

Deteção e caracterização rápida de coprodução de carbapenemases e variantes de KPC em *Klebsiella* spp.

Keila de Oliveira Lima^{*1}, Aline Valério de Lima¹, Jorge Luiz Mello Sampaio¹

¹ Laboratório de Resistência Antimicrobiana e Microbiologia Clínica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil

*keilaolivlima@usp.br, aline_lima@usp.br, sampaio@usp.br

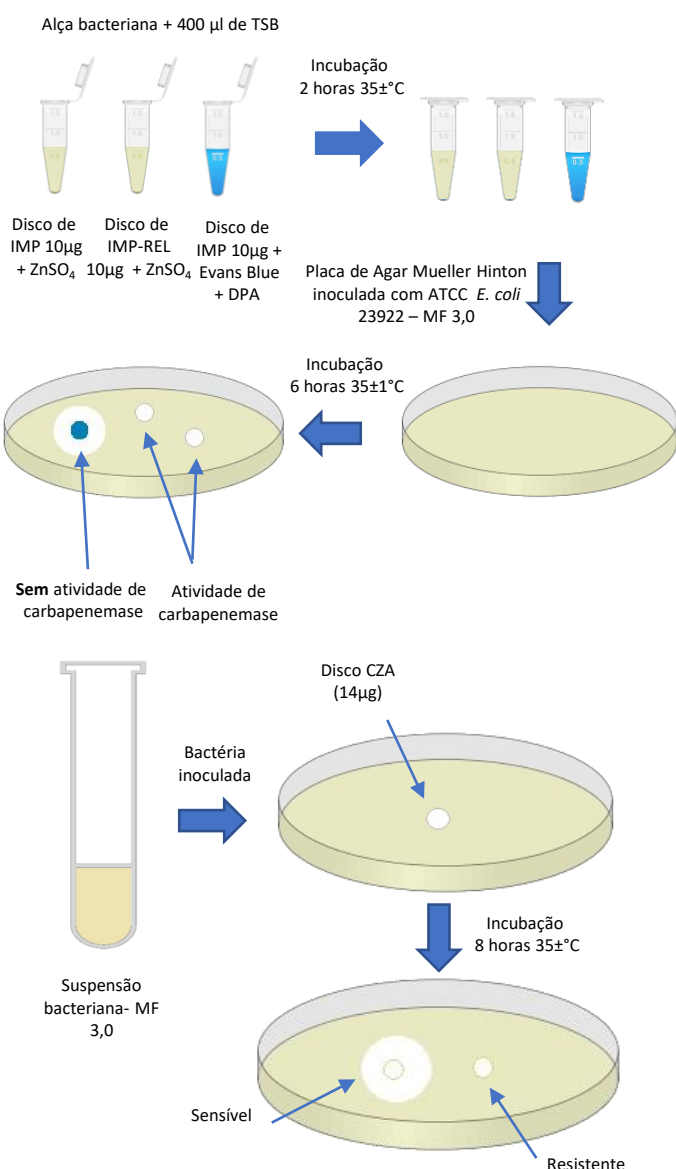
Introdução

Após o alerta emitido pela Organização Panamericana de Saúde (OPS) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em outubro de 2021, sobre a disseminação da coprodução de carbapenemases de classe A e B, especificamente os genes *bla*_{NDM-1} e *bla*_{KPC-2}, os laboratórios de microbiologia clínica atentaram-se para escassez de testes fenotípicos que detectem essa coprodução. Esse estudo teve como objetivo desenvolver e validar um novo teste para detecção e diferenciação rápida de coprodução de carbapenemases.

Metodologia

Um total de 284 *Klebsiella* spp., produtoras de NDM, KPC, OXA-48-like ou coprodutores de KPC/NDM ou NDM/OXA tiveram suas espécies identificadas e presença de genes de carbapenemases confirmadas por PCR. Para a detecção fenotípica de carbapenemases foram realizadas as seguintes modificações em relação ao método original de inativação de carbapenêmico (CIM): 1- inclusão do imipenem-relebactam; 2- utilização de corante; 3- utilização de suspensão de *E. coli* ATCC 25922 com turbidez MF 3,0 para leitura em 6 horas; 4- inclusão da ceftazidima-avibactam (CAZ-AVI). Foram utilizados tubos contendo TSB, suplementado ou não com sulfato de zinco ou ácido dipicolínico e Evans Blue. Os isolados foram testados frente à CAZ-AVI utilizando-se critérios interpretativos do método rápido para hemoculturas do BrCAST.

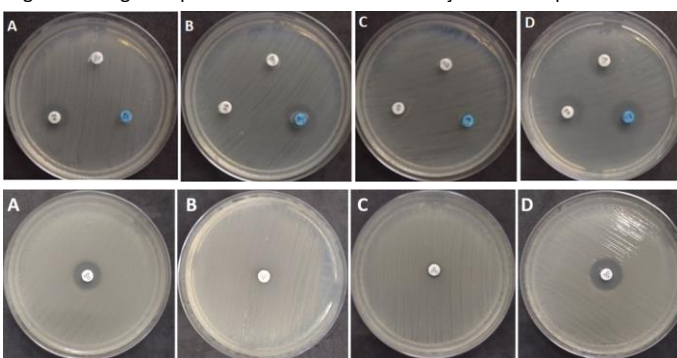
Figura 1. Teste de detecção de produção e coprodução de carbapenemases



Resultados

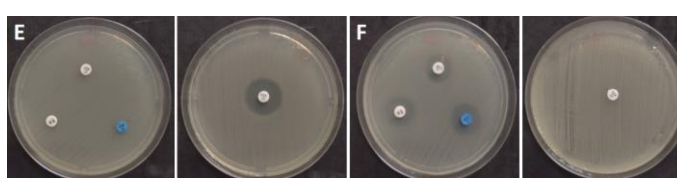
A distribuição das espécies entre os 284 isolados foi: 89,1% *K. pneumoniae*, 8,4% *K. quasipneumoniae* e 2,5% *K. variicola*. Um total de 40,5% dos isolados continham os genes *bla*_{NDM} e *bla*_{KPC}, 24,3% apenas o gene *bla*_{KPC}, 18,3% apenas o gene *bla*_{NDM}, 9,9% os genes *bla*_{NDM} e *bla*_{OXA}, 4,2% variantes do gene *bla*_{KPC} que conferem resistência a a CAZ-AVI e 2,8% apenas o gene *bla*_{OXA48-like}. A classe das carbapenemases foi bem caracterizada para 96,5% dos isolados, e em 3,5% foi inconclusiva. Para a caracterização dos 143 isolados coprodutores de KPC/NDM e NDM/OXA a sensibilidade foi de 99% e a especificidade de 94%. Para produtores de KPC a sensibilidade foi de 98% e especificidade de 100%. Para as variantes de KPC com fenótipo de resistência ao CAZ-AVI, e as produtoras de OXA-48-like, o teste apresentou 100% de sensibilidade e especificidade. Para os produtores de NDM o teste apresentou 84% de sensibilidade e 99% de especificidade, pois alguns isolados foram classificados como coprodutores.

Figura 2. Imagem representativa do teste de detecção de carbapenemases



Legenda: (A) Possível produtora de carbapenemase de classe A ; (B) Possível produtora de carbapenemase de classe B; (C) Possível coprodutora de carbapenemase de classe A e B ou classe B e D; (D) Controle Negativo.

Figura 3. Imagem representativa do teste de detecção de carbapenemases



Legenda: (E) Possível produtora de carbapenemase de classe D ; (F) Variantes de KPC com fenótipo de resistência ao CAZ-AVI.

Conclusões

A modificação do método original CIM, aqui designada IRT-CIM é uma técnica simples, econômica e acessível para detecção fenotípica que permite detectar e caracterizar as classes de carbapenêmicos em até 8h.

Referências

OPS, O. P. D. L. S.-; OMS, O. M. D. L. S.-. **Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemases em *Enterobacteriales* en Latinoamérica y el Caribe** 2021.

VAN DER ZWALUW, K. et al. **The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and lowcost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gramnegative rods.** PLoS One, v. 10, n. 3, p. e0123690, 2015.

EUCAST; BrCAST. **Zone diameter breakpoint tables for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles Version 6.1**, valid from 2023-06-07, 2023.