

## MEROPENEM E UGI-F-CC CONTRA *ENTEROBACTERALES* PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES

Iris Beatriz Buss dos Santos (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Geovanna Castilho de Freitas, Flavio Augusto Vicente Seixas, Fernanda Andrea Rosa, Paula Aline Campanerute-Sá, Regiane Bertin de Lima Scodro, Vera Lucia Dias Siqueira (Orientador). E-mail: vldsiqueira@uem.br.

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

### Ciências Biológicas / Microbiologia Médica

**Palavras-chave:** Meropenem; resistência bacteriana; carbapenemases

### RESUMO

O aumento de *Enterobacteriales* produtoras de carbapenemases (EPC) e consequentemente resistentes aos carbapenêmicos propiciou a diminuição das opções de tratamento, elevando a demanda por novas alternativas terapêuticas. Estudos de varredura virtual indicaram que a substância química UGI-F-CC é análoga a inibidores de beta-lactamases, podendo, assim, significar uma opção de tratamento em combinação com carbapenêmicos como o meropenem (MER). Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade inibitória de UGI-F-CC combinada com MER sobre o crescimento de isolados clínicos de EPC. A metodologia utilizada foi diluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do MER isolado e combinado com diferentes concentrações (10, 25 e 50 µg/ml) de UGI-F-CC. O efeito da ação combinada foi avaliado pela diminuição da CIM e fator de modulação ( $FM = CIM_{MER}/CIM_{MER+UGI-F-CC}$ ). Resultados de  $FM \geq 4$  e  $CIM \leq 2$  µg/ml definiram a capacidade da substância química testada modular ou resgatar a atividade do MER, respectivamente. Os resultados mostraram que mesmo na maior concentração testada (50 µg/ml), UGI-F-CC não resgatou a atividade do MER nos isolados bacterianos testados, mas em um isolado de *Escherichia coli*, 50 µg/ml da substância foi capaz de modular essa atividade ( $FM \geq 4$ ). Assim, foi possível concluir que UGI-F-CC não diminuiu significativamente a CIM do MER e provavelmente não possui atividade inibitória sobre carbapenemases produzidas por EPCs.

## INTRODUÇÃO

O aumento de bactérias multirresistentes representa uma ameaça à saúde humana e um sério problema para os sistemas de saúde, devido à subsequente falta de opções de tratamentos eficazes (JEAN, HARNOD, HSUEH, 2022). Carbapenêmicos como o meropenem (MER), imipenem e ertapenem são antimicrobianos da classe  $\beta$ -lactâmicos e são considerados fármacos de último recurso para o tratamento de patógenos Gram-negativos multirresistentes (LEE *et al.*, 2022). A resistência aos carbapenêmicos em bactérias clinicamente importantes agravou gradualmente a partir do ano 2000, particularmente em *Enterobacterales* isoladas de pacientes internados na unidade de terapia intensiva (UTI) (JEAN, HARNOD, HSUEH, 2022). Beta-lactamases do tipo carbapenemases, principalmente *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), New Delhi metalo-beta-lactamases (NDM) e mais raramente oxacilinases (OXA-48), têm sido o principal mecanismo de resistência aos carbapenêmicos em diversas espécies de *Enterobacterales* (LEE *et al.*, 2022). A busca por inibidores destas beta-lactamases tem representado objetivos de muitas pesquisas por alternativas terapêuticas contra *Enterobacterales* produtoras de carbapenemases (EPC). A substância química UGI-F-CC foi identificada em um estudo de varredura computacional como sendo análoga ao sulbactam, um inibidor de beta-lactamases. Neste sentido, este estudo objetivou avaliar a atividade inibitória de diferentes concentrações de UGI-F-CC combinada com MER sobre o crescimento *in vitro* de isolados clínicos de EPC.

## MATERIAIS E MÉTODOS

UGI-F-CC Diferentes espécies de EPC provenientes da bacterioteca do setor de Bacteriologia Médica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e do banco do Hospital Universitário de Maringá, foram selecionadas para este estudo. A substância química UGI-F-CC foi identificada por varredura computacional pelo professor Flávio Augusto Vicente Seixas do departamento de Tecnologia-UEM, sintetizada e gentilmente fornecida pela professora Dra Fernanda Andrea Rosa do departamento de Química-UEM. Uma solução estoque de concentração igual a 10.000  $\mu\text{g/mL}$  foi preparada em dimetilssulfóxido (DMSO). O antimicrobiano MER foi adquirido comercialmente (AstraZeneca, Cotia, Brasil) e preparado em solução estoque na concentração de 10.240  $\mu\text{g/mL}$ . As concentrações inibitórias mínimas (CIM) do MER e do MER + UGI-F-CC foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo, usando Muller Hinton Broth com ajuste de cátions  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  (CAMHB, Difco Laboratories, Sparks, MD, EUA). Os testes foram feitos em duplicatas e repetidos

