

*Pseudomonas aeruginosa* e  
*Acinetobacter* spp: mecanismos de  
resistência e aspectos para a terapia

Beatriz M Moreira

# Bactérias Gram-negativas não-fermentadores

- Pequena exigência nutricional – amplamente encontrados no meio ambiente
- Exibem resistência natural e adquirida a múltiplos antibióticos
- Pacientes em uso de antibióticos são freqüentemente colonizados
- *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* sp. – os NF mais freqüentemente isolados no laboratório clínico

# NF em hospitais brasileiros

Sentinela – 20 lab., 36 hosp,  
2º sem 1998, 855 amostras

Sentry – 3 lab., 1997-1999,  
3728 amostras

NF	BSI	Todos os sítios	Trato respiratório Inferior	BSI
<i>P. aeruginosa</i>	15% (3º)	13% (3º)	29% (1º)	8% (6º)
<i>Acinetobacter</i>	10% (4º)	7% (7º)	11% (3º)	7% (7º)

Sader, BJID 4:91, 2000

Sader, BJID 5:200, 2001

# *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp resistência natural

- Bombas de efluxo: 12 sistemas identificados no genoma de *P. a.*, 4 caracterizados (Chuanchuen AAC 45:428, 2001) – MexAB-OprM – efluxo de cloranfenicol, tetraciclina, ác. nalidíxico, ciprofloxacina, novobiocina, macrolídeos e  $\beta$ -lactâmicos com exceção do imipenem
- AmpC (cefalosporinase de classe C)
- Enzimas que modificam aminoglicosídeos
  - (*P.a.*: fosfotransferases que modificam neomicina e canamicina) (Mingeto, AAC 43: 727, 1999)
- Baixa permeabilidade (1/100 em relação a *E. coli*) (Yoshimura JB 152:636,1982)

# *Acinetobacter* – resistência natural > do que *P. aeruginosa*

- Drogas preferenciais
  - sulbactam (afinidade à PBP2)
  - carbapenemas

# *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp resistência adquirida

- Plasticidade genotípica
- ↑ produção de
  - Bombas de efluxo
  - AmpC
- ↓ permeabilidade
  - modificação de porinas – perda, alteração
- Aquisição de novas  $\beta$ -lactamases

# *P. aeruginosa* – resistência adquirida

Mutação	ureido	carbox	ceftaz	imip	merop	quinol	tetra	cloranf
↑AmpC	R	r	R	-	-	-	-	-
↑ MexEF-OprN	-	-	-	r/R	r	R	-	-
↑ MexAB-OprM	r/R	R	r/R	-	r	R	RR	RR
↓OprD (D2)	-	-	-	R	r	-	-	-
↓OprD + ↑ MexAB-OprM	R	R	R	R	R	R	RR	RR

Livermore, JAC 47:247, 2001

# $\beta$ -lactamases em *P. aeruginosa* e *Acinetobacter*



# $\beta$ -lactamase de classe A em *P. a.*

- Não ESBL: plasmidiais, R às penicilinas anti-pseudomonas, carbenicilina, sem atuar em cef de 3a geração ou aztreonam
  - TEM-1 – identificada pela primeira vez em *P.a.* em 1969
  - PSE-1 e PSE-4
- ESBL: PER (primeira relatada em 1991, 11% na Turquia), VEB (93% das amostras CazR no Vietnam), SHV, TEM, GES/IBC (hidrólise de imipenem)

# ESBL em *P. aeruginosa*

TABLE 1. Ambler class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamases known in *P. aeruginosa*

$\beta$ -Lactamase	Genetic support <sup>a</sup>	Country of first isolation	Yr of first isolation	Other countries of isolation
VEB-1	C, P, I	France	1998	Thailand, India, <sup>b</sup> China <sup>b</sup>
VEB-1a	C, I	Kuwait	1999	
VEB-1b	C, I	Kuwait	1999	
VEB-2	C, I	Thailand	1999	
PER-1	C	France	1991	Turkey, Italy, Belgium
SHV-2a	C, P	France	1995	Thailand, Poland <sup>b</sup>
SHV-5	P	Thailand	1994-1996	Greece <sup>b</sup>
SHV-12	C	Thailand	1994-1996	
TEM-4	P, C	France	1996	
TEM-21	C	France	1997	
TEM-24	P	France	1998	
TEM-42	P	France	1992	
GES-1	C, I	France	1999	Brasil
GES-2	P, I	South Africa	2000	
IBC-2	C, I	Greece	1998	

<sup>a</sup> C, chromosomal location; P, plasmid borne; I, integron-borne.

