

Mecanismos de ação e resistência a β -lactâmicos em BGN. Testes de triagem para detecção de BLEE, AmpC, carbapenemases.

Bioq. Melina Rapoport

Serviço Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

Lab. Nacional/Regional de Referência em Resistência aos Antimicrobianos.

Centro Colaborador de OMS na Vigilância de Resistência aos Antimicrobianos.

www.antimicrobianos.com.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



ANTIBIOGRAMA
AMPICILINA
AMOXICILINA/CLAVULÂNICO
C1G: CEFALOTINA/CEFAZOLINA
CEFOXITINA
C3G: CEFOTAXIMA/CEFTACIDIMA*
AC. NALIDIXICO
CIPROFLOXACINA
ENROFLOXACINA
FLORFENICOL
ESTREPTOMICINA
GENTAMICINA
AMICACINA
TRIMETOPRIMA/SULFAMETOXAZOL
COLISTINA
FOSFOMICINA
TETRACICLINA**
AZITROMICINA (só em Salmonella)

β-lactâmicos

Polipeptídios

*(Ceftiofur) Se houver R a C3G → IMIPENEM

**Se houver R a TET → TIGECICLINA

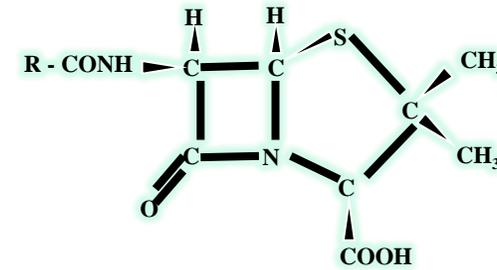


**VIGILÂNCIA
INTEGRADA DE RAM
EM ANIMAIS.**

**PAINEL DE ATB A VIGILAR EM
E. coli e Salmonella**



Antibióticos β -lactâmicos



Mecanismo de ação:

Inibição da síntese de parede bacteriana = união a PBPs

Mecanismos de resistência:

- Impermeabilidade
- Efluxo
- Modificação do local alvo: mutações nas PBPs
- Inativação enzimática = **produção de β -lactamases**

Classificação de β -lactamases

Perspectivas passadas e presentes sobre β -lactamases.
 Bush K. AAC, 2018 (62).

Characteristic active site

Molecular Class

Functional group

Major functional subgroups

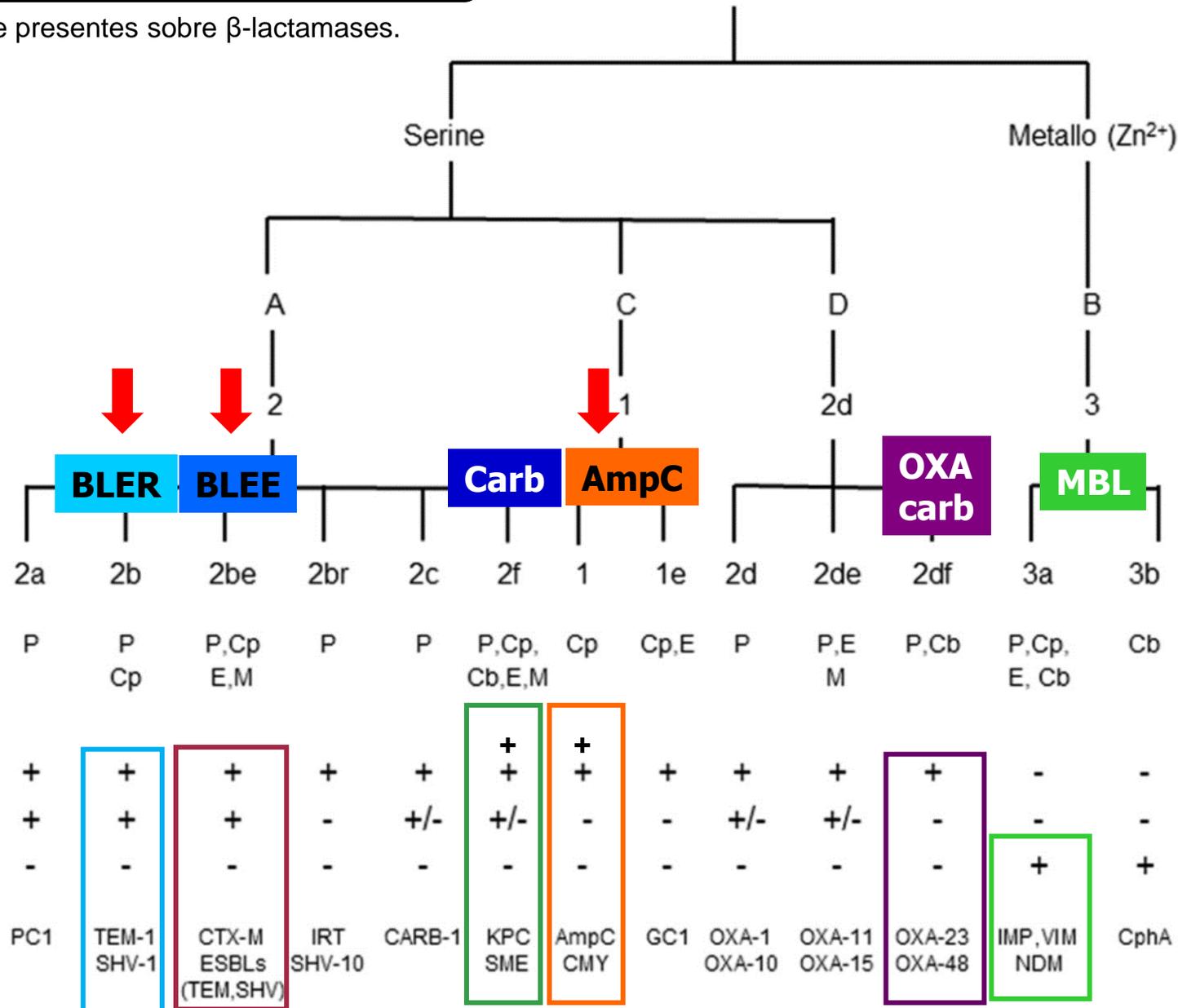
Known substrates

Inhibitor profile

	APB	AV	CA	EDTA
PC1	+	+	+	-
TEM-1 SHV-1	+	+	+	-
CTX-M ESBLs (TEM,SHV)	+	+	+	-
IRT SHV-10	+	-	-	-
CARB-1	+	+/-	-	-
KPC SME	+	+	-	-
AmpC CMY	+	-	-	-
GC1	+	-	-	-
OXA-1 OXA-10	+	+/-	-	-
OXA-11 OXA-15	+	+/-	-	-
OXA-23 OXA-48	+	-	-	-
IMP, VIM NDM	-	-	+	+
CphA	-	-	-	+

