

Associação de ISAb_a1 com *bla*_{oxa 51} em isolados clínicos e de efluente hospitalar de *Acinetobacter baumannii*

Bertholdo, Lauren Martins¹, Gusatti, Carolina de Souza², Corção, Gertrudes³.

Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia / ICBS – UFRGS.

E-mail: Laurenbertholdo_11@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O gênero *Acinetobacter* está amplamente distribuído na natureza, principalmente em ambientes aquáticos e naturalmente resiste ao dessecamento e à amplas faixas de temperatura e pH, facilitando, dessa maneira, seu desenvolvimento em ambientes hostis, como o hospitalar, onde pode ser transmitido por intermédio de profissionais e pacientes, através de fômites. Nas últimas décadas, as infecções causadas por *Acinetobacter* spp. mostram-se cada vez mais graves, em razão do aparecimento de cepas resistentes a terapia antimicrobiana. A capacidade de adquirir resistência a terapia antimicrobiana torna-se uma das características mais estudadas em *Acinetobacter* sp, mundialmente conhecido por estar relacionado a surtos de infecções associadas à assistência a saúde (IAAS) e por ser apontado como um grave problema de saúde pública. O surgimento de resistência às diversas classes de antibióticos, como penicilinas, cefalosporinas, quinolonas e aminoglicosídeos, os carbapenêmicos tornaram-se a terapia para esse tipo de infecção. Porém, já existem relatos de isolados desse microorganismo resistentes aos carbapenêmicos, e isso se deve, na maioria dos casos, à produção de enzimas do tipo β-lactamase. Estudos têm demonstrado que a maioria das cepas de *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos possuem genes que codificam enzimas β-lactamases do tipo OXA, subfamílias OXA-23, OXA-24, OXA-58 e OXA-51 e que sua expressão estaria relacionada a presença da sequência de inserção ISAb_a 1. O presente estudo teve por objetivo, fazer uma análise da presença da ISAb_a 1 e sua localização em isolados de *Acinetobacter baumannii* (previamente identificados pela amplificação do gene 16S rRNA e pela presença do gene *bla*_{oxa-51}) na tentativa de justificar a multirresistência encontrada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolados Bacterianos

Foram utilizados 233 isolados de *Acinetobacter baumannii*, 89 de origem clínica e 144 de efluente hospitalar resistentes aos carbapenêmicos, isolados entre 2007 e 2008. Todos os isolados foram previamente confirmados como sendo do gênero *Acinetobacter* por amplificação do gene 16S rRNA (Ferreira et al., 2007). A identificação da espécie foi realizada pela amplificação do gene *bla*_{oxa-51}.

Extração de DNA

Todos os isolados pertencentes ao estudo foram submetidos a extração orgânica de DNA seguindo o protocolo adaptado estabelecido por Sambrook e cols, (1989).

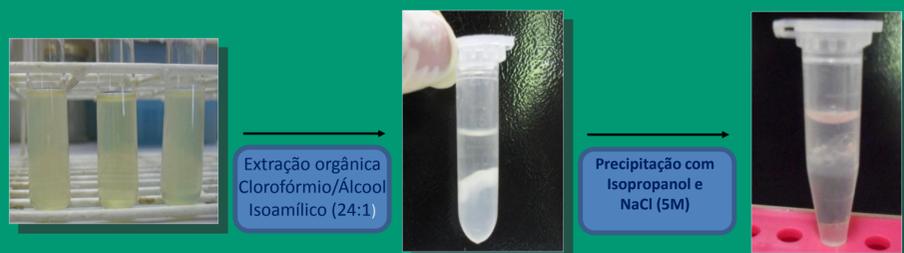


Tabela 1 : Condições da PCR

Quantidade de repetições	Ciclo	Tempo	Temperatura (°C)
1 vez	1	5 mim	95
35 vezes	2	40 seg.	94
	3	45 seg.	56
	4	3min	72
1 vez	5	5 mim	72

Foi realizada a pesquisa da associação de ISAb_a1 com o gene *bla*_{oxa-51}. A reação utilizada foi a mesma para a confirmação de ISAb_a1, modificando apenas a temperatura de anelamento para 58°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A associação ISAb_a1/OXA-51 foi encontrada em apenas 24 (26,9%) isolados clínicos e 16 (11,1%) isolados ambientais de *A. baumannii* (Figura 1).

