

**ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO “LATO-SENSU”
ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL**

FERNANDA DE LIMA GOMES DOS SANTOS

**A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE INFECÇÕES CAUSADAS POR
Klebsiella pneumoniae PRODUTORA DE CARBAPENEMASE**

SAO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

2015

FERNANDA DE LIMA GOMES DOS SANTOS

**A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE INFECÇÕES CAUSADAS POR
Klebsiella pneumoniae PRODUTORA DE CARBAPENEMASE**

Artigo apresentado como requisito para
conclusão de Pós-Graduação
Especialização em Microbiologia Clínica e
Laboratorial – Doutora Professora
Margarete Tereza Gottardo de Almeida

SAO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

2015

SUMÁRIO

A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *Klebsiella pneumoniae* PRODUTORA DE CARBAPENEMASE

RESUMO	Erro! Indicador não definido.
ABSTRACT.....	Erro! Indicador não definido.
OBJETIVO	Erro! Indicador não definido.
1. Introdução	Erro! Indicador não definido.
1.1 Uso inadequado de Antimicrobianos.	Erro! Indicador não definido.
1.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC).....	Erro! Indicador não definido.
2. DESENVOLVIMENTO	Erro! Indicador não definido.
2.1 Gram negativos pertencentes à família Enterobacteriaceae.....	Erro! Indicador não definido.
2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC).....	Erro! Indicador não definido.
2.3 DETECÇÃO FENOTÍPICA DE PRODUÇÃO DE CARBAPENEMASES - TESTE DE HODGE MODIFICADO	Erro! Indicador não definido.
2.4 TESTES MOLECULARES – PADRÃO OURO	Erro! Indicador não definido.
2.5 MEDIDAS DE CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES	Erro! Indicador não definido.
As medidas preventivas recomendadas para combater as KPC são:.....	8
3. CONCLUSÃO	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	

A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *Klebsiella pneumoniae* PRODUTORA DE CARBAPENEMASE

RESUMO

O artigo irá relatar sobre a bactéria *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase que é uma bactéria multirresistente, considerada um dos patógenos causadores de infecções graves e que podem levar a mortalidade. Alertando a importância da coleta de culturas de vigilância, assim evitando a disseminação da bactéria. Através de medidas cabíveis de higienização das mãos dos profissionais de saúde e diminuição do contato com os pacientes infectados e ou colonizados.

Palavras chave: *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemases, teste de Hodge, blaKPC.

ABSTRACT

The article will report on *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase which is a multidrug-resistant bacteria, considered one of the pathogens causing severe infections and can lead to death. Pointing out the importance of collecting surveillance cultures, thus preventing the spread of bacteria. Through appropriate measures for hand hygiene of health professionals and decreased contact with infected patients or colonized.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemases, Hodge test, blaKPC.

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura apresentando os principais aspectos relacionados à enterobactéria *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase, como são realizados os testes fenotípicos e moleculares da KPC. Dando ênfase na importância da coleta de culturas de vigilância epidemiológica e colocando em evidência as medidas de controle da disseminação de bactéria multirresistentes.

1. Introdução

1.1 Uso inadequado de Antimicrobianos.

A utilização de antibióticos de amplo espectro é um fator significativo no desenvolvimento de resistência dos microrganismos. Nos últimos anos, vivenciamos o aparecimento de genes multirresistentes (MDR) como consequência pelo uso abusivo de antimicrobianos. Onde acaba limitando as opções terapêuticas para o paciente e alterando a microbiota hospitalar. O consumo de antibióticos de amplo espectro aumentou consideravelmente os custos globais dos pacientes críticos.

Existem várias razões para a escolha do tratamento antimicrobiano mais eficaz para os pacientes enfermos, pois as infecções causadas por cepas multirresistentes geralmente estão associadas com o aumento da morbidade e mortalidade, tempo de internação e com o aumento dos custos hospitalares. A escolha da administração do antibiótico inadequado ou, até mesmo, a demora no estabelecimento do tratamento leva a um aumento considerável da mortalidade nestes pacientes. Devido o antibiótico alterar a flora do paciente, aumentando o risco de contrair infecções. E se o doente adquire uma bactéria que não responde ao antibiótico, irá permanecer maior tempo doente e elevar as chances de contaminação por uma bactéria multirresistente devido à baixa imunidade.

Torna-se cada vez mais importante a presença de uma equipe interdisciplinar trabalhando com estratégias do uso racional de antimicrobianos. Controlar a contaminação entre pacientes e isolar os pacientes com sinais de infecção e ou colonização.