<sup>b</sup> P. Nordmann, personal data.

# ESBL em *P. aeruginosa*

TABLE 4. MICs of  $\beta$ -lactams for several representative class A ESBL-producing *P. aeruginosa* isolates<sup>a</sup>

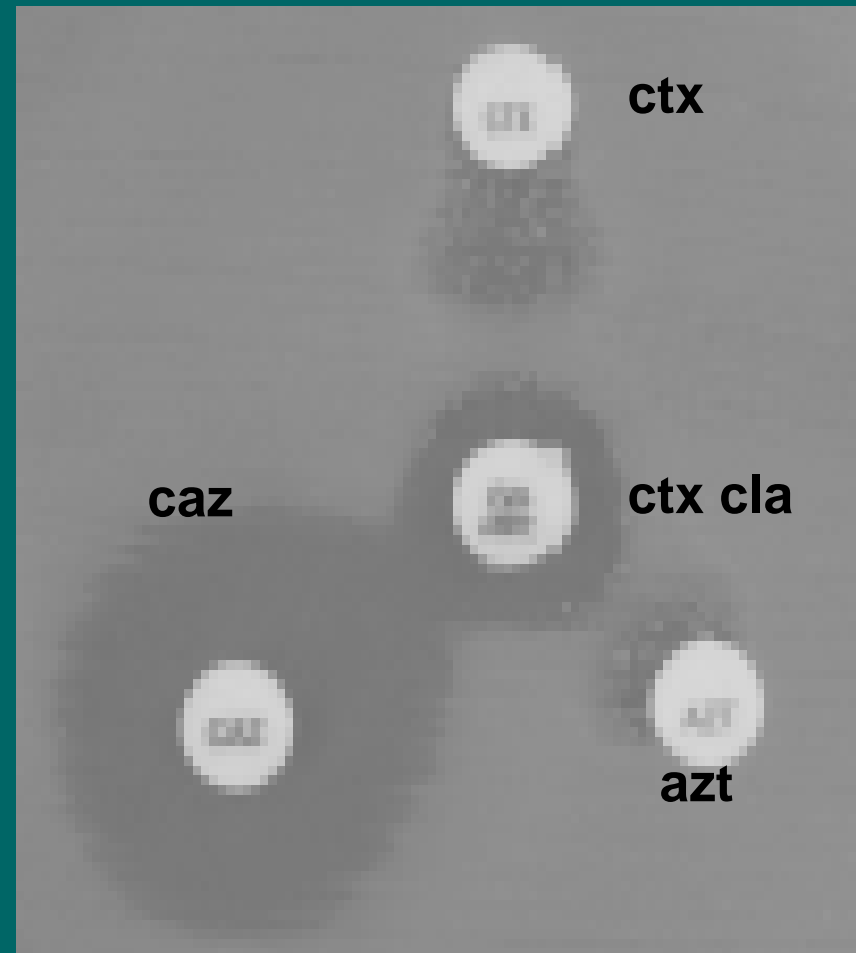
$\beta$ -Lactam <sup>b</sup>	MIC ( $\mu$ g/ml) for the following extended-spectrum $\beta$ -lactamase (isolate denomination):					
	VEB-1 (JES-1)	PER-1 (RNL-1)	GES-1 (695)	GES-2 (GW-1)	SHV2a (RP-1)	TEM-4 (Stel)
Ticarcillin	>512	512	>512	>512	>512	>512
Ticarcillin + CLA	256	256	64	>512	64	32
Piperacillin	128	32	512	128	256	32
Piperacillin + TZB	NA <sup>c</sup>	NA	64	128	16	8
Ceftazidime	512	128	32	32	32	8
Ceftazidime + CLA	128	4	32	16	8	4
Cefotaxime	NA	64	NA	128	>512	128
Cefepime	128	NA	16	32	NA	8
Imipenem	32	0.5	1	16	2	4
Meropenem	8	NA	NA	16	NA	1
Aztrenom	>256	256	4	16	32	16

<sup>a</sup> Data were adapted from references 14, 27, 30 to 32, 34, 42, and 45.

