

AVALIAÇÃO DE NOVO SISTEMA MOLECULAR NA DETECÇÃO DE GENES CODIFICADORES DE CARBAPENEMASES EM SWAB RETAL

Flavia Rossi, Ana Paula Cury, Maria Renata Gomes Franco, Marcia Maffucci, João de Almeida Nóbrega Junior, Thais S Romano Di Gioia, Alberto Jose da Silva Duarte
Laboratório de Microbiologia – HCFMUSP

Introdução

- ▶ Atualmente diferentes hospitais brasileiros enfrentam o desafio de conter a disseminação de isolados de bactérias que contenham genes codificadores de carbapenemases.
- ▶ Estes isolados associados às infecções possuem uma alta taxa de mortalidade atribuída além da necessidade de isolamento que onera o sistema de saúde.
- ▶ A detecção de pacientes colonizados por estes genes também é um desafio diagnóstico e de alto custo laboratorial e eficácia e o tempo de retorno do resultado são fundamentais.

Cultura de Vigilância Enterobacterias Resistentes a Carbapenem (CRE) no HC-FMUSP



- Swab retal
- Swab axilar
- Swab virilha/períneo

PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS CARBAPENEM RESISTENTES, SWAB RETAL

Coletado em: 16/11/2011 10:54

Resultado

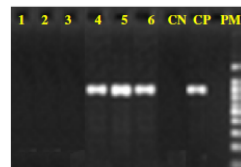
1 - *Klebsiella pneumoniae*

Legenda

S - Sensível

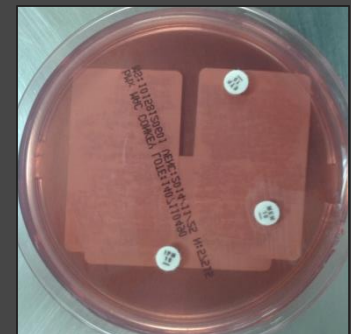
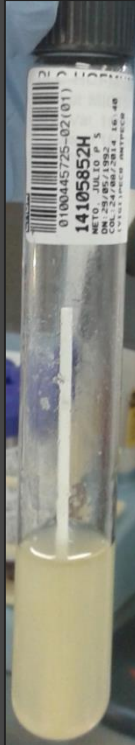
ANTIBIOGRAMA		1
COLISTINA		<=0,5
ERTAPENEM		>=8 R
IMIPENEM		8 R
MEROPENEM		4 R