Representative enzymes or enzyme family

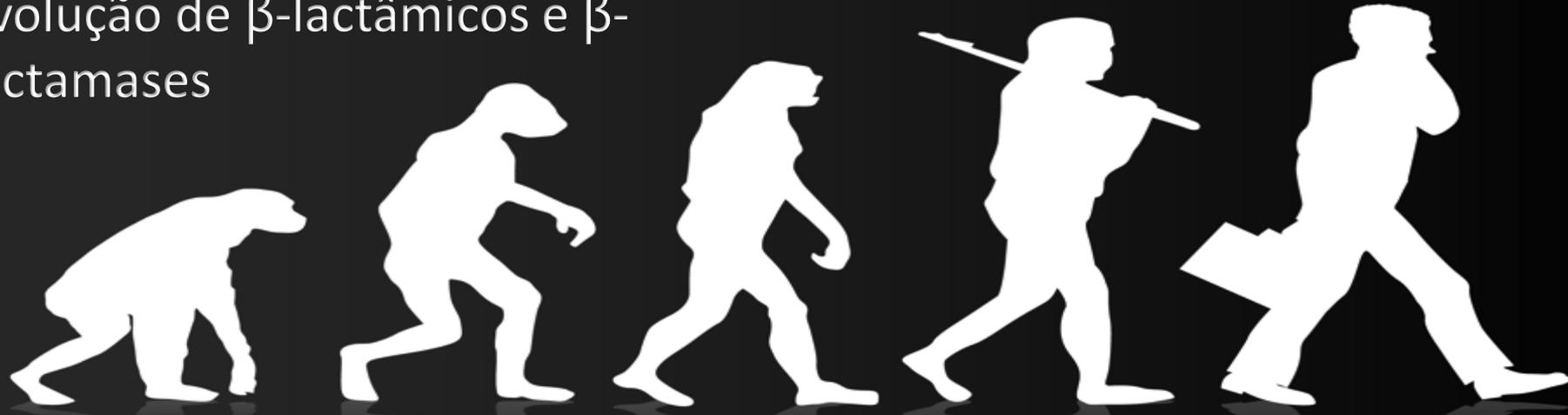
β -Lactamases



Cb, carbapenem; Cp, cephalosporin; E, expanded-spectrum cephalosporin; M, monobactam; P, penicillin.

TRABAJANDO
 JUNTOS
 PARA COMBATIR
 LA RESISTENCIA
 A LOS ANTIMICROBIAN

Evolução de β -lactâmicos e β -lactamases



PENICILINAS

**CEFALOSP.
1ª GEN**

**MONOBAC-
TAMES (AZT)**

**CEFALOSP.
3ª e 4ª GEN**

CARBAPENEMAS

β -lactamase espectro reduzido

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



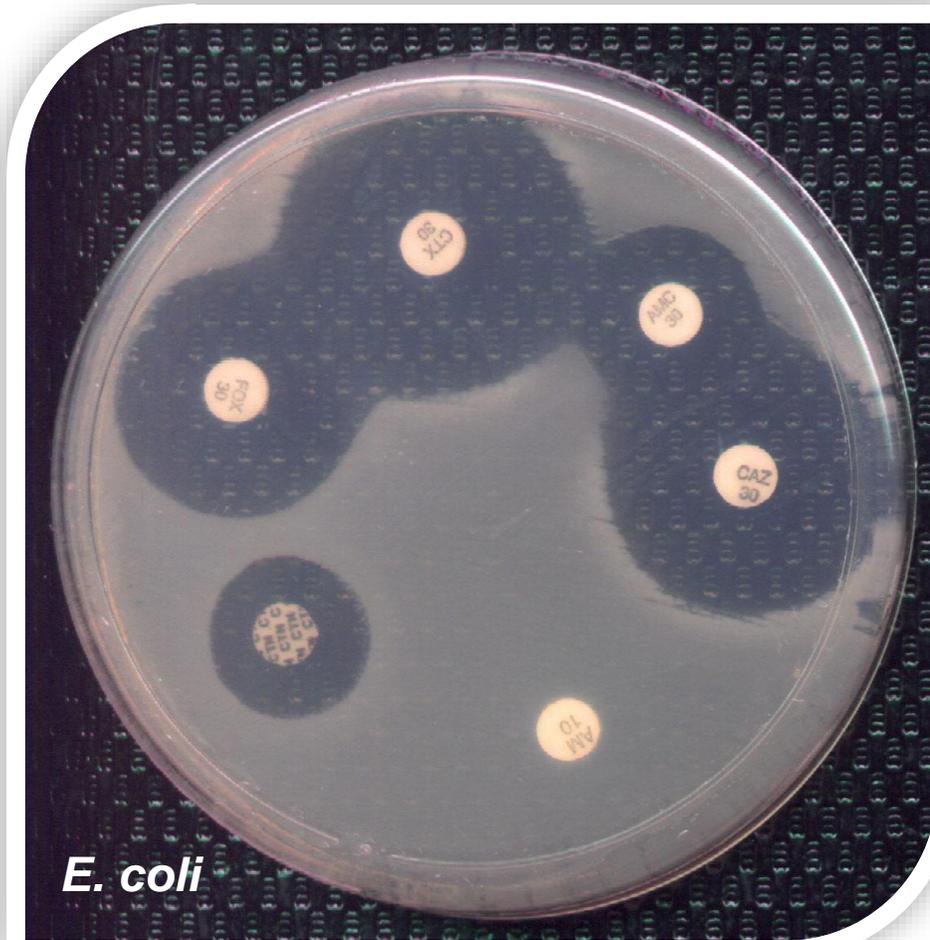
Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Como se vê uma β -lactamase de espectro reduzido?



E. coli

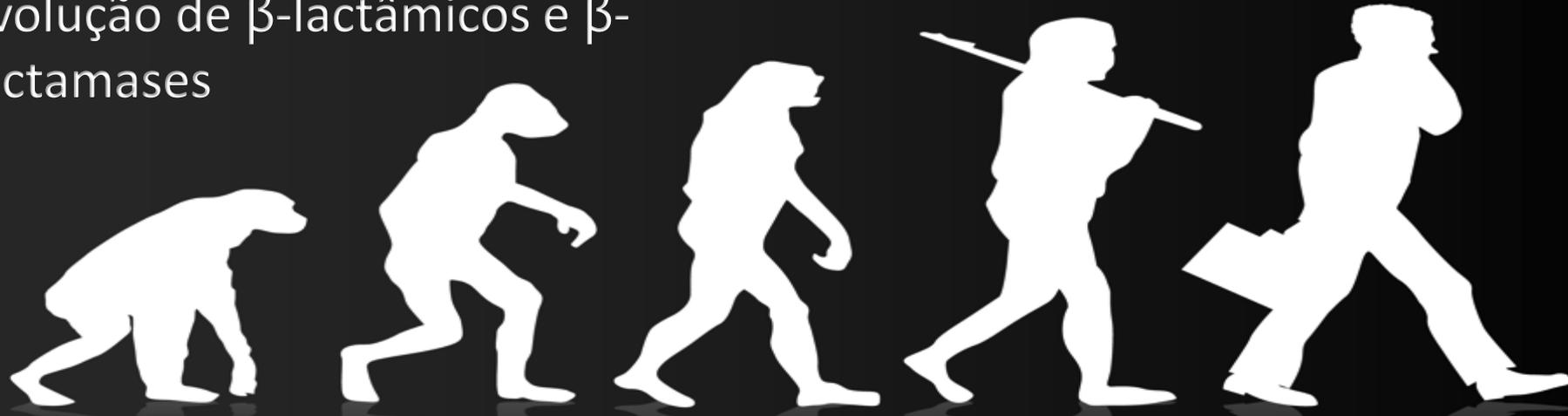
- *Grupo 2b KB: **TEM-1** TEM-2 e SHV1.
- *Muito comuns em Enterobacterales.
- *Alta prevalência em *E. coli* de humanos.

