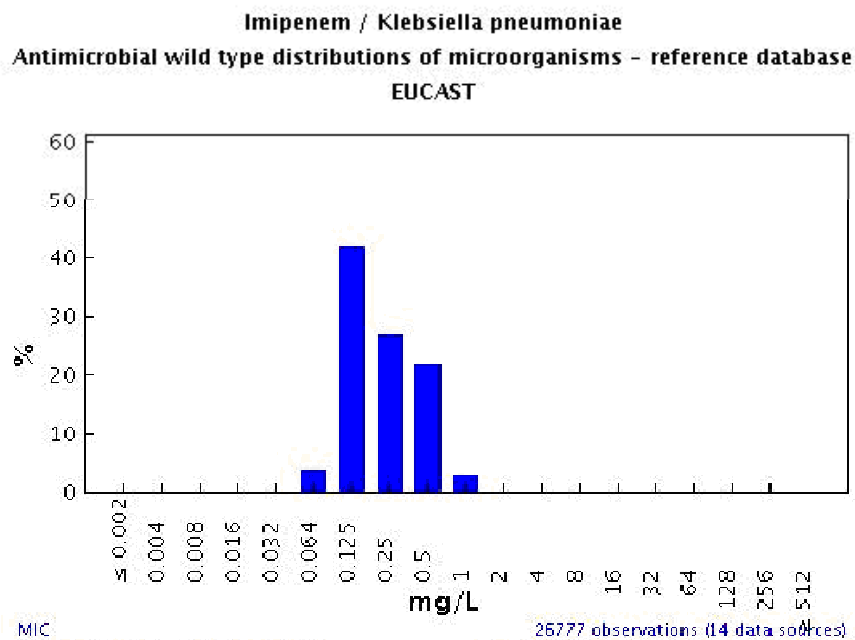
NOTA:

Enterobacter sp.: Resistência a cefalosporinas e reduzida susceptibilidade ao ertapenemo- **AmpC + impermeabilidade**

KLEBSIELLA PENUMONIAE PRODUTORA DE KPC

EXEMPLO

Agent	MIC (mcg/mL)	Interpretation
Amikacin	>32	R
Ampicillin	>32	R
Cefazolin	>32	R
Ceftazidime	>32	R
Ceftriaxone	>32	R
Cefepime	>32	R
Ciprofloxacin	>4	R
Gentamicin	4	S
Imipenem	4	S
Meropenem	4	S
Piperacillin-Tazobactam	>128/4	R
Tobramycin	>16	R
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	>4/76	R



Gabriela Jorge da Silva, CEF / FPUCC

DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES

○ MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO e CMI_s (Teste de screening inicial)

19-21 mm ERT
16-21 mm MER

2 mg/ L ERT
2-4 mg/L MER e IMP

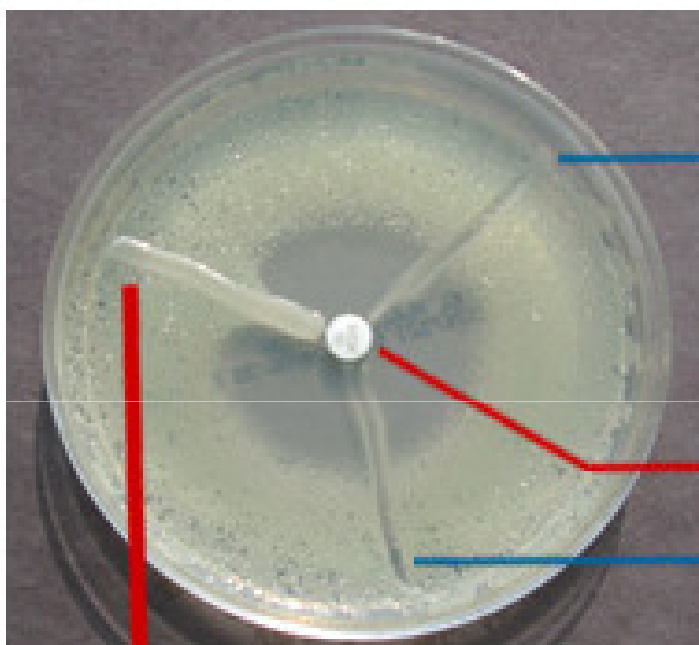
CLSI M100-S20, 2010

○ TESTES COMERCIAIS

- ✓ Detecção de KPC pelo Vitek II (BioMérieux):
65% e 48% de KPCs reportadas como susceptíveis ao imipenemo e meropenemo, respectivamente.
- ✓ Ertapenemo, maior especificidade
Usar uma carta Vitek II GN-20 com ertapenemo