<sup>b</sup> CLA, clavulanic acid at a fixed concentration of 2  $\mu$ g/ml; TZB, tazobactam at a fixed concentration of 4  $\mu$ g/ml.

# ESBL - *Acinetobacter*

- PER (46% das amostras na Turquia)
- CTX-M2:
- 3 amostras de aspirado traqueal, Japão, 2002
- R a cefotaxime
- S a cefotax + ác. clav.
- mesmo ribogruppo



Nagano, JCM 42:3978, 2004

# $\beta$ -lactamase de classe D

- Não ESBL: OXA2 a 19
- ESBL:
  - OXA 18
  - derivadas de OXA 2
  - derivadas de OXA 10 – R ceftazidima > R cefepima
    - 11, 14 e 19 (pp ceftazidime)
    - 17 (cefotaxime)
- OXA 1 e OXA 31 – R cefepima > R ceftazidima e cefotaxime
- Carbapenemases: OXA 23 (8 amostras de *Acinetobacter* em Curitiba, em 2 hospitais, 5 óbitos) e OXA 24

# Metallo- $\beta$ -lactamases

## Japão - imp-1

- *Serratia marcescens*  
1994
- Rastreamento de  
3.700 amostras 1992-  
1994
  - 132 R imipenem
  - 15 Mbla com níveis  
variados de  
resistência

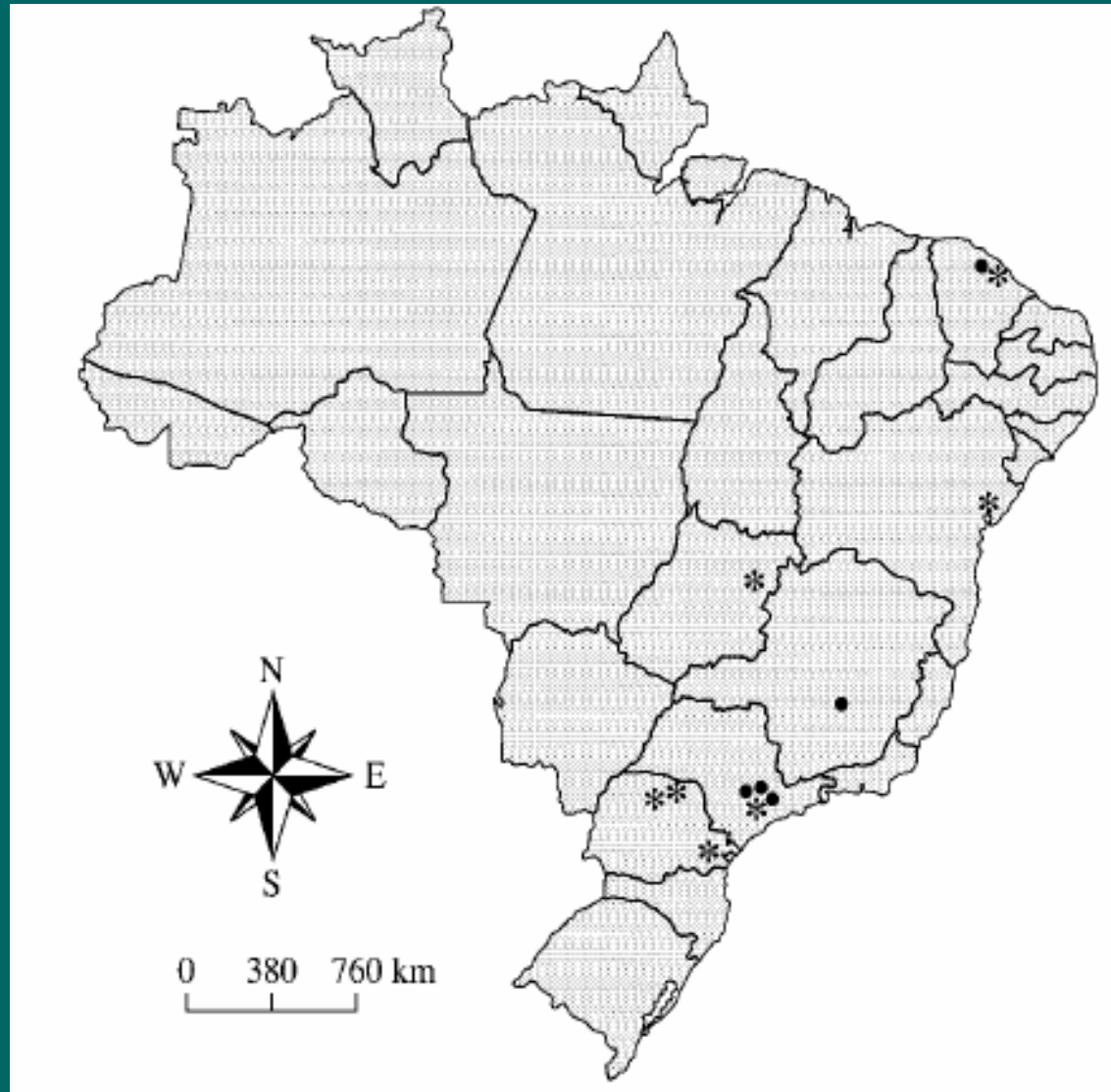
Antibiótico	MIC
imipenem	2(1) - $\geq$ 128(3)
meropenem	8(1) - $\geq$ 128(7)
ceftazidima	$\geq$ 128(15)
aztreonam	4(2) - $\geq$ 128(2)
cipro	32(1) - $\geq$ 128(9)
genta	4(2) - $\geq$ 128(10)
amica	1(2) - $\geq$ 128(6)
tobra	4(1) - $\geq$ 128(9)