Resistência a aminopenicilinas
AMP

Sensibilidade / Sensibilidade
intermédia a C1G

Sensibilidade a C3G, C4G,
carbapenemas, combinação com
inibidores (Amoxi/clavulânico,
Pip/tazobactam, Ampic/sulbactam)

Evolução de β -lactâmicos e β -lactamases



PENICILINAS

**CEFALOSP.
1ª GEN**

**MONOBAC-
TAMES (AZT)**

**CEFALOSP.
3ª e 4ª GEN**

CARBAPENEMAS

β -lactamase espectro reduzido

β -lactamase espectro estendido (BLEE) / AmpC

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



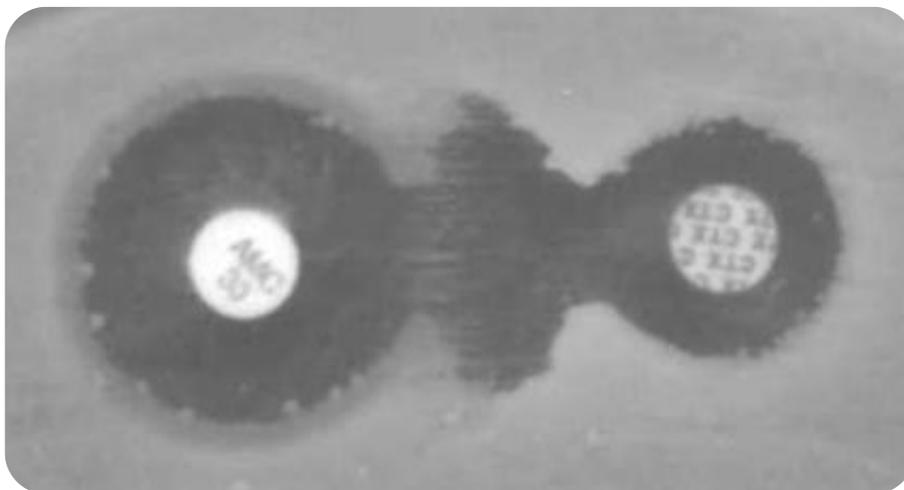
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Como se vê uma β -lactamase de espectro estendido (BLEE)?

*Grupo 2be KB: **TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, OXAs**



Resistência a AMP, C1G, C2G, C3G, C4G.

Sensibilidade ou valores intermédios a AMC, PTZ, AMS.

Sensibilidade a FOX e carbapenemas

Inibem-se por CLAVULÂNICO, SULBACTAM, TAZOBACTAM

CTX-M é a BLEE mais prevalente em Eco e Salmonella no âmbito mundial.

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

DISTANCIAS DE CENTRO A CENTRO

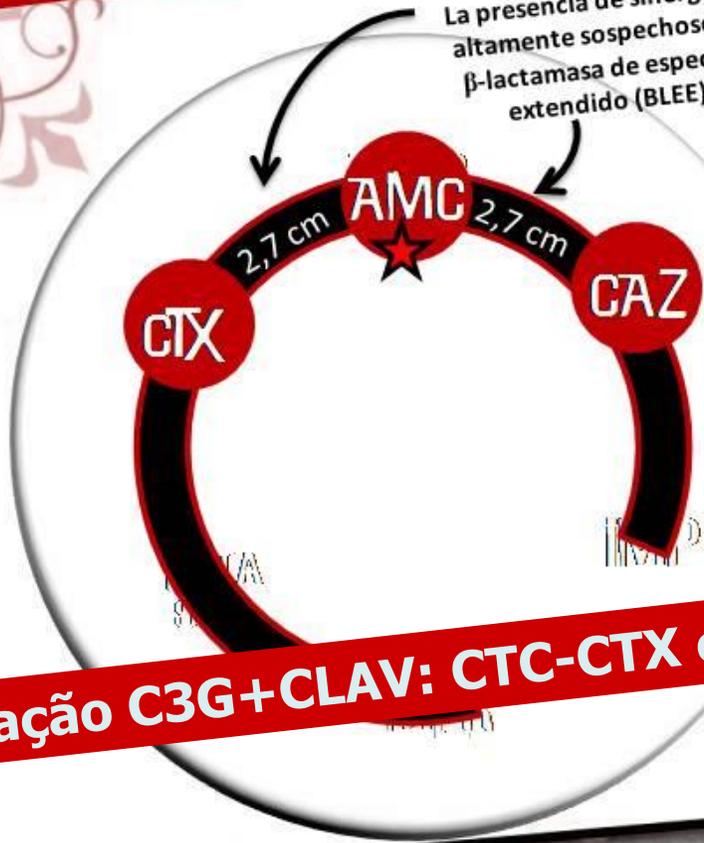
MER: meropenem; IMP: Imipenem; CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; AMC: amoxicilina+clavulánico; EDTA/ISMA: Lee K., J. Clin. Microbiol 41, 4623; 2003

COLOCACION ESTRATEGICA de DISCOS

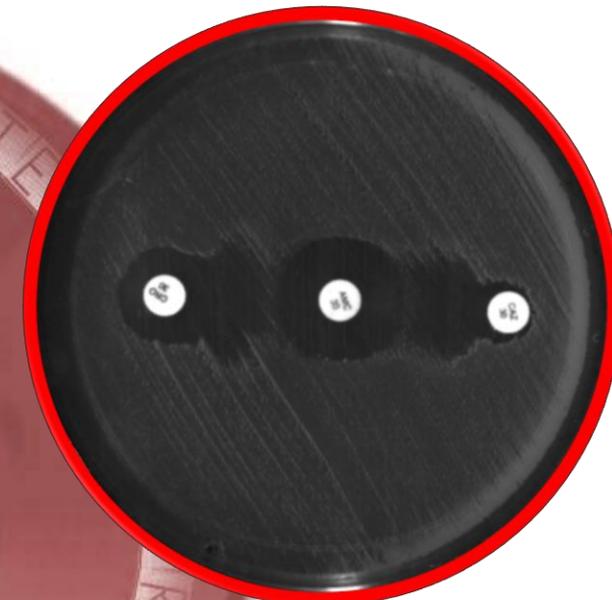
Año 2008

Diseñado para la búsqueda de mecanismos de resistencia en Argentina o demás países de la Región que presenten similar epidemiología.

CTX ≤ 27mm. CAZ ≤ 22mm
La presencia de sinergia es altamente sospechoso de β-lactamasa de espectro extendido (BLEE)



Combinación C3G+CLAV: CTC-CTX e CAC-CAZ $\Delta \geq 5\text{mm}$



Si se disponen de discos de CTX/Clav y CAZ/Clav realizar el siguiente esquema de colocación de discos: MER-(15mm)-EDTA/SMA-(15mm) CTX/CLAV-(27mm)-CAZ-(20mm)-IMP-(20mm)-AMC-(27mm)-CTX