1.2 *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)

A família *Enterobacteriaceae* é um grupo heterogêneo de microrganismos, muitos dos quais fazem parte da microbiota normal do ser humano. Entretanto, são os microrganismos mais frequentemente isolados em infecções humanas, principalmente em ambientes hospitalares. Dentre os diversos representantes das enterobactérias, *Klebsiella pneumoniae* destaca-se como importante patógeno associando a infecções comunitárias e nosocomiais. Com um mecanismo de

resistência aos carbapenêmicos, destacam-se as carbapenemases, enzimas capazes de conferir resistência a praticamente todos os antibióticos beta-lactâmicos. Dentro das enterobactérias, a *Klebsiella pneumoniae* carbapenamase (KPC) é uma das principais enzimas responsáveis pela resistência destes microrganismos aos carbapenêmicos.

A *Klebsiella pneumoniae* pertence à família *Enterobacteriaceae*, encontrada em locais como água, solo, plantas e esgoto. O gênero *Klebsiella* é definido como bacilos Gram negativos, em forma de bastão e geralmente encapsuladas, que produzem lisina descarboxilase, mas não produzem ornitina descarboxilase.

A bactéria *Klebsiella pneumoniae* apresenta formas de resistências emergentes, de grande importância como as carbapenemases tipo KPC que serão relatadas neste contexto.

Surgiu por conta das mutações genéticas, em que a bactéria desenvolveu resistência aos antibióticos, como mecanismo de sobrevivência. O primeiro membro da família KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenamase) foi identificado na Carolina do Norte, Estados Unidos, em 1996 em um isolado clínico de *K. pneumoniae*, a partir do projeto de vigilância denominado ICARE (Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology) a amostra foi isolada de um paciente hospitalizado (YIGIT, et. al., 2001).

A mutação genética acontece porque a bactéria possui uma estrutura genética chamada plasmídeo que é capaz de se transferir de uma bactéria para a outra. Após receber o código genético, a bactéria que inicialmente era inofensiva, passa a se tornar resistente a medicações por mais potentes que sejam. A enzima carbapenamase não é restrita somente a uma espécie bacteriana, embora os microrganismos produtores de KPC sejam predominantemente isolados de *Klebsiella pneumoniae*, podem ser sintetizadas por outras bactérias como a *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Proteus SP*, *Serratia SP*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Gram negativos pertencentes à família Enterobacteriaceae.

Os microrganismos Gram negativos englobam um grande número de famílias bacterianas. Possuem uma parede celular mais complexa em relação às bactérias Gram positivas. As bactérias Gram negativas possuem uma membrana externa à parede celular, a qual mantém a estrutura bacteriana e funciona como uma barreira de permeabilidade a grandes moléculas incluindo alguns antimicrobianos. A família *Enterobacteriaceae* é caracterizada com o maior e mais heterogêneo grupo de bacilos Gram negativos de importância clínica. Os representantes desta família compartilham um antígeno comum e podem ser móveis ou imóveis. Não formam esporos e podem crescer rapidamente aeróbica e anaerobicamente em uma variedade de meios. Estas bactérias possuem necessidades nutricionais simples, fermentam glicose, reduzem o nitrato e são catalase positiva e oxidase negativa.

A *Klebsiella pneumoniae* é um importante patógeno relacionado a infecções comunitárias e hospitalares.

2.2 *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)

A *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) é uma bactéria restrita ao ambiente hospitalar, cuja característica é a produção de betalactamase denominada carbapenemase, que tem a propriedade de inibir a ação dos antibióticos carbapenêmicos (Imipenem, Meropenem e Ertapenem), betalactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. Impedindo ou reduzindo as opções terapêuticas disponíveis.

O termo KPC está associado à espécie bacteriana onde a enzima foi isolada e caracterizada pela primeira vez, esta denominação é frequentemente utilizada para descrever a presença da enzima independentemente da espécie. Considerando que a enzima já foi localizada em outros membros da família *Enterobacteriaceae*. Neste presente artigo iremos relatar somente sobre a *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase.

O gene responsável pela produção da KPC é denominado blaKPC e está presente em um elemento móvel caracterizado por apresentar alto nível de

transmissão (transposon), motivo pelo qual a carbapenemase do tipo KPC possui grande importância epidemiológica.

A metodologia recomendada pelo CLSI desde 2009 (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para o controle e confirmação da presença de carbapenemases tipo KPC é o teste de Hodge modificado, que prediz a produção de KPC, com a sensibilidade e especificidade superior a 90% (“Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement,” 2011).

Para confirmação do gene blaKPC são necessários testes moleculares, uma vez que o teste de Hodge prediz apenas a presença de enzima carbapenemase, que pode ser de outras classes, como as metalo-beta-lactamases.