# Metallo- $\beta$ -lactamases - níveis variados de resistência a carbapenemas

Japão - imp-6, *Serratia maecescens* (1996)

Antibiótico	MIC	Kcat/ Km	
		IMP-6	IMP-1
Aztreonam	128	~0	~0
Cefotaxime	>128	14,5	0,4
Imipenem	32	0,6	1,2
Meropenem	>128	4,2	1,5

# Disseminação de *P. aeruginosa* produtora de SPM-1 Brasil, 2003



\* genótipo SP

# SENTRY: *P. aeruginosa*, 10 lab. América Latina (3 centros no Brasil - 48% das amostras) 1997-2001, sangue, infecção respiratória inferior, pele ITU

**Table 1.** Decreased susceptibility to 12 antimicrobial agents among *P. aeruginosa* isolates in Latin America (SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–2001)

Antimicrobial class/agent	% Susceptibility by year (no. tested)					OR (95 CI %) <sup>a</sup>
	1997 (335)	1998 (424)	1999 (371)	2000 (357)	2001 (407)	
<b>β-Lactams</b>						
ceftazidime	66.6	64.4	65.8	59.7	56.3	1.39 (1.02–1.91)
cefepime	66.2	67.9	65.2	59.4	54.8	1.53 (1.12–2.09)
aztreonam	55.5	45.0	46.6	34.7	41.3	1.76 (1.30–2.39)
piperacilin	71.9	66.7	66.6	61.9	60.9	1.64 (1.19–2.27)
piperacillin/tazobactam	79.4	77.1	73.3	66.4	64.9	2.09 (1.48–2.96)
imipenem	77.1	76.7	73.6	70.6	62.2	2.07 (1.47–2.90)
meropenem	83.0	79.7	76.0	71.7	64.4	2.70 (1.88–3.89)
<b>Aminoglycosides</b>						
amikacin	77.7	73.3	69.0	65.0	65.4	1.84 (1.31–2.59)
gentamicin	63.6	61.8	60.1	56.9	49.6	1.77 (1.30–2.41)
<b>Fluoroquinolones</b>						
ciprofloxacin	67.2	60.8	60.6	53.2	49.9	2.06 (1.51–2.81)
gatifloxacin	60.9	57.1	56.3	52.1	46.4	1.80 (1.33–2.44)
levofloxacin	63.6	59.0	59.3	53.5	49.6	1.77 (1.30–2.41)

SENTRY: *P. aeruginosa*, 10 lab. América Latina (3 centros no Brasil)  
1997-2001 – contin.