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

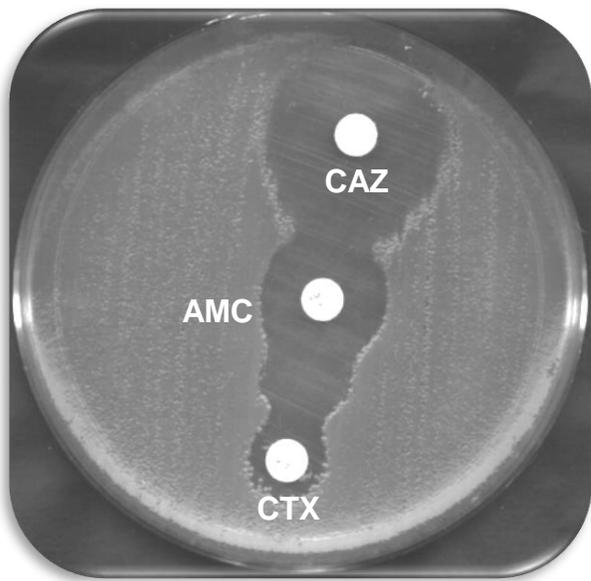


ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro

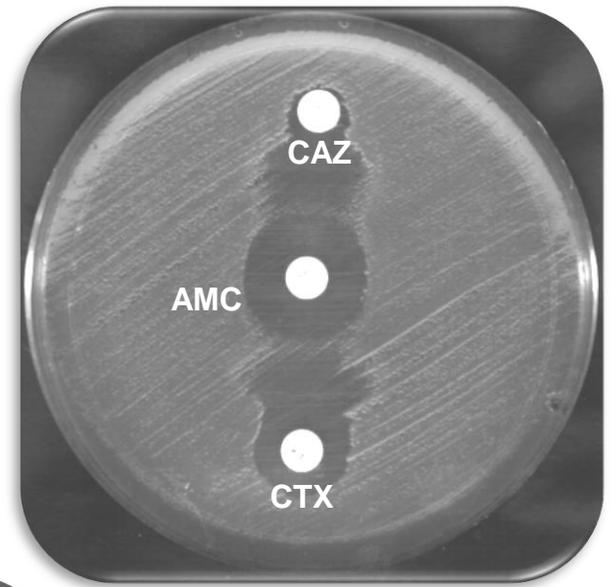


Unión Europea

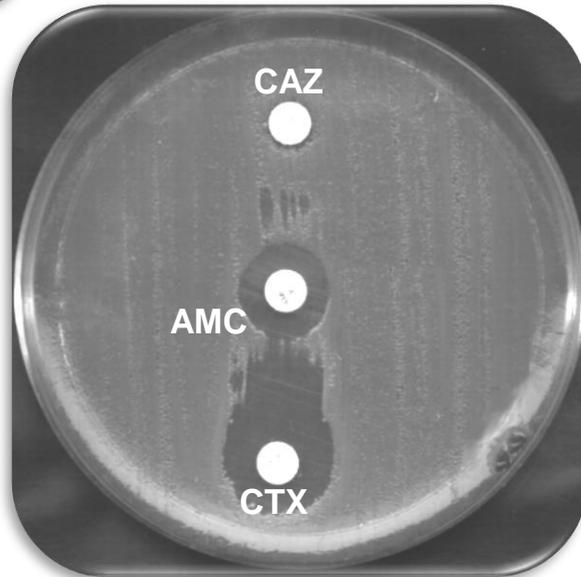
Diferentes BLEE: Diferentes Fenótipos



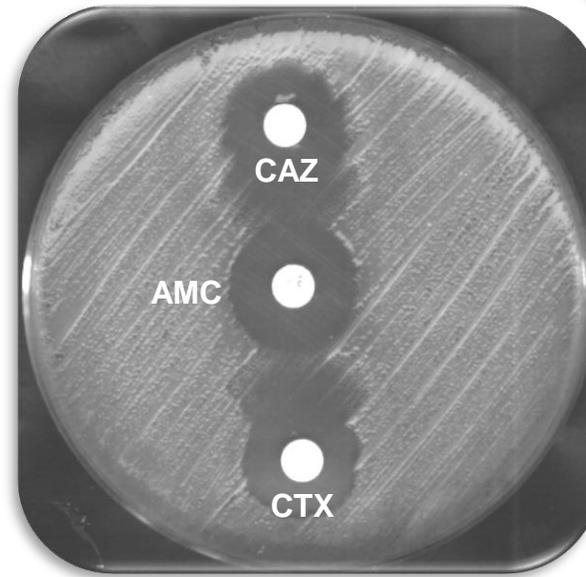
E. coli CTX-M



E. coli PER-2



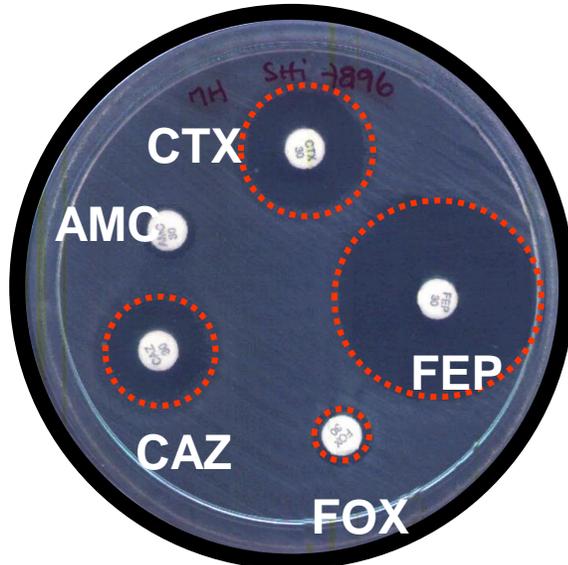
E. coli SHV-5



E. coli SHV-2

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Como se vê uma β -lactamase tipo AmpC em *E. coli* ou *Salmonella*?



*Grupo 1/Classe C: Cromossômica ou Plasmídica.
*Inibe-se por **Ac. Fenil Borônico (APB)**,
Avibactam.

E. coli possui AmpC cromossômico basal.

Resistência
AMP, C1G, AMC, FOX

Sensibilidade Intermédia ou Resistência a
C3G

Sensibilidade
FEP (C4G), carbapenemas

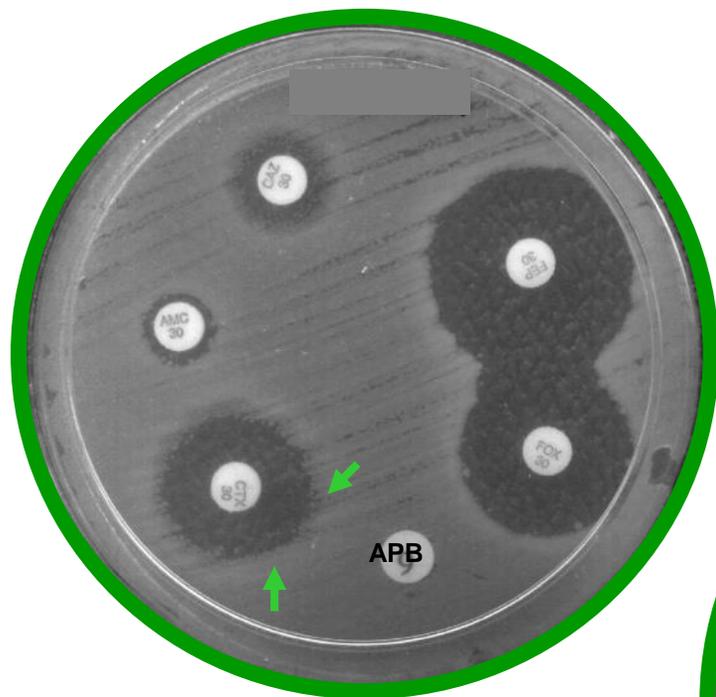
Famílias de AmpC
plasmídicas
descritas:
ACC, ACT, BIL,
CMY, DHA, FOX,
LAT, MIR, MOX