Resultados



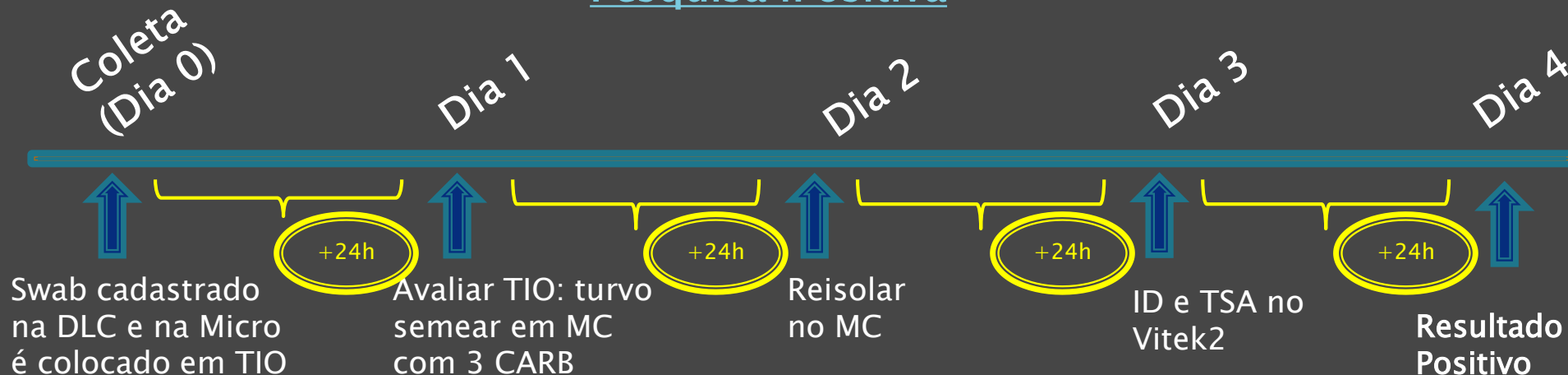
AMPLICON
KPC : 859pb

Coluna CP: controle positivo (cepa 473893);
Coluna CN: controle negativo ATCC 25922;
Coluna PM: ladder peso molecular;
Colunas 1 a 6: Cepas isoladas das amostras clínicas d

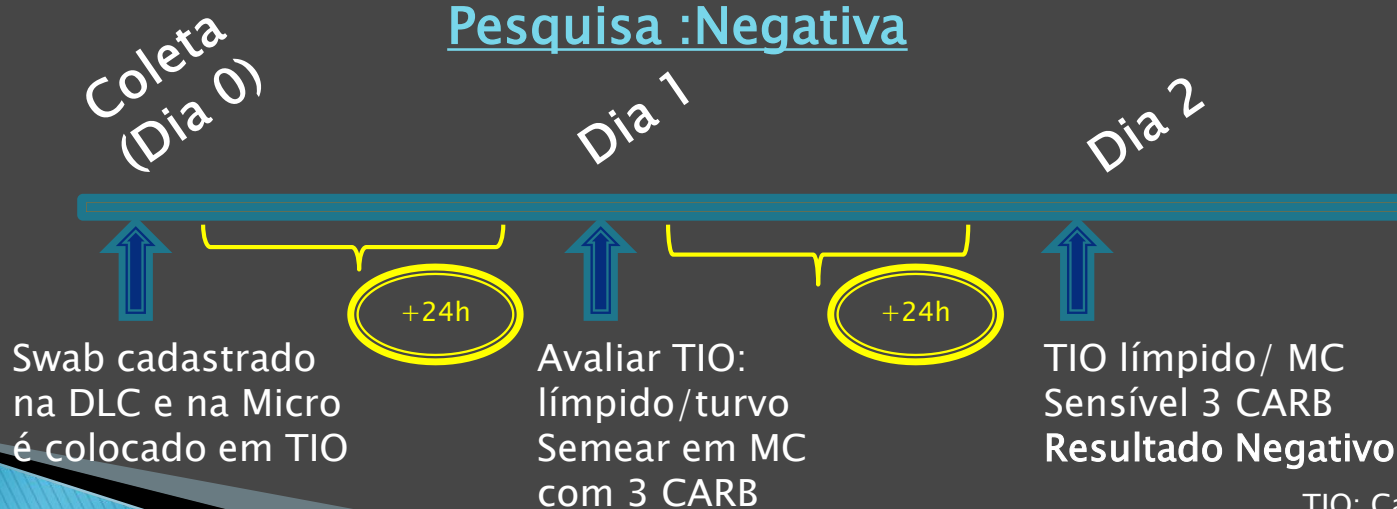


Cultura de Vigilância CRE – Time line

Pesquisa :Positiva



Pesquisa :Negativa



TIO: Caldo Tioglicolato
MC: ágar Mac Conkey
CARB: Carbapenemicos

Objetivo

- ▶ Avaliar um novo sistema molecular de detecção rápida de genes de carbapenemases a partir de amostras de swabs retais enviadas para cultura de vigilância CRE.

Métodos – BD MAX[®] (Becton Dikson)

- ▶ PCR Real time
- ▶ Não necessita de sala pré e pós PCR. (sala única)
- ▶ Tempo de processamento total: ~2:30 horas
- ▶ Registro na ANVISA nº 10033430638
- ▶ Kit CRE RUO
- ▶ (KPC, NDM e OXA-48)