TESTES FENOTÍPICOS

1. TESTE DE HODGE



K. pneumoniae
Negative Control
MicroBioLogics® # 01006
ATCC® BAA-1706™*

Meropenem Disk

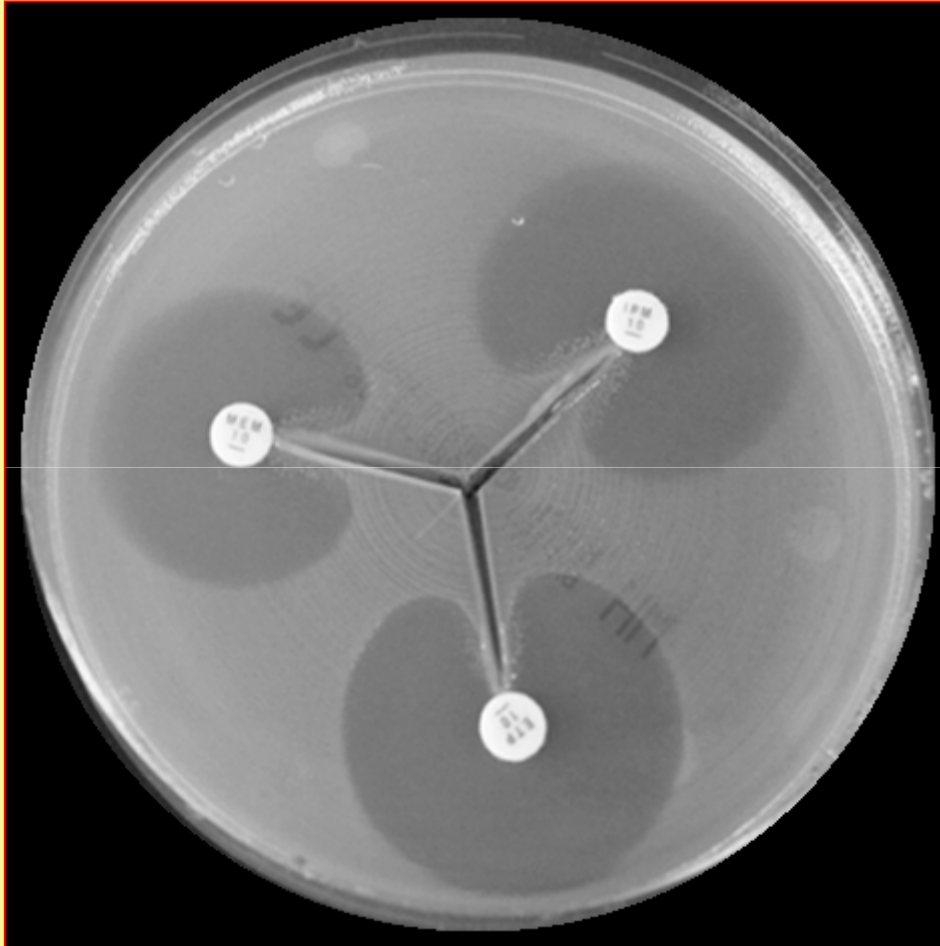
Negative Test Isolate

K. pneumoniae
Positive Control

MicroBioLogics® # 01005 ATCC® BAA-1705™*

MHT Using MicroBioLogics Quality Control Microorganisms

Teste de Hodge



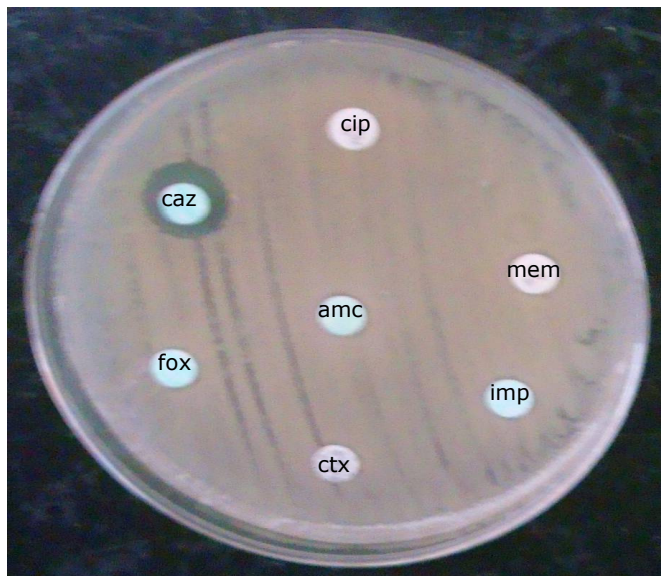
TESTE DE HODGE COM TRÊS CARBAPENEMOS

- Semear com *E. coli* ATCC 25922 ou NCTC 10418 como para método de difusão em disco
- Semear as estirpe teste em estria
- Discos de IMP, MER e ERT de 10 µg
- Incubar 35°, 18-24h