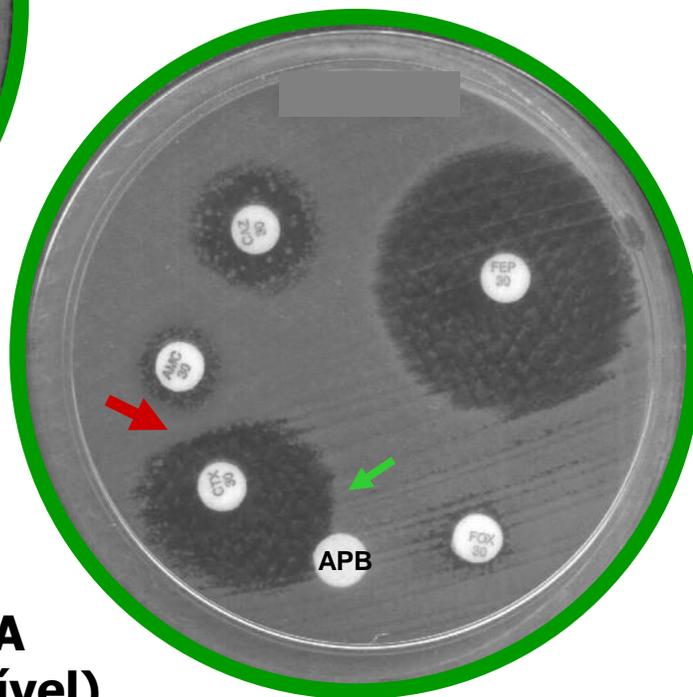
TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

β -lactamases plasmídicas tipo AmpC

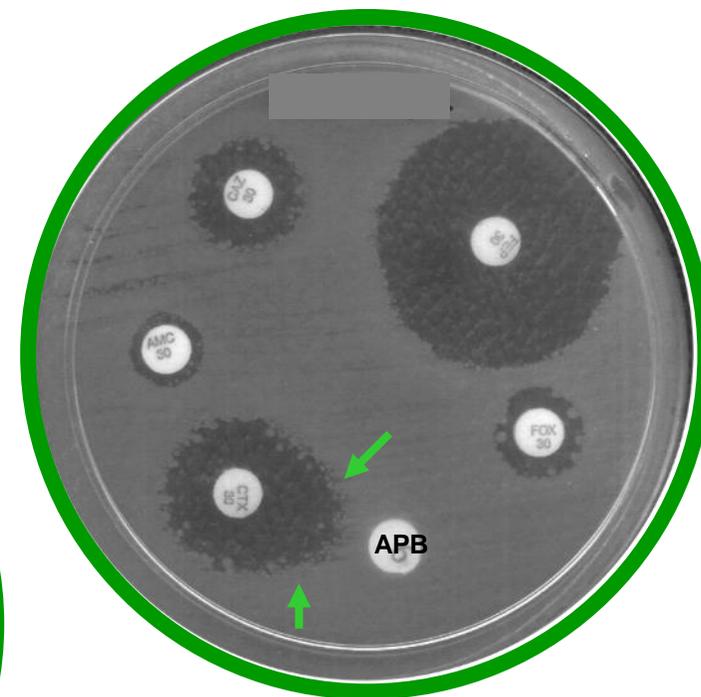
Detecção com Ac. Fenil-Borônico



ACC-1
(FOX sensível)



DHA
(induzível)



CMY-2

APB: Ácido Fenil-Borônico

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

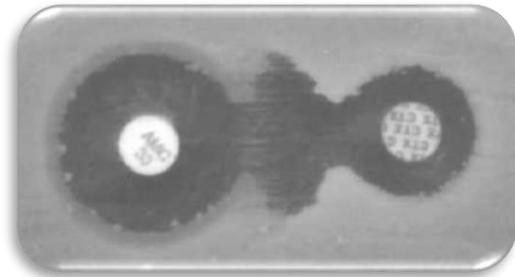
Suspeita de BLEE ou AmpC

E. coli / *Salmonella* R a C1G

**1) Suspeita de BLEE
R a C3G?**

Avaliar sinergia CTX-AMC-CFR

BLEE POSITIVA

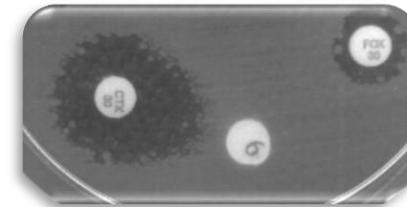


BLEE NEG

**2) Suspeita de AmpC
R/I a FOX?**

Avaliar sinergia FOX-APB-C3G

**β -lactamase
tipo AmpC**



- ✓ *Salmonella*: fenótipo AmpC significa aquisição de AmpC plasmidial.
- ✓ *E. coli* não há forma de diferenciar fenotipicamente entre AmpC plasmidial e Hiperprodução de AmpC cromossômico.