Métodos – BD MAX

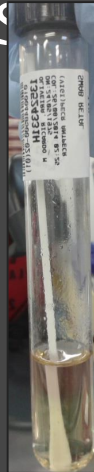


Métodos

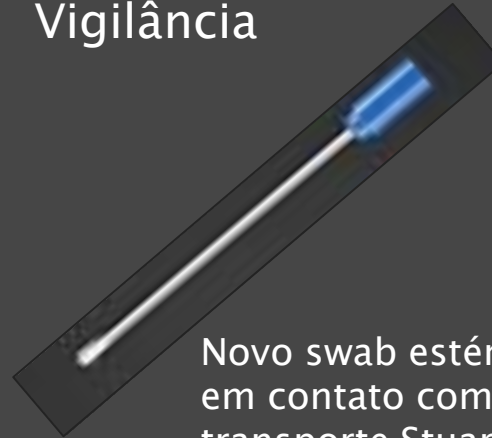
- Foram selecionados prospectivamente 64 swabs retais, enviados para a rotina de Vigilância CRE ao laboratório de Microbiologia HCFMUSP



Swab retal no meio de transporte Stuart



Fluxo
Vigilância



Novo swab estéril foi colocado em contato com o meio de transporte Stuart

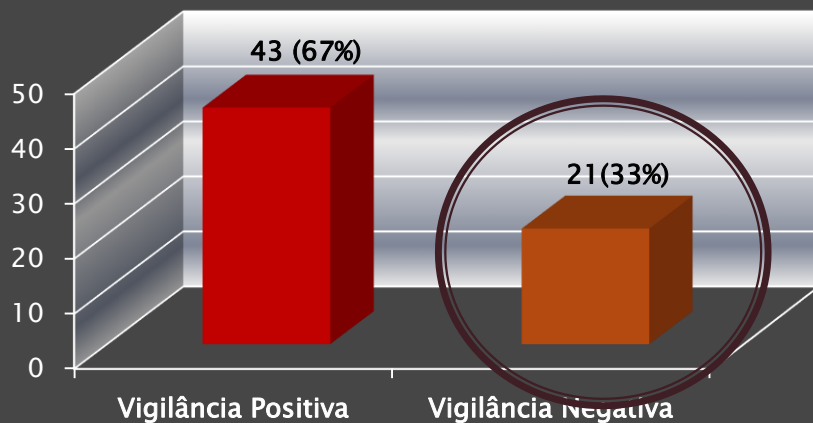


Métodos

- ▶ Avaliamos a correlação dos resultados da cultura de vigilância tradicional para CRE e PCR KPC convencional com o BD MAX (qPCR) bem como o impacto do tempo de liberação entre os métodos

Resultados

Cultura de Vigilância (N-64)



BD MAX do swab
foi negativo
para KPC, NDM
e OXA-48 em
todas (N-21)

? Carbapenemase

? Carbapenemase

BD MAX ágar MC*

100% Negativo

MHT**

100% Negativo

PCR

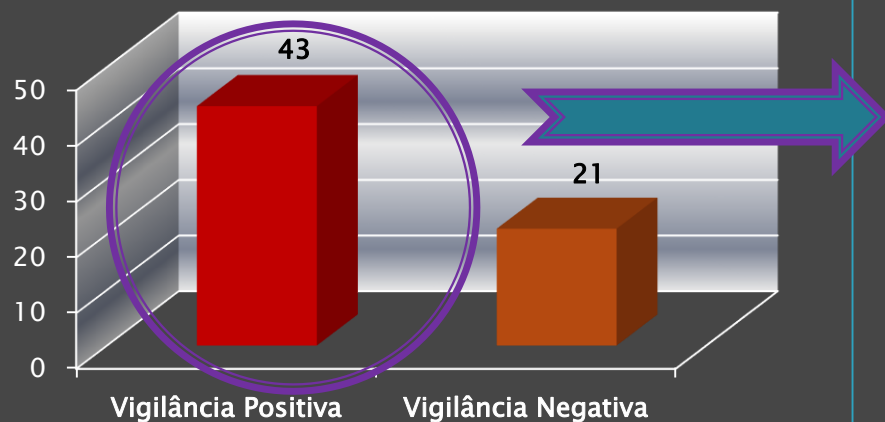
**100%
Negativo**

* Mac Conkey; ** Teste de Hodge modificado

Laboratório de Microbiologia HC-FMUSP

Resultados

Cultura de Vigilância (N=64)