2.3 DETECÇÃO FENOTÍPICA DE PRODUÇÃO DE CARBAPENEMASES - TESTE DE HODGE MODIFICADO

Técnicas como o teste de Hodge modificado são facilmente realizados pelos laboratórios para a detecção de carbapenemases em espécimes de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos. Este teste não é específico para KPC, onde ele irá indicar apenas a presença de uma carbapenemase, porém, em locais onde a prevalência da KPC é grande, poderá ser um preditor importante deste tipo de resistência sendo reportado pela CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) como um teste com sensibilidade e especificidade alta, maior que 90% para a detecção de KPC.

É preparado um inóculo de cepa *E. coli* ATCC 25922 correspondente a 0,5 da escala de McFarland, por meio do método de crescimento ou da suspensão direta da colônia. Fazer o TSA (Teste de Suscetibilidade dos Antimicrobianos) por disco-difusão semeando a cepa *E. coli* ATCC 25922 em uma placa de Agar Mueller-Hinton e colocar no centro da placa um disco de imipenem ou ertapenem de 10 µg.

Com o auxílio de uma alça, estriar a amostra teste do disco de β-lactâmico até a periferia da placa de Petri, com cuidado para não tocar o disco de β-lactâmico. Semear da mesma maneira a cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 como controle negativo, como ilustrado na figura 1. Após a incubação à temperatura de 35±2°C, em

ar ambiente, por 16 a 18 horas, observar o crescimento da *E. coli* ATCC 25922 no halo de inibição do imipenem (distorção do halo de inibição). A amostra de *E. coli* ATCC 25922 é sensível ao imipenem, e este crescimento só foi possível porque a amostra teste produziu uma enzima que foi capaz de inativar o imipenem. Notar que não houve distorção do halo, quando a amostra de *K. pneumoniae* ATCC 700603 foi semeada.

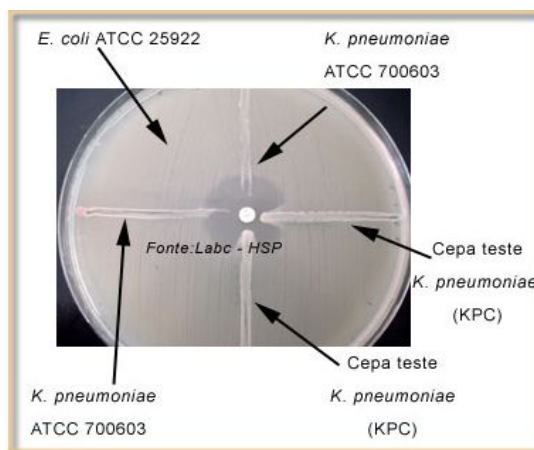


Figura 1. Notar a distorção do halo de inibição, que é indicativa da produção de carbapenemase pela amostra de *K. pneumoniae* testada, pelo método de disco-difusão.

O THM (Teste de Hodge Modificado) positivo apresentará presença de distorção no halo de inibição de ertapenem e ou imipenem devido ao crescimento da cepa *E. coli* ATCC 25922 ao longo da estria da cepa teste dentro dos limites do halo de inibição, o teste THM negativo terá ausência de crescimento da cepa *E. coli* ATCC 25922 ao longo da estria da cepa teste para dentro dos limites do halo de inibição do disco de ertapenem e ou imipenem.

2.4 TESTES MOLECULARES – PADRÃO OURO

A detecção correta e rápida dos isolados produtores de carbapenemases é fundamental para a prevenção da disseminação deste tipo de resistência entre pacientes e hospitais.

Nordmann et al, (2009) defendem que a identificação padrão ouro das bactérias produtoras de KPC devem ser feitas através de métodos moleculares. Esta detecção é feita através de oligonucleotídeos iniciadores (primers) específicos e

pode ser feita com PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) de ponto final ou PCR em tempo real (RT-PCR). São técnicas específicas e confiáveis, porém requerem laboratórios especializados para esta finalidade, equipamentos e profissionais treinados. A realização de métodos moleculares pode ser restrita a laboratórios de referência, para a confirmação de resultados fenotípicos.

As cepas serão analisadas com testes moleculares para confirmação da presença ou ausência do gene blaKPC.

2.5 MEDIDAS DE CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

O surto de bactérias multirresistentes está relacionado freqüentemente ao uso inadequado de antibióticos, tais como as cefalosporinas de terceira geração, por exemplo, a ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima, associado à transmissão horizontal entre os pacientes, quando a equipe de saúde não lava as mãos antes e após a manipulação de um paciente, não colocando em prática as precauções de contato em pacientes com infecção ou colonização por bactérias multirresistentes.