CTX cefotaxima
CFR ceftiofur
FOX cefoxitina

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Método de

Hodge

Detecção de resistência enzimática

1. Esfregar

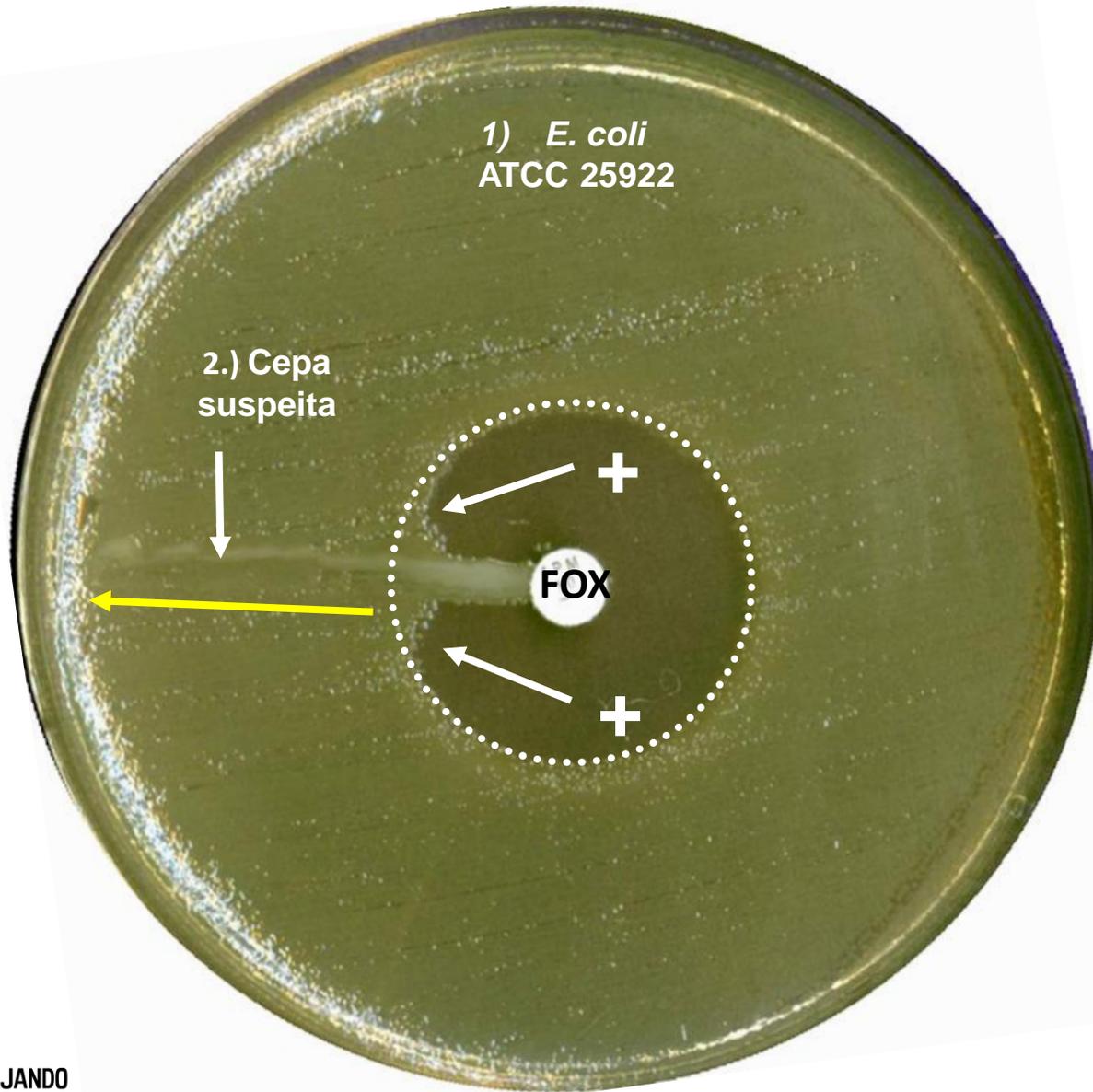
E. coli ATCC 25922

2. Realizar uma estria com
cepa suspeita a partir do centro
para a periferia (cultura fresca)

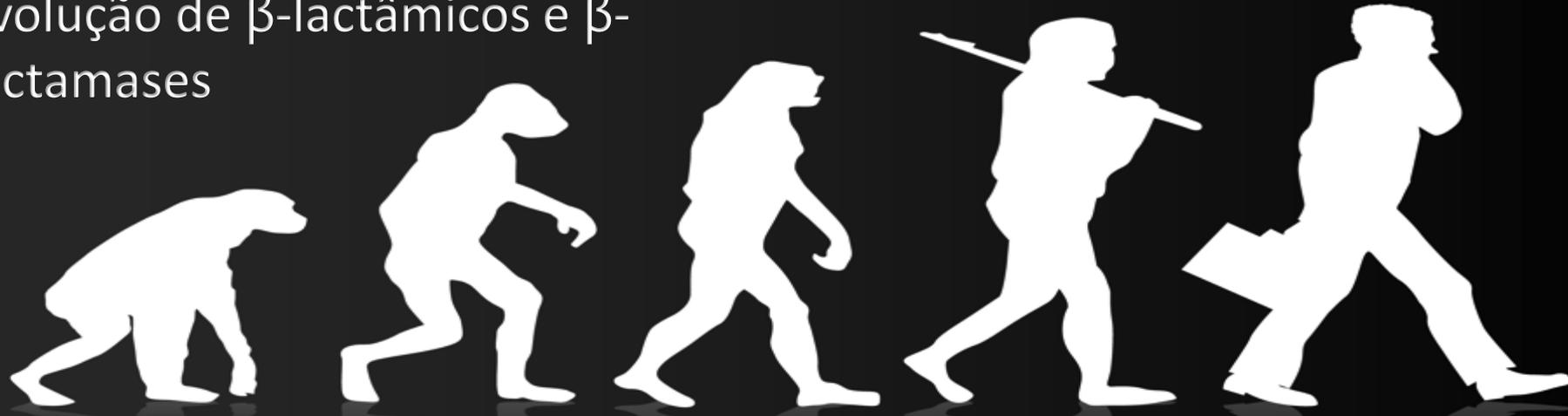
3. Colocar disco

4. Incubar 18h 35°C

Para detectar AmpC plasmidial:
usar o disco de FOX



Evolução de β -lactâmicos e β -lactamases



PENICILINAS

**CEFALOSP.
1ª GEN**

**MONOBAC-
TAMES (AZT)**

**CEFALOSP.
3ª e 4ª GEN**

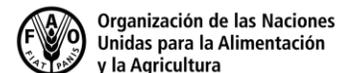
CARBAPENEMAS

β -lactamase espectro reduzido

β -lactamase espectro estendido (BLEE)

Carbapenemases

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Principais Carbapenemases adquiridas

Grupo 2f, Classe A

SERINO enzimas.

KPC

R a carbapenemas,
C3G , C4G e AZT

Inibidor: APB, AVI

Carbapenemes: Imipenem, Meropenem, Ertapenem
C3G/C4G: cefalosporinas de 3era/4ta geração;
AZT: aztreonam; APB: ácido fenil borônico; AVI: avibactam

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

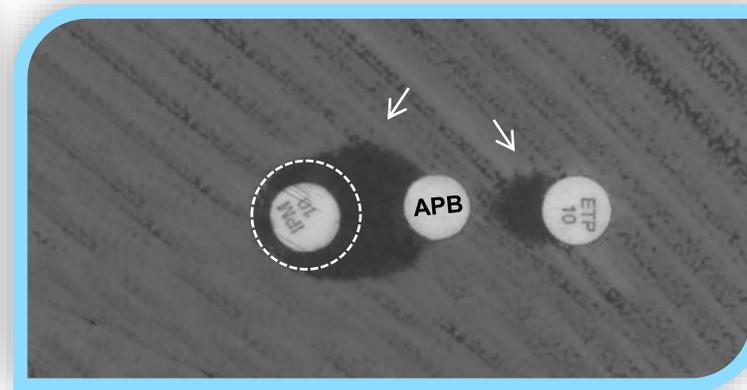
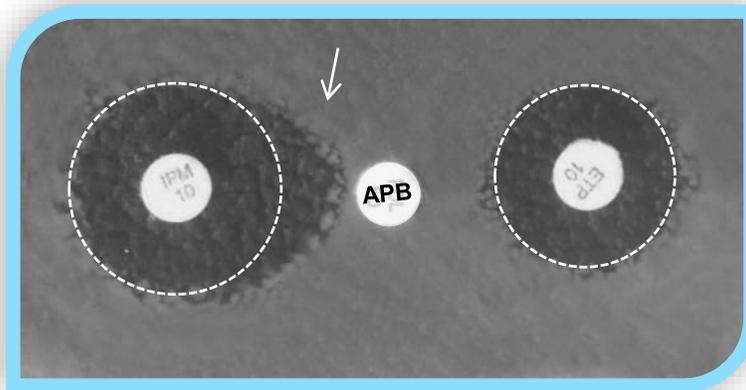
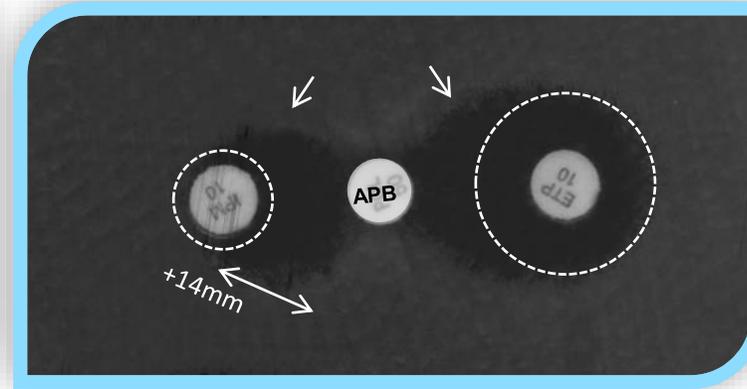
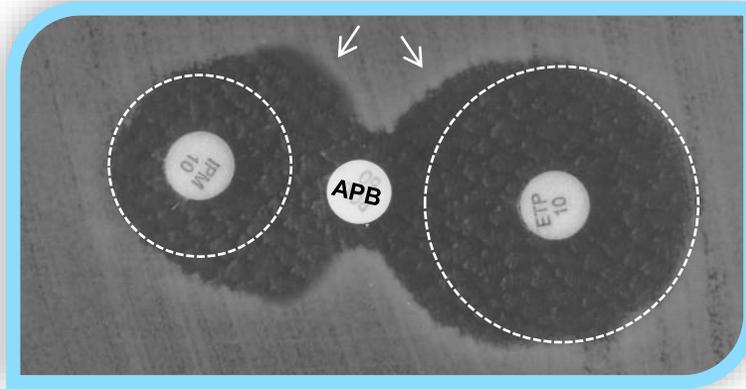


ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Detecção de carbapenemases classe A com discos de APB



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Principais Carbapenemases adquiridas

Grupo 2f, Classe A

SERINO enzimas.