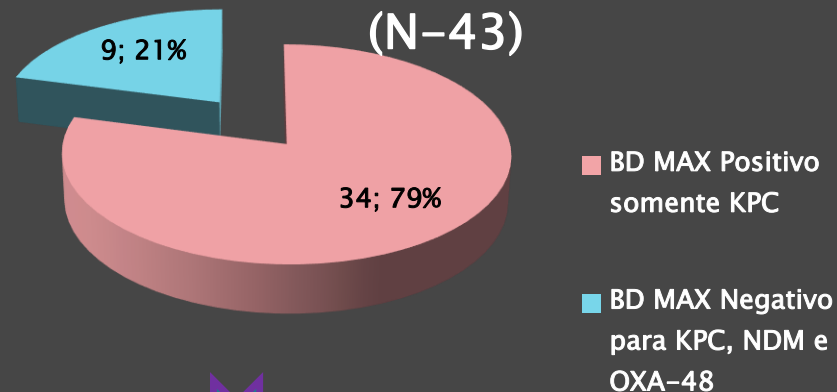
CRE

?

Carbapenemase

Resultado BD MAX swab

(N=43)



	BD MAX ágar MC* (N-43)	MHT**	PCR KPC
Presença de KPC	33/34 (97%)	33 (97%) Positivo	33 (97%)
Ausência de KPC, NDM e OXA-48	9/9 (100%)	9 (100%) Negativo	9 (100%)

* Mac Conkey; ** Teste de Hodge modificado

Resultados

64 swabs retais	BD MAX swab(N-64)	BD MAX ágar MC**	MHT*	PCR KPC
Presença somente de KPC	34 (53%)	33/34 (97%)	33/34 (97%)	33/34 (97%)
Ausência de KPC, NDM e OXA-48	30 (47%)	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)

* Mac Conkey; ** Teste de Hodge modificado

	Quantidade	MHT	PCR KPC
Acurácia BD MAX swab	63/64	98,4%	98,4%
Acurácia BD MAX MC	64/64	100%	100%

64 swabs retais	BD MAX KPC (N-64)
Sensibilidade	100%
Especificidade	96,8%
Valor Preditivo Positivo	97%
Valor Preditivo Negativo	100%

Resultados: Cultura de Vigilância– Time line

Pesquisa :Positiva

Coleta
(Dia 0)

Dia 1

Dia 2

Dia 3

Dia 4

Swab cadastrado
na DLC e na Micro
é colocado em TIO

+24h

Avaliar TIO: turvo
semear em MC
com 3 CARB

+24h

Reisolar
no MC

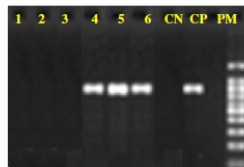
+24h

ID e TSA no
Vitek2

+24h

Resultado
Positivo

Resultados



Coluna CP: controle positivo (cepa 473893);
Coluna CN: controle negativo ATCC 25922;
Coluna PM: ladder peso molecular;
Colunas 1 a 6: Cepas isoladas das amostras clínicas d

AMPLICON
KPC : 859pb

PCR gene KPC

+ 1
semana

PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS CARBAPENEM RESISTENTES, SWAB RETAL