- R a todos os agentes:
  - 1997: 4%
  - 2001: 17% → OR 4,8 (2,6-9,0)
  - Brasil contribuiu com 90% do total, correspondendo a 35% das amostras de 2001

# Testando a susceptibilidade a antimicrobianos - NCCLS

- Tabela 1: lista de antibióticos para testar rotineiramente para *P.a.* e *Acineto.*, disco difusão
- Grupo A: ceftazidima, gentamicina, mezlocilina/ ticarcilina ou piperacilina
- Grupo B: amicacina, aztreonam, cefepima, ciprofloxacina/ levofloxacina, imipenem, meropenem, tobramicina
- Grupo C e grupo U - suplementares

## Testando a susceptibilidade a antimicrobianos – NCCLS - continuação

- Para *S. maltophilia* – fornecer resultado apenas para levofloxacina, minociclina e trimetoprim/sulfametoxazol
- Para *B. cepacia* – fornecer resultado apenas para ceftazidima, meropenem e minociclina
- Outros não-enterobacteriaceae – testar apenas por determinação de MIC

# Mbla – é importante detectar?

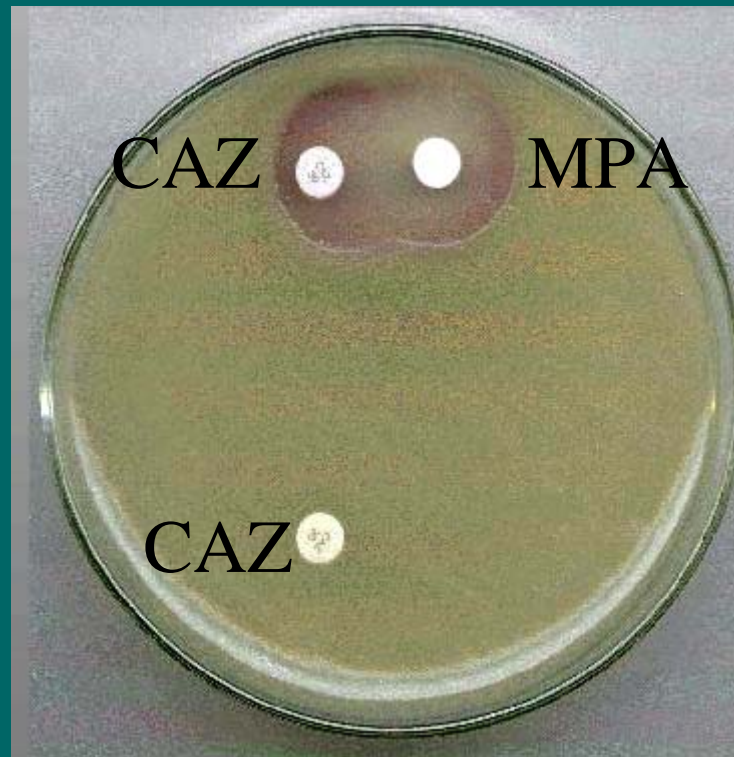
- *Diagnóstico de resistência*
  - provavelmente pouco importante
  - observar susceptibilidade no antibiograma
- *Importância epidemiológica*
  - deter a disseminação dos genes – vários em integrons → co-resistência, co-expressão, co-seleção
  - vários surtos
  - no Brasil – conter disseminação de cepa epidêmica

# Mbla – diagnóstico laboratorial

Princípio – detectar diminuição da resistência (o marcador pode ser ceftazidima ou imipenem) na presença de quelante iônico (EDTA, ác. mercaptopropiônico)

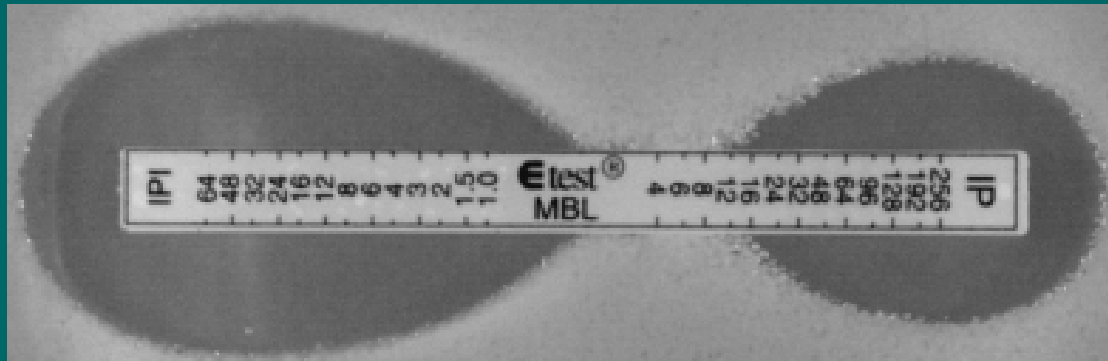
- Disco aproximação
- E-teste

Teste de disco aproximação para detecção de Mbla - *P. aeruginosa*, ác-mercaptopropiônico – ceftazidima