KPC

R a carbapenemas,
C3G , C4G e AZT

Inibidor: APB, AVI

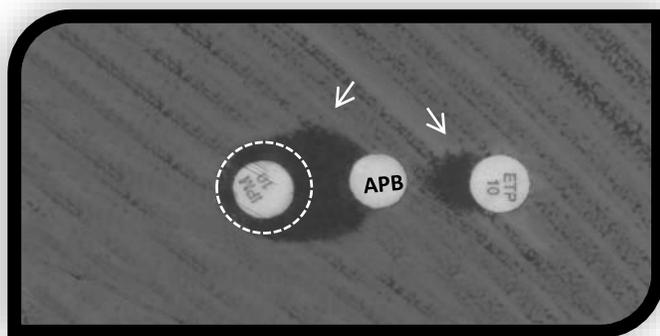
Grupo 3, Classe B

METALO enzimas.

VIM, IMP, NDM

R a carbapenemas,
C3G e C4G
S a AZT

Inibidor: EDTA

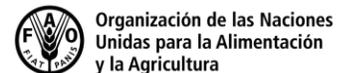


Carbapenemas: Imipenem, Meropenem, Ertapenem
C3G/C4G: cefalosporinas de 3era/4ta geração;
AZT: aztreonam; APB: ácido fenil borônico; AVI: avibactam

Detecção de MBL com discos de EDTA



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Principais Carbapenemases adquiridas

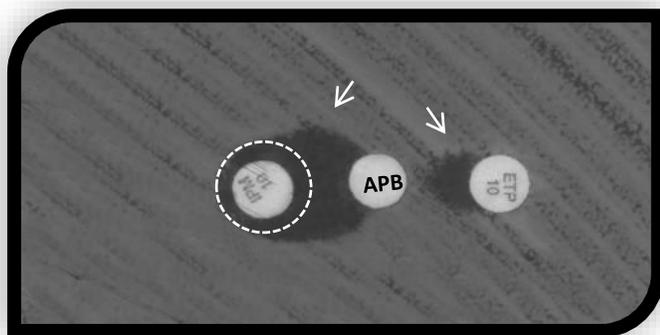
Grupo 2f, Classe A

SERINO enzimas.

KPC

R a carbapenemes,
C3G , C4G e AZT

Inibidor: APB, AVI



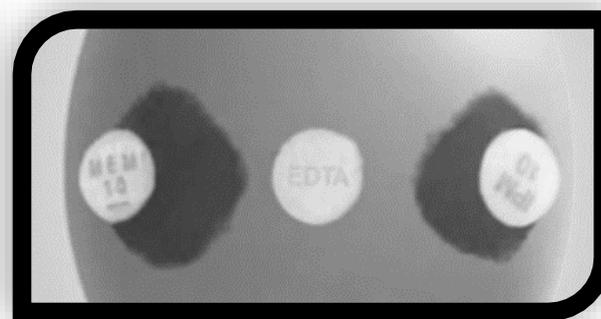
Grupo 3, Classe B

METALO enzimas.

VIM, IMP, NDM

R a carbapenemes,
C3G e C4G
S a AZT

Inibidor: EDTA



Grupo 2df, Classe D

SERINO enzimas.

OXA-48like/OXA-163

R a carbapenemes,
C3G e C4G

Inibidor: AVI +/-

Carbapenemas: Imipenem, Meropenem, Ertapenem
C3G/C4G: cefalosporinas de 3era/4ta geração;
AZT: aztreonam; APB: ácido fenil borônico; AVI: avibactam

Métodos de Detecção de carbapenemases

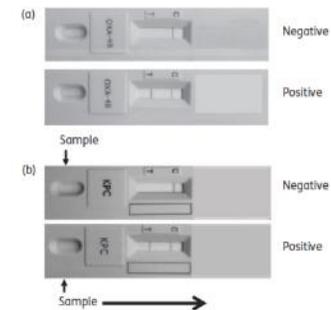
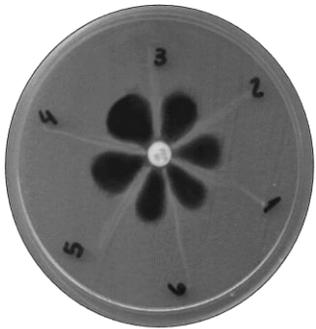
Métodos fenotípicos