O gene *bla*_{oxa-51} tem particular importância, uma vez que é intrínseco da espécie *Acinetobacter baumannii*. Nesta espécie pode não conferir resistência a imipenem e/meropenem, porém, passa a expressar essa resistência quando a sequência de inserção ISAb_a1 estiver presente imediatamente anterior ao gene.

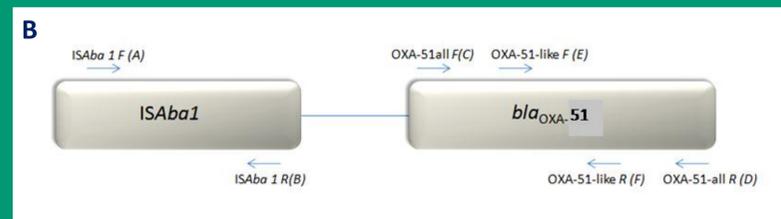
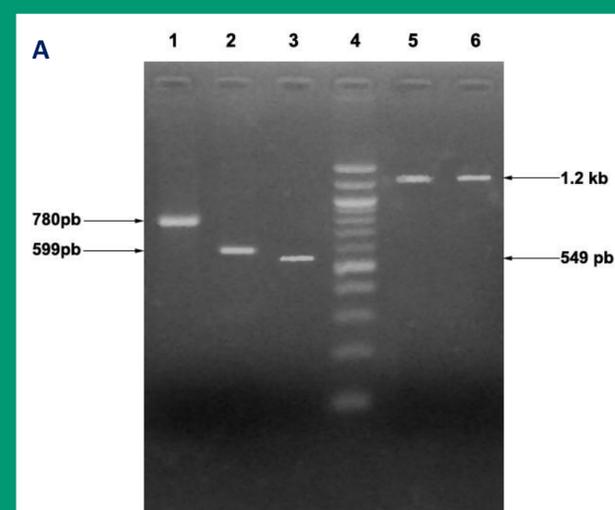


Figura 1 – Eletroforese dos fragmentos amplificados do isolado positivo para *bla*_{oxa-51} e suas relações com ISAb_a1. A – Gel de agarose 1% com os produtos de PCR obtidos usando os oligonucleotídeos iniciadores ISAb_a1, OXA-51-like, OXA-51-like-ALL e OXA-58-like B– produto de PCR do gene *bla*_{oxa-51} com os oligonucleotídeos iniciadores ISAb_a1 (A) e OXA-51-like-ALL (D) ;

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise de isolados clínicos e ambientais de *Acinetobacter* sp. realizada neste estudo teve por objetivo pesquisar genes de carbapenemases do tipo OXA-51 e ISAb_a1, bem como sua associação genética. Desde modo, conclui-se que, ISAb_a1 é um elemento frequentemente encontrado, porém sua associação com OXA-51 teve percentuais baixos, tanto em isolados clínicos como em isolados ambientais, de modo que a multirresistência encontrada nos isolados sem essa associação deve ser explicada por outros mecanismos que conferem resistência a antimicrobianos. Contudo, os resultados nos mostram que o ambiente analisado (esgoto hospitalar) constitui-se de uma fonte de dispersão de bactérias multirresistentes que albergam genes de resistência a antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, A.E.; CUNHA, G.R.; FUENTEFRIA, D.B.; CORÇÃO, G. Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em cepas de *Acinetobacter* spp isoladas de efluente hospitalar em Porto Alegre-RS. *Cad Farm*, v.23, n.1, p.9-14, 2007.

Turton, J. F., Ward, M. E., Woodford, N., Kaufmann, M. E., Pike, R., Livermore, D. M., Pitt, T.L., 2006 (a). **The role of ISAb_a1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*.** *FEMS Microbiol Lett*, v. 258(1), p. 72-7.

Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. **Molecular cloning – a laboratory manual.** 2ª ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.