## E-teste

(Walsh et al., JCM 2002, 40:2755)



Amostra de *Serratia marcescens* produtora de IMP-1

- imipenem com EDTA: (1 a 64µg/mL)
- imipenem com MPA: (1 a 64µg/mL)
- CAZ com EDTA: (0,016 a 256µg/mL)

## E-teste: Imipenem+EDTA e Tazobactam+EDTA

TABLE 1. Sensitivities of IP and TZ as substrates on MH

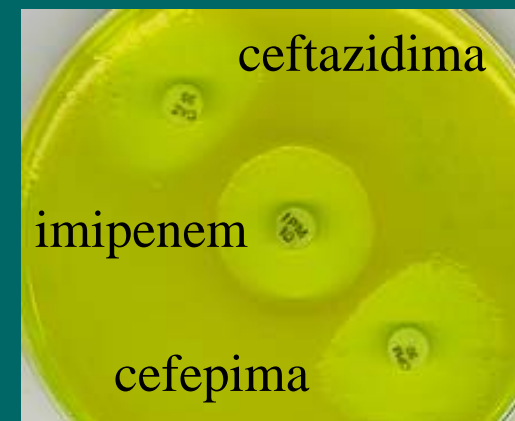
Metallo- $\beta$ -lactamase producers (n)	Metallo- $\beta$ -lactamase type <sup>a</sup>	Sensitivity <sup>b</sup> (%)	
		IP-IPE	TZ-TZE
<i>Acinetobacter</i> spp. (3)	IMP-1	100	0
<i>P. aeruginosa</i> (1)	IMP-1	100	100
<i>Serratia</i> spp. (8)	IMP-1	100	100
<i>S. maltophilia</i> (4)	L1	100	0
<i>B. fragilis</i> group (10)	CcxA	100	70
Total		100	54

<sup>a</sup> Metallo- $\beta$ -lactamase producers as defined by genotypic methods.

<sup>b</sup> Based on the number of metallo- $\beta$ -lactamase producers that were correctly identified.

# Detecção de ESBL em não-enterobacteriaceae

- Adição de ácido clavulânico – inibe ESBL  
→ ↑ susceptibilidade ao  $\beta$ -lactâmico em teste
- Indução de AmpC – hidrólise do  $\beta$ -lactâmico  
→ ↓ susceptibilidade ao  $\beta$ -lactâmico em teste



## Detecção de ESBL em *P. aeruginosa*: duplo disco com clavulanato

- Falso negativo – indução de AmpC
- Presença simultânea de metalo ou oxacilinase
- resistência à inibição por clavulanato (GES-2)
- mecanismos de resistência combinados – impermeabilidade, efluxo
- ideal – PCR (iniciadores para VEB, PER, GES, TEM, SHV), cuidado com pureza do DNA

# ESBL em *P. aeruginosa*: implicação terapêutica

- Tratamento mais apropriado não determinado
- modelo animal, PER – imipenem+ amicacina – combinação sinérgica para amostra susceptível a ambos
- cefepime e pip/tazo – efeito inóculo in vivo
- experiência clínica com VEB – tratamento com carbapenema
- determinação de MIC deve ajudar
- não se observou até hoje nenhuma amostra ESBL+ susceptível à ceftazidima – resultado de TSA provavelmente é confiável (Nordmann, inform. pessoal)

# Metalo em *P. aeruginosa*: susceptibilidade a antimicrobianos em amostras do Rio de Janeiro

- 28 amostras (21 clone A, 7 clone B), 1999-2000
- Antibiótico                    N susceptível
- Amicacina                    2
- Aztreonam                    5
- Gentamicina, imipenem, meropenem, piperacilina/  
tazobactam                    1 cada (amostras diferentes)
- Ceftazidima, cefepima, ciprofloxacina, ticarcilina/tazobactam  
zero

# Lembretes

Dr. David Livermore, ICAAC 2004

- Tobramicina – o aminoglicosídeo mais ativo contra *P.a.* – pode ser ativo contra amostra R a gentamicina e amicacina
- Aztreonam pode ser ativo contra amostra produtora de Mbla (outros mecanismos de R: efluxo, AmpC)
- Sinergismo: não tentar quando há resistência em alto nível para algum dos compostos (poderia tentar somente se houver resistência em baixo nível – p. ex. R a imipenem por efluxo)
- Moxifloxacina – a mais ativa das quinolonas (NF?)

# Aztreonam em combinação com outros antibióticos

- 40 amostras de *P. aeruginosa*, MIC 1- 16  $\mu\text{g/ml}$
- ausência de antagonismo
- sinergismo completo ou parcial
  - fluoroquinolonas - 63,4%
  - ceftazidima ou cefepime – 75-85%
- imipenem – indiferença em 65%

## Controlando a resistência: prioridade - controlar cepas epidêmicas - higienização de mãos: a medida isolada mais eficaz

**TABLE 10. Association between improved adherence with hand-hygiene practice and health-care-associated infection rates**

Year	Ref. no.	Hospital setting	Results	Duration of follow-up
1977	(48)	Adult ICU	Reduction in health-care-associated infections caused by endemic <i>Klebsiella</i> spp.	2 years
1982	(69)	Adult ICU	Reduction in health-care-associated infection rates	N.S.
1984	(70)	Adult ICU	Reduction in health-care-associated infection rates	N.S.
1990	(296)	Adult ICU	No effect (average hand hygiene adherence improvement did not reach statistical significance)	11 months
1992	(71)	Adult ICU	Substantial difference between rates of health-care-associated infection between two different hand-hygiene agents	8 months
1994	(72)	NICU	Elimination of MRSA, when combined with multiple other infection-control measures. Reduction of vancomycin use	9 months
1995	(73)	Newborn nursery	Elimination of MRSA, when combined with multiple other infection-control measures	3.5 years
2000	(75)	MICU/NICU	85% relative reduction of VRE rate in the intervention hospital; 44% relative reduction in control hospital; no change in MRSA	8 months
2000	(74)	Hospitalwide	Substantial reduction in the annual overall prevalence of health-care-associated infections and MRSA cross-transmission rates. Active surveillance cultures and contact precautions were implemented during same period	5 years

**Note:** ICU = intensive care unit, NICU = neonatal ICU, MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MICU = medical ICU, and N.S. = not stated.

# *Acinetobacter* na América Latina – disseminação de uma cepa

- América Latina – 10 centros
- 826 amostras (Brasil 400), 1997-2001
- níveis variados de resistência
- **8 cepas relacionadas a um ribogrupo disseminado em 3 países (Argentina, Brasil, Colômbia)**

*Acinetobacter* na America Latina – cont  
% resistência nos 3 centros do Brasil

Ano	Imipenem	Meropenem
1997	13,6	14,8
1998	12,5	12,5
1999	4,5	3,0
2000	8,6	5,2
2001	2,2	3,3
Total	8,5	8,3

## *Acinetobacter* na America Latina – continuação

- Resistência a polimixina – 6 amostras, todas do Brasil, BSI, dos 3 centros participantes
  - somente uma amostra resistente também a carbapenemas

# Surto de infecção por *A. baumannii* e *P. aeruginosa* no Brooklyn, NY

- R a imipenem nos EUA ~ 15%
- Estudo - 15 hospitais
- julho a setembro de 1999
- *A. baumannii* – 419 amostras
  - 50% resistentes a imi ou merop (20-70%)
  - atividade do imipenem 2x > que meropenem
  - 25% destes – S apenas a polimixina
  - 5 amostras resistentes tb à polimixina
  - Ribotipagem de 224 amostras R carbapenemas: **1 cepa representou 62% das amostras (140), encontrada nos 15 hospitais**
  - **culturas de ambiente em 10 hospitais - + para A.b. resistente a carbapenemas em 7**

Surto de infecção por *A. baumannii* e *P. aeruginosa* no Brooklyn, NY-contin.

- 823 *P. aeruginosa*
- R imipenem em 24% - encontrado nos 15 hospitais (12-58%)
- atividade do meropenem 4x > que imipenem
- 6 amostras de 6 hospitais resistentes a todos os antibióticos
- **50% das amostras pertenciam a 3 cepas presentes em 5-10 hospitais**

# **Controle de infecções resistentes**

**o futuro está em nossas mãos**