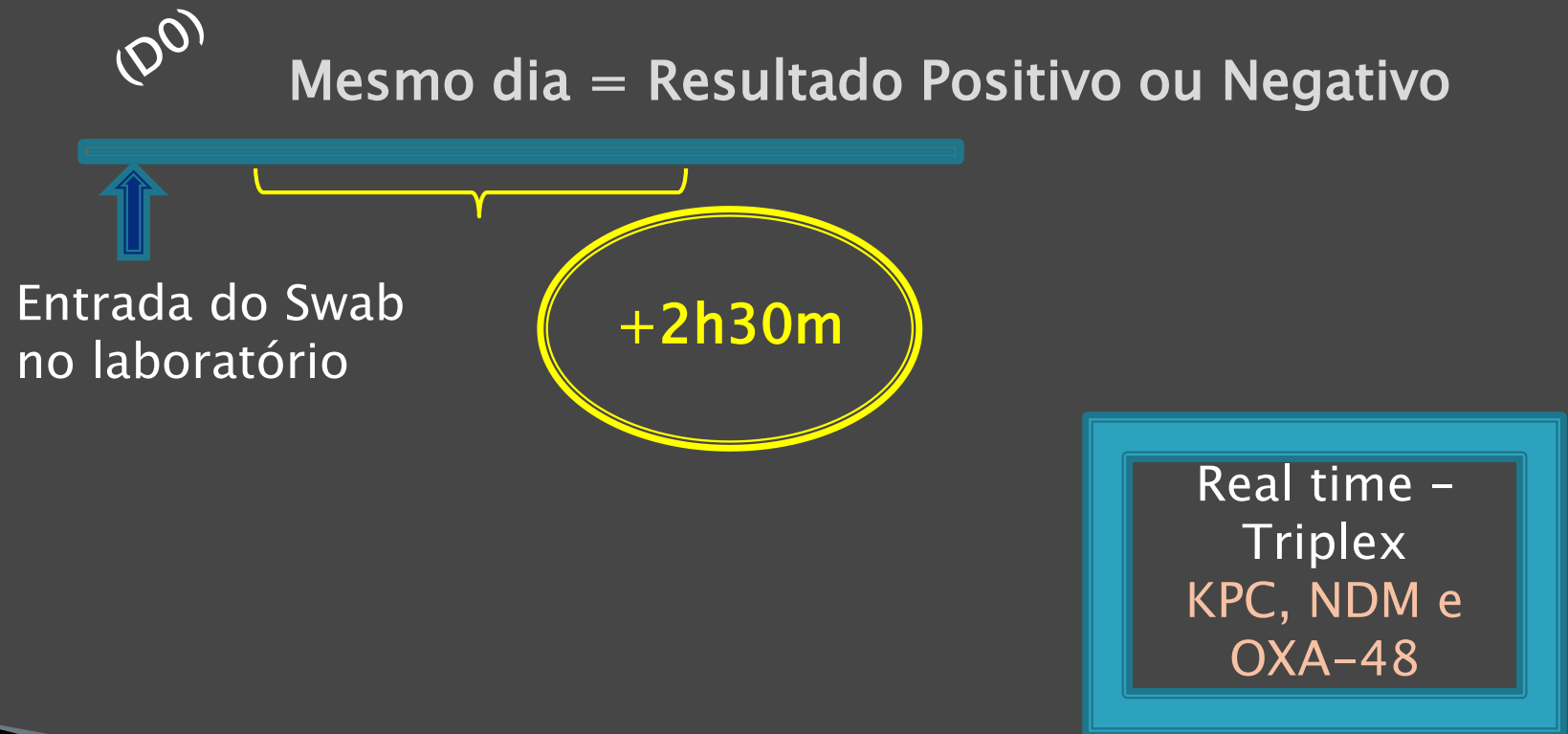
Coletado em: 16/11/2011 10:54
Resultado

1 - *Klebsiella pneumoniae*

Legenda

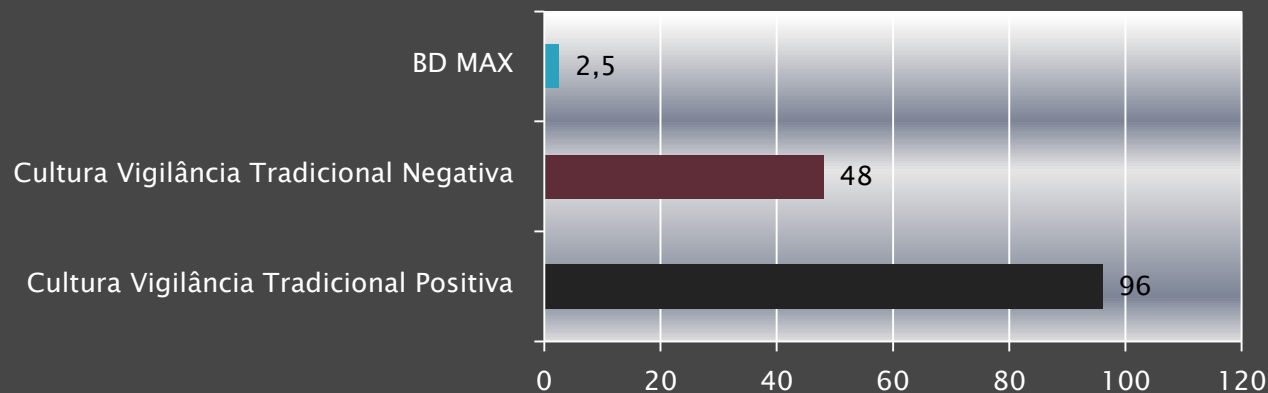
ANTIBIOGRAMA		1
COLISTINA		<=0,5
ERTAPENEM		>=8 R
IMIPENEM		8 R
MEROPENEM		4 R

Resultados: BD MAX – Time line

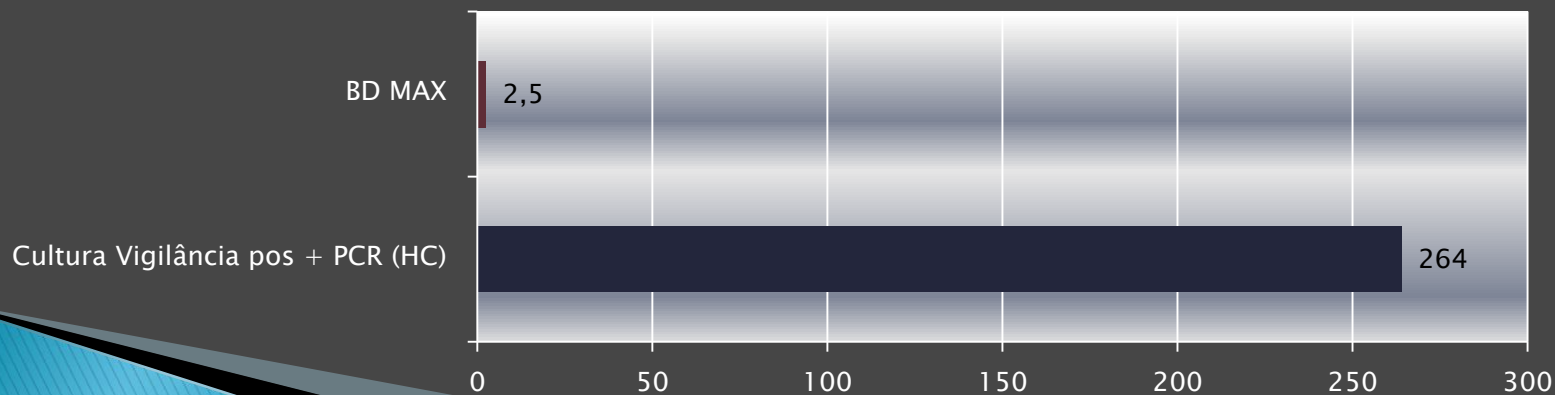


Resultados

Tempo de Liberação em horas BD MAX swab e Cultura de Vigilância



Tempo de liberação em horas BD MAX swab e Cultura de Vigilância + PCR (HC)



Conclusão

- ▶ O BD MAX apresentou excelente acurácia diagnóstica para detecção de KPC a partir da bactéria isolada e também diretamente do swab retal;
- ▶ É um equipamento de fácil manipulação e requer infraestrutura básica disponível na maioria dos laboratórios de microbiologia de rotina;
- ▶ Apesar de custos diretos mais elevados quando comparados com a cultura de vigilância tradicional o benefício é medido diretamente na agilidade de gerenciamento de leitos de isolamento com redução de custos institucionais e aprimoramento assistencial.

Obrigada !

ana.cury@hc.fm.usp.br