em dias diferentes. A atividade da combinação de MER com diferentes concentrações de UGI-F-CC (50, 25 e 20 µg/m) foi avaliada pela redução na CIM e pelo fator de modulação (FM), calculado a partir da fórmula:  $FM = \frac{CIM \text{ da MER}}{CIM \text{ da combinação da MER+UGI-F-CC}}$ . Foi considerado como resgate da atividade do MER quando a CIM da MER+UGI-F-CC foi  $< 2 \mu\text{g/mL}$  (BrCast, 2024) e o efeito modulatório foi definido quando uma redução  $\geq 4$  vezes na CIM da combinação MER+UGI-F-CC em relação ao MER foi observada (Caleffi-Ferracioli *et al.*, 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dez isolados de EPC (Seis *K. pneumoniae*, três *E. coli* e um *Proteus mirabilis*) selecionados para este estudo apresentaram CIM para o MER entre 16 e  $\geq 1024 \mu\text{g/ml}$  (tabela 1), confirmando a resistência ao MER (BRCAST, 2024). Cinco bactérias eram produtoras de KPC, quatro produtoras de NDM e uma delas produtora de OXA48. Mesmo na maior concentração testada (50 µg/ml), a substância UGI-F-CC não foi capaz de resgatar ( $MIC \leq 2 \mu\text{g/mL}$ ) a atividade inibitória do MER em nenhum dos isolados bacterianos estudados (BRCAST, 2024). Entretanto, em um isolado de *E. coli* produtor de KPC, 50 µg/ml da substância reduziu a CIM em 4 vezes, modulando ( $FM = 4$ ) a atividade inibitória do MER (Tabela 1) (CALEFFI-FERRACIOLI *et al.*, 2019). Por termos trabalhado com UGI-F-CC em mistura racêmica, com vários tautômeros, uma das hipóteses para o efeito inibitório insuficiente sobre as carbapenemases produzidas pelos isolados de EPC pode ser a existência de baixas concentrações da estrutura ativa na mistura.

**Tabela 1.** Concentração inibitória mínima (CIM) do meropenem (MER) combinado ou não com UGI-F-CC em isolados clínicos de *Enterobacterales* produtoras de carbapenemases (EPC).

<i>Enterobacterales</i>	MER CIM (µg/ml)	MER + UGI-F-CC CIM µg/ml (FM)		
		50 µg/ml	25 µg/ml	10 µg/ml
<i>Kp KPC (1233)</i>	16	32 (0,5)	32 (0,5)	32 (0,5)
<i>Kp KPC (1737)</i>	64	64 (1)	64 (1)	64 (1)
<i>Kp KPC (1673)</i>	>1024	>1024 (1)	>1024 (1)	>1024 (1)
<i>Kp NDM (4857)</i>	32	64 (0,5)	64 (0,5)	64 (0,5)
<i>Kp NDM (4101)</i>	64	64 (1)	64 (1)	64 (1)

<i>Kp OXA48 (MB)</i>	16	64 (0,25)	64 (0,25)	64 (0,25)
<i>Pm NDM (273)</i>	128	128 (1)	128 (1)	128 (1)
<i>Ec KPC (604)</i>	128	256 (0,5)	256 (0,5)	256 (0,5)
<i>Ec KPC (565)</i>	256	64(4)	512 (0,5)	512 (0,5)
<i>Ec NDM (300)</i>	64	64 (1)	64 (1)	128 (0,5)

*Kp*: *Klebsiella pneumoniae*, *Ec*: *Escherichia coli*, *Pm*: *Proteus mirabilis*, *KPC*: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, *NDM*: Nova Delhi metalo-betalactamase, *OXA*: Oxacilina

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que a substância UGI-F-CC não promove diminuição significativa da CIM do MER, provavelmente por não ter atividade inibitória sobre as carbapenemases KPC, NDM e OXA48 produzidas por isolados clínicos de EPC.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq, ao laboratório de Bacteriologia Médica da UEM e a minha orientadora que possibilitaram a realização desse projeto.

## REFERÊNCIAS

BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, documento: Tabela de pontos de corte. Disponível em: [file:///C:/Users/Home/Downloads/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Home/Downloads/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024%20(3).pdf). Acesso em: 05 julho 2024.

CALEFFI-FERRACIOLI KR. *et al.* Modulatory effects of verapamil in rifampicin activity against *Mycobacterium tuberculosis*. **Future Microbiol.**, Londres, v. 14, n. 3, p. 185-194, fev. 2019. doi: 10.2217/fmb-2018-0277.

JEAN SS, HARNOD D, HSUEH PR. Global Threat of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, Lausanne, v. 12, p. 823684, março 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8965008/pdf/fcimb-12-823684.pdf>. Acesso em: 10 agosto 2024.

LEE YL *et al.* Carbapenemase-producing *Enterobacterales* infections: recent advances in diagnosis and treatment. **Int J Antimicrob Agents**, v. 59, n. 2, p. 106528, fev. 2022. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2022.106528.