A disseminação de enterobactérias produtoras de KPC é um grave problema clínico e epidemiológico em diversas instituições de saúde. O papel da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) é implantar medidas que visam diminuir a disseminação das bactérias multirresistentes, através da coleta de culturas de vigilância, medidas de controle de disseminação e de contato, e através da educação continuada e treinamentos, pois a maioria da disseminação ocorre pelo fato da falta de higienização das mãos dos próprios funcionários do estabelecimento de saúde.

A infecção hospitalar por bactéria multirresistente pode causar ao paciente pior prognóstico, internação prolongada, uso de mais antibióticos, entre outras complicações. Portanto, é indicado empenho máximo para prevenção da transmissão dessas bactérias entre pacientes.

As medidas preventivas recomendadas para combater as KPC são:

- Lavagem das mãos antes e depois de manipular um paciente;
- Precauções de contato nos pacientes com infecção ou colonizados por bactérias multirresistentes;
- Identificação precoce do paciente com infecção, mediante a realização de culturas de vigilância, incluindo a cultura de swab anal;
- Comunicar no caso de transferência intra-institucional e interinstitucional, se o paciente é infectado ou colonizado por microrganismos multirresistentes;
- Aplicar, durante o transporte intra-institucional e interinstitucional, as medidas de precauções padrão para os profissionais que entram em contato direto com o paciente;
- Educação permanente da equipe de saúde a respeito da lavagem das mãos, precauções de contato e o perigo das bactérias multirresistentes;
- Enfatizar o uso racional de antimicrobiano pelos médicos;
- Reforçar os cuidados com a limpeza e desinfecção de superfícies, mobiliários e artigos que entram em contato com o paciente;
- Disponibilizar continuamente Equipamentos de Proteção Individual (luvas e aventais) para o manejo do paciente e suas secreções, além da correta paramentação para lidar com o ambiente em torno do paciente, colonizado ou infectado (ANVISA, 2010);

3. CONCLUSÃO

A disseminação de enterobactérias produtoras de KPC é um grave problema clínico e epidemiológico em diversas instituições, por isso, é de grande importância o controle de bactérias multirresistentes, seja pelo uso racional de antibióticos, culturas de vigilância epidemiológica e até mesmo o simples fato de higienização dos profissionais da saúde. Limitando a disseminação e a contaminação destes patógenos.

É de extrema importância da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) acompanhar de perto os resultados de pacientes colonizados e ou infectados por uma bactéria multirresistente. Evitando a disseminação. Todo e qualquer

paciente transferido de outra instituição deverá ser realizado a coleta de culturas de vigilância, pois somente através do resultado destas culturas que serão descartados infecções e ou colonização por bactérias multirresistentes.

E com estas medidas de profilaxia e higienização conseguimos diminuir os surtos de bactérias multirresistentes no ambiente hospitalar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging infectious diseases*, v. 17, n. 10, p. 1791–8, 2011.

YIGIT, H.; QUEENAN, A. M.; ANDERSON, G. J.; et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 45, n. 4, p. 1151–1161, 2001.

Arend, Lavinia Nery Villa Stangler. "Caracterização molecular, fenotípica e epidemiológica de micro-organismos produtores de carbapenemase KPC isolados no Estado do Paraná." (2014).

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA- ANVISA. Nota técnica nº 01/2013, medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Acesso em: 17 de julho de 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica 1/2010. Medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes. 2010. Acesso em 17 de julho de 2015.

Luz, Daniela Inocente. "Heterorresistência e resistência adaptativa à Polimixina B em isolados de Enterobacteriaceae produtores de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)." (2014).

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement M100-S23. Wayne, PA, USA: CLSI. 2013.

BRATU, S. et al. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 49, p. 776-8, 2005.

NORDMANN, P.; CUZON G.; NAAS, T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*, v. 9, p. 228-36, 2009.

QUEENAN, A. M. et. al. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. Jul;20(3):440-58, 2007.

Almeida, L. P., et al. "Desempenho do disco de ertapenem como preditor da produção de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase por bacilos Gram-negativos isolados de culturas em um hospital municipal de São Paulo." *Einstein (16794508)* 10.4 (2012).

Tavares, Carolina Padilha. "Caracterização molecular de Enterobacteriaceae não-*Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC isoladas em diferentes estados brasileiros." (2014).

Carneiro, Marcelo. "Terapia com polimixina B em infecção de corrente sanguínea por bacilos Gram-negativos multirresistentes." (2015).

Silva Júnior, Valdemir Vicente da, Maria Amélia Vieira Orientadora Maciel, and Ana Catarina de Souza Coorientadora Lopes. "DETECÇÃO MOLECULAR DE BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTES DE HOSPITAL PÚBLICO DE PERNAMBUCO." (2014).