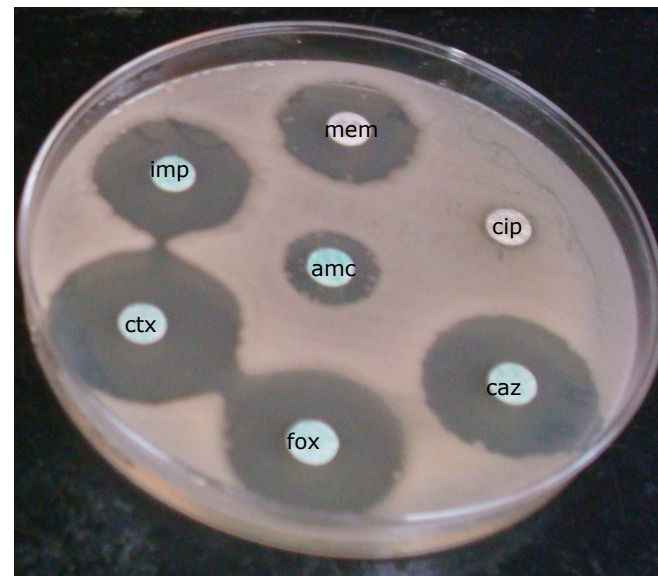
Gabriela Jorge da Silva, CEF / FPUUC

KPC INIBIDAS PELO ÁCIDO BORÓNICO

Antibiograma

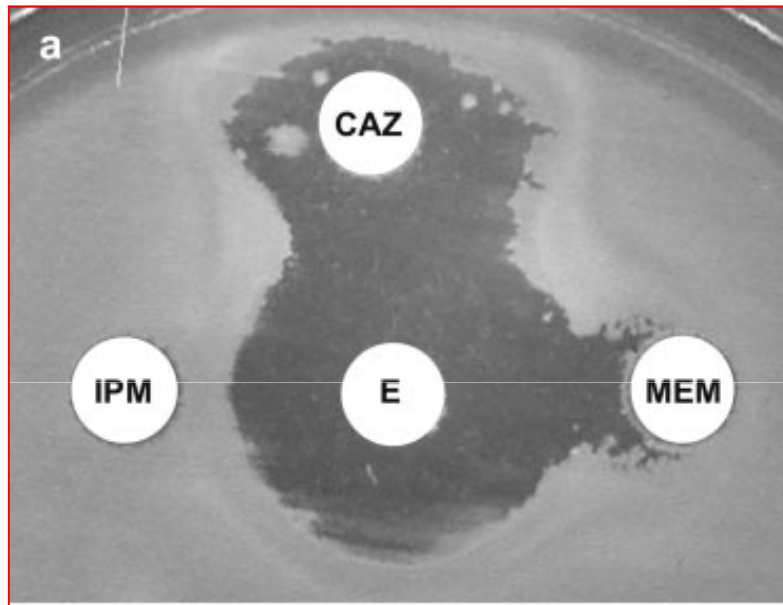


Com ácido borónico



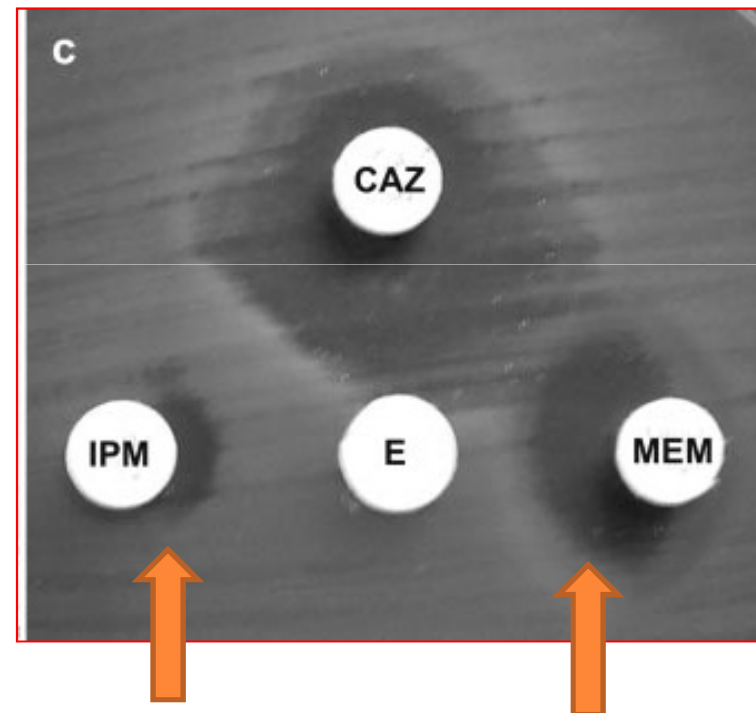
K. pneumoniae 2564FF produtora de KPC-3
Zonas de inibição de crescimento bacteriano aumentadas para o impenemo, aztreonam e cefalosporinas em presença do ácido borónico (> 5mm)

MBLS SÃO INIBIDAS PELO EDTA



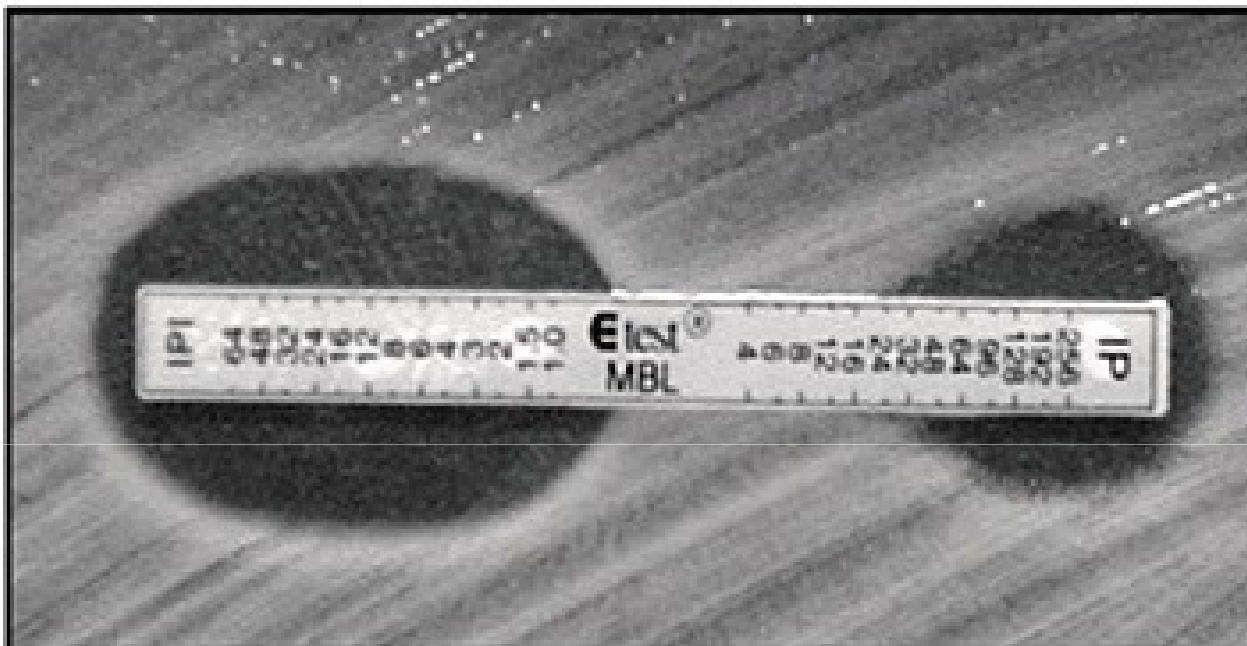
O uso apenas de IMP pode não detectar a carbapenemase, como mostrado para esta estirpe de *P. fluorescens* produtora de VIM-2

10 μ l of 0.1 M EDTA



Gabriela Jorge da Silva, CEF / FFCUC

E-TESTE PARA PESQUISA DE MBLs



Amostra clínica apresentando teste fenotípico positivo para a produção de MBL por meio da metodologia de Etest®. A CIM observada pela amostra-teste na extremidade da fita contendo somente imipenem (IP) é de 48 µg/ml, ao passo que, na outra extremidade, a amostra testada demonstrou uma CIM ≤ 1 µg/ml contra imipenem associado ao EDTA. Uma diferença na CIM superior a três diluições.

É IMPORTANTE IDENTIFICAR CARBAPENEMASES?

Conhecer : **O microorganismo (espécie e estirpe)**
Tipo de carbapenemase
na instituição ou zona geográfica



- Terapêutica empírica inicial
Escolha dos antibióticos mais apropriados
- Determinar as CMIs em Enterobactérias produtoras de carbapenemases e não classificar em R ou S
- Controlo da disseminação da estirpe
 - ✓ A nível institucional (Comissão de Controlo de Infecção Hospitalar)
 - ✓ A nível geográfico (Direcção Geral de Saúde)

CONFIRMAÇÃO DA PRESENÇA DE CARBAPENEMASES

- Medição espectrofotométrica da hidrólise do carbapenemo
- PCR com primers específicos para cada enzima ou grupo de enzimas
- Sequenciação
- Estudo do contexto genético (disseminação)

NÃO APLICÁVEL À ROTINA LABORATORIAL

gjsilva@ci.uc.pt



OBRIGADA!



Gabriela Jorge da Silva, CEF/ FFUC