Hodge Teste / THT

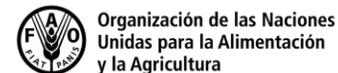
mCIM/eCIM

Métodos colorimétricos

Métodos Imunocromatográficos

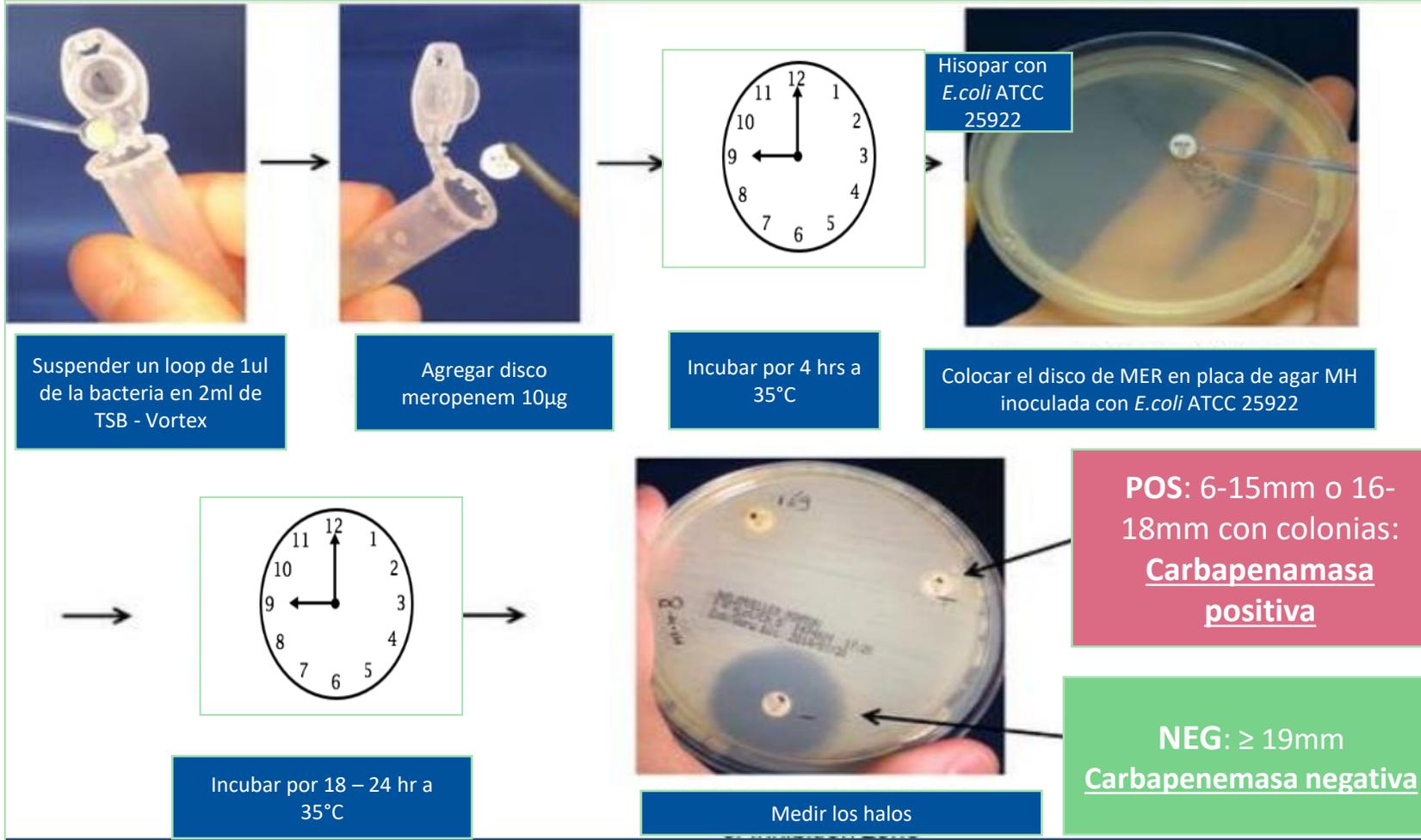


TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



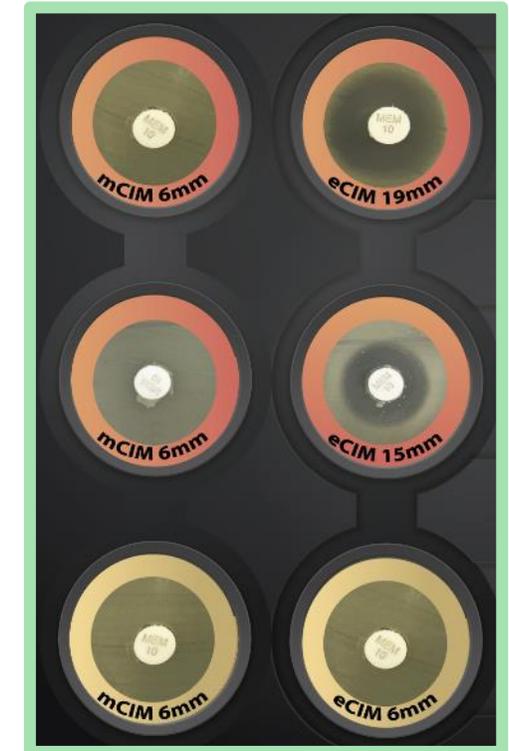
mCIM/eCIM

CLSI M100



eCIM: agregar un 2do tubo con 20ul de EDTA 5mM. Realizar mCIM em paralelo.

Δ eCIM-mCIM ≥ 5 mm = MBL



TRABAJANDO JUNTOS PARA COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

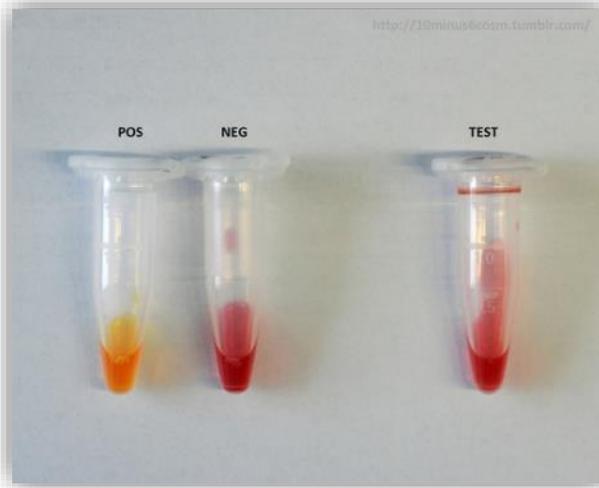
Métodos colorimétricos

Control	Reacción	
		(+) <i>Ps. aeruginosa</i> KPC
		(+) <i>Ps. aeruginosa</i> VIM
		(-) <i>E. cloacae</i> AmpC+CTXM
		(-) <i>E. coli</i> OXA-163
		(+) <i>K. pneumoniae</i> NDM



BlueCarbaTeste

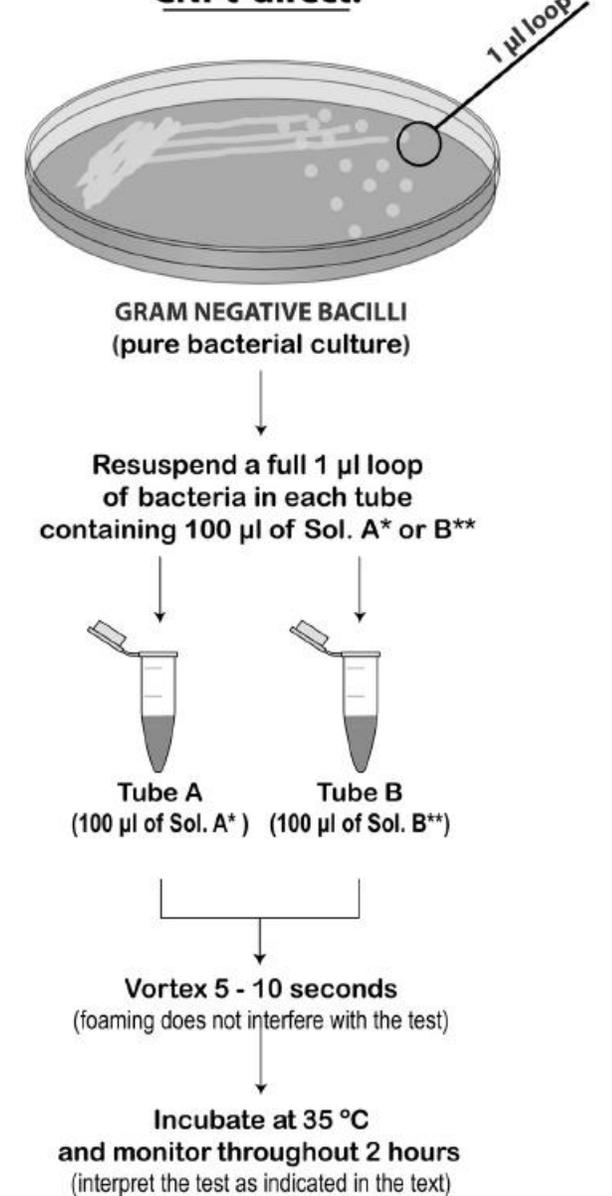
- ✓ Um resultado positivo de um método colorimétrico indica a presença de carbapenemase. Pelo contrário, um resultado negativo, requer a avaliação do fenótipo completo para definir a presença ou a ausência de carbapenemase.
- ✓ Alguns alelos de carbapenemase de tipo OXA podem não ser detectados por estes métodos.



CarbaNP-direct



Rapidec CarbaNP® bioMérieux



Métodos Immunocromatográficos

Métodos ultra rápidos: 15min.

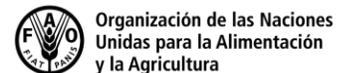


Resist O.O.K: OXA-48, OXA-163, KPC



NG-teste 5: KPC, OXA-48like, VIM, IMP, NDM

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Muito Obrigado!

Serviço Antimicrobianos
INEI-ANLIS “Dr C. G. Malbran”

www.antimicrobianos.com.ar
rapoport@anlis.gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea