

## ***Enterobacter* spp. RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS ISOLADOS NO HOSPITAL MUNICIPAL DE MARINGÁ, PARANÁ/BRASIL**

Mateus Eduardo Herpich (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Clariana Akemi Kariya Leite (CCS/DAB/UEM), Paula Assis Queiroz (CCS/DAB/UEM), Rubia Andreia Falleiros de Pádua (CCS/DAB/UEM), Regiane Bertin de Lima Scodro (CCS/DAB/UEM), Claudia Terencio Agostinho Pires (CCS/DAB/UEM) e Vera Lucia Dias Siqueira (Orientadora), e-mail: [vldsiqueira@gmail.com](mailto:vldsiqueira@gmail.com)

Universidade Estadual de Maringá /Centro de Ciências da Saúde/Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina/Maringá, PR.

**Área: Ciências Biológicas - 2.00.00.00-6**

**Subárea: Microbiologia Médica - 2.12.02.01-0**

**Palavras-chave:** *Enterobacter cloacae*, resistência aos carbapenêmicos, PCR.

### **Resumo**

A ocorrência de infecções causadas por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos é um grave problema de saúde pública, particularmente pela elevada mortalidade e reduzido número de opções terapêuticas. Dentro da família *Enterobacteriaceae*, destaca-se o gênero *Enterobacter* spp., com diversas espécies comumente associadas às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). O objetivo deste estudo foi avaliar os mecanismos de resistência aos carbapenêmicos em *Enterobacter* spp. isolados de pacientes internados no Hospital Municipal de Maringá (HMM), Paraná, Brasil, no período de 2013 a 2015. Isolados clínicos de *Enterobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos foram submetidos a testes fenotípicos para produção de carbapenemase através do teste de Hodge modificado (THM) e teste de bloqueadores enzimáticos. Isolados resistentes a imipenem e/ou meropenem foram analisados quanto a presença dos genes de carbapenemases *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>SPM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>GIM</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>* e *bla<sub>OXA</sub>*. Foi realizada também tipagem molecular por *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC-PCR). Foram isolados 55 *Enterobacter* spp. em pacientes internados em diferentes unidades do HMM. Houve um aumento no número de isolados ao longo dos anos estudados. Mais da metade dos isolados foram resistentes ao menos para um dos carbapenêmicos testados. De 13 isolados resistentes a imipenem e/ou meropenem, três (23,0%) foram positivos para o gene *bla<sub>KPC</sub>*. Isolados positivos para KPC apresentaram resistência a todos os antimicrobianos testados. O resultado enfatiza a importância do uso controlado de antimicrobianos e a prática de medidas no controle de infecções e do ambiente nas unidades hospitalares.

## Introdução

Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são as principais causas de mortalidade e morbidade em pacientes hospitalizados, e estão associadas a altos custos de tratamento (Mezzatesta, Gona, Stefani, 2012). Os carbapenêmicos foram instituídos como terapia de última escolha em infecções graves, principalmente causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes produtoras de beta-lactamases como ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) e AmpC (Shah, 2008).

Dentre a família *Enterobacteriaceae*, o gênero *Enterobacter* spp. assumiu significado clínico importante e tem emergido como patógeno nosocomial especialmente em pacientes internados em terapia intensiva (Mezzatesta, Gona, Stefani, 2012). O conhecimento dos mecanismos envolvidos na resistência aos carbapenêmicos é fundamental para a escolha da terapia antimicrobiana adequada e controle da disseminação de bactérias multirresistentes. O objetivo deste estudo foi avaliar os mecanismos de resistência aos carbapenêmicos em *Enterobacter* spp. isolados em pacientes internados no Hospital Municipal de Maringá (HMM), Paraná, Brasil, no período de 2013 a 2015.

## Materiais e métodos

Isolados clínicos de *Enterobacter* spp. obtidos de pacientes internados no HMM no período de 2013 a 2015, com halo de inibição  $\leq 22$ mm ou CIM  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$  para imipenem e/ou meropenem foram submetidos a testes confirmatórios de resistência e detecção de carbapenemases (ANVISA, 2013; CLSI, 2016).

O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e identificação bacteriana foi realizada através do sistema automatizado BD Phoenix<sup>®</sup>. Para carbapenêmicos, a suscetibilidade foi confirmada por disco-difusão, segundo pontos de corte estabelecidos pelo CLSI (2016). A detecção fenotípica de carbapenemases em *Enterobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos foi realizada através do teste de Hodge modificado (THM) (CLSI, 2016) e teste com o inibidor enzimático ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para pesquisa de metalo-beta-lactamases (ANVISA, 2013). A tipagem molecular para *Enterobacter* spp. resistentes a imipenem e/ou meropenem foi realizada através da técnica de *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC-PCR), e genes de carbapenemases *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> e *bla*<sub>OXA</sub> foram analisados por meio de PCR (Poirel *et al.*, 2011), independente dos resultados fenotípicos. Somente um isolado bacteriano de cada paciente foi testado.

## Resultados e Discussão

No período estudado foram isoladas 55 enterobactérias do gênero *Enterobacter* spp. em pacientes internados em diferentes unidades do HMM.

A maioria dos isolados pertence à espécie *E. cloacae* (52/55, 94,6%) seguida de 1 isolado *E. aerogenes*, 1 isolado *E. gergoviae* e 1 isolado *E. asburiae* (1/55 ou 1,8 % cada). A idade média dos pacientes foi de 66 ( $\pm$  21,2) anos, sendo 34/55 (61,8%) do sexo masculino. Amostra biológica prevalente foi urina 48/55 (87,3%), seguida de sangue 6/55 (10,9%) e aspirado traqueal 1/55 (1,8%). Houve um aumento no número de isolados ao longo dos anos estudados (11 em 2013 para 24 em 2015).

O perfil de resistência aos antimicrobianos está representado na Tabela 01. A grande maioria dos isolados foi sensível à amicacina, e 34/55 (61,8 %) foram resistentes a pelo menos um dos carbapenêmicos testados.

**Tabela 1** – Perfil de resistência aos antimicrobianos em *Enterobacter* spp. isolados de pacientes internados no Hospital Municipal de Maringá (HMM), Paraná, entre 2013 e 2015.

Antimicrobianos	Resistentes aos Carbapenêmicos		Sensíveis aos Carbapenêmicos (N=21)
	Imipenem e/ou Meropenem (N=13)	Apenas ao Ertapenem (N=21)	
Amicacina	2 (15,4%)	2 (9,5%)	2 (9,5%)
Gentamicina	11 (84,6%)	19 (90,4%)	10 (47,6%)
Ceftriaxona	12 (92,3%)	20 (95,2%)	11 (52,3%)
Cefepima	13 (100,0%)	19 (90,4%)	12 (57,1%)
Ciprofloxacino	13 (100,0%)	19 (90,4%)	13 (61,9%)
Levofloxacino	12 (92,3%)	19 (90,4%)	9 (42,8%)
Sulfametoxazol/Trimetoprima	5 (38,4%)	15 (71,4%)	10 (47,6%)
Imipenem	9 (69,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Meropenem	11 (84,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Ertapenem	13 (100%)	21 (100,0%)	0 (0,0%)

N - número de isolados resistentes aos antimicrobianos testados.

Testes fenotípicos com o inibidor enzimático EDTA e teste de Hodge modificado foram negativos para todos os isolados resistentes aos carbapenêmicos. Considerando que o EDTA é um inibidor de metalo-beta-lactamases, esses resultados comprovam fenotipicamente que a resistência aos carbapenêmicos, observada nos isolados testados, não foi em consequência da produção deste tipo de carbapenemases.

Para os genes carbapenemases, apenas *bla<sub>KPC</sub>* foi detectado em 3/13 (23,0%) isolados clínicos de *Enterobacter* spp. resistentes a imipenem e/ou meropenem. Estes isolados apresentaram resistência a todos os antimicrobianos testados, exceto para amicacina.

Devido a problemas com alguns isolados, a tipagem molecular por ERIC-PCR foi realizada em apenas 7 dos 13 isolados clínicos carbapenêmicos resistentes. Considerando o coeficiente de correlação de DICE  $\geq$  90%, foi encontrado apenas um cluster com 2 isolados, mostrando uma disseminação não clonal de *Enterobacter* spp. carbapenêmicos resistentes no hospital estudado.

## Conclusões

No hospital estudado foi encontrado um preocupante número de isolados de *Enterobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos, sendo 3 deles produtores de KPC, um mecanismo de resistência de fácil disseminação no ambiente hospitalar. A resistência aos carbapenêmicos é clinicamente significativa e importante no controle das IRAS. O resultado enfatiza a importância do uso controlado de antimicrobianos e a prática de medidas no controle de infecções e do ambiente nas unidades hospitalares.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa PIBIC, à organização do evento.

## Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica nº 01, de 17 de Abril de 2013. Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias Multirresistentes. **ANVISA**, 2013, Brasil. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271858/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+01+de+2013/5be89853-7eca-4b4b-98e4-5096b9f5a2ec>>.

Acesso em: 27 jul. 2017.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-sixth informational supplement: document M100-S.** *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Wayne, 2016.

MEZZATESTA, M.L.; GONA, F.; STEFANI, S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. **Future microbiology**, v.7, n.7, p.887-902, 2012.

POIREL, L.; WALSH, T.R.; CUVILLIER, V.; NORDMANN, P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v.1, n.70, p.119-123, 2011.

SHAH, P.M. Parenteral carbapenems. **Clinical Microbiology and Infection**, v.14, p.175-180, 2008.