

Orientação para o envio de cepas de enterobactérias, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos, ao Instituto Adolfo Lutz

JUNHO/2016

RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS PELA PRODUÇÃO DE CARBAPENEMASES

Carbapenemases pertencem a um grupo de beta-lactamases que hidrolisam antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, tais como, penicilinas, cefalosporinas na maioria dos casos, carbapenêmicos em diferentes graus e aztreonam (exceto as metalo-beta-lactamases: NDM, SPM, IMP, VIM, etc).

Metalo-beta-lactamases (MBL) pertencem à classe B de Ambler e 3 de Bush, Jacoby e Medeiros, e possuem em comum a presença de um íon zinco na estrutura da enzima que age como um cofator para a atividade da mesma. Baseado nisso, foram desenvolvidos testes com agentes quelantes de íons, tais como EDTA, ácido mercaptopropiônico (MPA), ácido mercaptoacético (MPA) para visualizar fenotipicamente a presença da MBL.

Em sua maioria, as Carbapenemases são enzimas adquiridas, codificadas por genes localizados em elementos transponíveis, localizados em plasmídeos, daí a sua importância epidemiológica pela facilidade de se disseminarem rapidamente.

A identificação de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem) é um evento frequentemente relatado em todo o mundo. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é uma enzima que foi identificada pela primeira vez em 2001, inicialmente em *K. pneumoniae* nos Estados Unidos, e, atualmente, detectada em outras enterobactérias e bacilos Gram-negativos não fermentadores.

O isolamento de enterobactérias produtoras de KPC no Estado de São Paulo vem ocorrendo desde 2005. A partir de 2009, cepas de enterobactérias

enviadas ao Instituto Adolfo Lutz (IAL), que é o Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo, têm sido confirmadas como produtoras de KPC por métodos moleculares, e, atualmente, em muitos serviços de saúde, já são considerados microrganismos endêmicos.

A partir de 2013, foi detectada, no Brasil, a presença dos genes *bla*_{NDM} e *bla*_{OXA-48/370}, que também degradam os carbapenêmicos. Cepas produtoras de *bla*_{NDM} foram confirmadas nos estados do Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo, incluindo a capital São Paulo (primeiro isolado em 2005), em diferentes micro-organismos, tais como, *Enterobacter hormaechei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*.

A detecção precoce de carbapenemases emergentes, tais como NDM e OXA-48/370, se faz necessária para conter a disseminação de genes responsáveis pela produção dessas enzimas em nosso estado.

Dessa forma, o Centro de Bacteriologia do IAL e a Divisão de Infecção Hospitalar do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) definiram alguns **critérios para o envio de cepas** para a caracterização de surtos de IRAS, e para a confirmação de carbapenemases emergentes por métodos moleculares.

1) DETECÇÃO LABORATORIAL PELOS LABORATÓRIOS CLÍNICOS

1.1) ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Recomenda-se utilizar os critérios interpretativos para avaliação da sensibilidade de enterobactérias contidos no item C da **Nota Técnica nº 01/2013 da ANVISA**, em sua Tabela 1:

Tabela 1 – Critérios interpretativos a serem utilizados em substituição/complementação àqueles definidos nos documentos do CLSI para testes de sensibilidade de enterobactérias

Antimicrobiano	CIM			Disco-Difusão			
	Sensível (µg/mL)	Intermediário (µg/mL)	Resistente (µg/mL)	Potência do disco (µg)	Sensível (mm)	Intermediário (mm)	Resistente (mm)
Aztreonam	≤ 1	2-4	≥ 8	30	≥ 24	21-23	≤ 20
Cefepima	≤ 1	2-4	≥ 8	30	≥ 24	21-23	≤ 20
Ceftazidima ^A	≤ 1	2-4	≥ 8	10 ^A	≥ 22 ^A	19-21 ^A	≤ 18 ^A
Ertapenem	≤ 0,5	1	≥ 2	10	≥ 25	22-24	≤ 21
Colistina ou Polimixina B	≤ 2	–	≥ 4	– ^B	–	–	–
Tigeciclina	≤ 1	2	≥ 4	15	≥ 18 ^C	15-17 ^C	≤ 14 ^C

- A. A concentração do disco difere daquele usualmente comercializado pela maioria dos fabricantes.
- B. O método de Kirby-Bauer (disco-difusão) não é adequado para a avaliação da susceptibilidade às polimixinas.
- C. Os critérios interpretativos para tigeciclina, quando testada pelo método de Kirby-Bauer, estão disponíveis apenas para *E. coli*. Para outras espécies bacterianas deve ser determinada a concentração inibitória mínima. A tigeciclina tem atividade reduzida contra enterobactérias dos gêneros *Morganella*, *Providencia* e *Proteus*.

Adicionalmente, recomenda-se que todos os laboratórios utilizem os testes com inibidores e potenciadores de detecção de carbapenemases contidos no item C da mesma Nota Técnica 01/2013 da ANVISA (sub-ítems C1, C2, C3, C4, C5 e C6).

Outra opção seria a utilização de metodologias de detecção rápida de carbapenemases, tais como CARBA-NP, descrito no CLSI 2016, Blue-Carba, Rapidec (Biomerieux), (CabapenemBac e CarbapenemBac Metalo, PROBAC) ou Kit para detecção de carbapenemases (CECON); este último é baseado na NT 01/2013 da ANVISA.

1.2) *Pseudomonas aeruginosa* RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Para a leitura e interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, utilizar o CLSI do ano vigente.

A detecção de produção de metalo-beta-lactamases (MBL) pode ser feita por testes com inibidores de MBL, tais como EDTA e ácido mercapto propiônico (MPA), agentes quelantes de íons zinco presentes na estrutura química das MBLs. Utilizar discos de imipenem (IPM) e ceftazidima (CAZ) com a droga sozinha e outros discos de IPM e CAZ adicionados de 5 µl de EDTA 0,1M e 3 µl de MPA, semelhante ao esquema proposto no item anterior para enterobactérias. Diferença ≥ 5 mm no tamanho do halo de inibição do disco associado ao inibidor em relação ao disco com a droga sozinha significa presença de metalo-beta-lactamase.

1.3) COMPLEXO *Acinetobacter baumannii*-*A. calcoaceticus* (CAb-Ac) RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Para a leitura e interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, utilizar o CLSI do ano vigente.

Não há testes com inibidores de beta-lactamases disponíveis para uso em CAb-Ac.

2) ORIENTAÇÕES PARA ENVIO DE CEPAS AO IAL

2.1) SURTOS DE INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE (IRAS)

De acordo com a NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 02/2015 (Orientações gerais para a implantação da Sub-Rede Analítica de Resistência Microbiana em Serviços de Saúde), inicialmente o surto deve ser notificado à Vigilância Epidemiológica pelos fluxos locais já estabelecidos.

No Estado de São Paulo a notificação deve ser realizada por meio de formulário on line disponível no endereço http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/not_ih.htm.

Após a notificação, o Centro de Bacteriologia/IAL e a Vigilância Epidemiológica definirão o número e tipo de amostras que devem ser encaminhadas ao IAL.

ENCAMINHAR AS CEPAS DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS, *Pseudomonas aeruginosa* e Complexo

***Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* SOMENTE APÓS A NOTIFICAÇÃO.**

2.2) CEPAS SUSPEITAS DE PRODUÇÃO DE METALO-BETA-LACTAMASE (NDM) PELO USO DE EDTA E QUE NÃO SE ENCAIXAM NOS PERFIS DE KPC, NDM OU AMPC, DE ACORDO COM A NOTA TÉCNICA 01/2013 DA ANVISA (POTENCIAL PRODUTORA DE OXA-48/370)

Podem ser encaminhadas ao IAL para confirmação por PCR, informando na ficha de encaminhamento que já foi realizado o teste com os inibidores e potenciadores de beta-lactamases ou outros métodos rápidos de detecção de beta-lactamases.

2.3) CEPAS SUSPEITAS DE PRODUÇÃO DE KPC (INIBIDA PELO ÁCIDO FENILBORÔNICO)

Sugere-se que sejam enviadas ao IAL apenas os isolados em hospitais onde a presença de KPC ainda não seja endêmica.

2.4) OUTROS CASOS INUSITADOS

Casos de microrganismos incomuns ou perfis de resistência microbiana atípica, entrar em contato prévio com o Instituto Adolfo Lutz e DIH/CVE.

2.5) ACONDICIONAMENTO DAS CEPAS

As cepas deverão ser encaminhadas em placas contendo Agar MacConkey ou Tryptic Soy Agar (TSA) ou similares, com crescimento bacteriano recente (18-24 h) e devidamente lacradas com parafilm ou fita adesiva.

2.6) FLUXO PARA ENVIO DE CEPAS

As cepas devem ser encaminhadas ao IAL Central ou laboratórios regionais de acordo com o GVE correspondente conforme tabela a seguir.

Tabela 2 - Fluxo de envio de cepas de bactérias multirresistentes aos Laboratórios do Instituto Adolfo Lutz (IAL), Central e Regionais, de acordo com os GVE

GVE	IAL
GVE Capital GVE Osasco GVE Franco da Rocha GVE Mogi das Cruzes	IAL Central – São Paulo
GVE Araçatuba	IAL Araçatuba
GVE Bauru GVE Botucatu	IAL Bauru
GVE Campinas GVE São João da Boa Vista	IAL Campinas
GVE Marília GVE Assis	IAL Marília:
GVE Presidente Prudente GVE P. Venceslau	IAL Presidente Prudente
GVE Araraquara GVE Ribeirão Preto GVE Barretos GVE Franca	IAL Ribeirão Preto
GVE Piracicaba	IAL Rio Claro
GVE Santo André	IAL Santo André
GVE Santos GVE Registro	IAL Santos
GVE São José do Rio Preto GVE Jales	IAL São José do Rio Preto
GVE Sorocaba GVE Itapeva	IAL Sorocaba
GVE São Jose dos Campos GVE Taubaté GVE Caraguatatuba	IAL Taubaté

2.7) DOCUMENTOS PARA ENCAMINHAMENTO DE CEPAS

Solicitações de exames

Encaminhar memorando junto com a lista de remessa que se encontra na página do IAL: <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amstras-biologicas>

Memorando

Com o timbre da instituição, carimbo e assinatura do profissional responsável pelo pedido e os seguintes dados:

- Nome completo do paciente
- Data de nascimento
- Hospital de origem
- Fonte de isolamento do isolado bacteriano
- Suspeita bacteriana (gênero, espécie, mecanismo de resistência, etc)
- Especificar se foram realizados testes preliminares (por ex: testes com inibidores de beta-lactamases, tais como, EDTA, ácido fenilborônico, cloxacilina, etc)
- Surto de IRAS: Sim (.) Não ()
- Se sim:
- Foi notificado para a vigilância epidemiológica? Sim () Não ()

3) . CONTATOS

NDEI/Centro de Bacteriologia/IAL

E-mail: dogarcia@ial.sp.gov.br; dogarcia@yahoo.com;
bacteriologia@ial.sp.gov.br

Telefone: 11- 3068-2896

São Paulo – SP

Divisão de Infecção Hospitalar/CVE:

Email: dvhosp@saude.sp.gov.br

Telefones: 11 – 3066-8759/3066-8261

São Paulo - SP

REFERÊNCIAS

Abboud CS; Bergamasco MD; Doi AM; Zandonadi EC; Barbosa V; Cortez D; Saraiva CR; Doy C; Garcia DO. First report of investigation into an outbreak due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary Brazilian hospital, with extension to a patient in the community. *J Infect Prevent*. 12(4), 2011.

Andrade LN, Curiao T, Ferreira JC, Longo JM, Clímaco EC, Martinez R, Belíssimo-Rodrigues F, Basile-Filho A, Evaristo MA, Del Peloso PF, Ribeiro VB, Barth AL, Paula MC, Baquero F, Cantón R, Darini ALC, Coque TM. Dissemination of *bla*_{KPC-2} by the spread of *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among *Enterobacteriaceae* species in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother*. 55(7):3579-3583, 2011.

[Bergamasco MD](#), [Barroso Barbosa M](#), [de Oliveira Garcia D](#), [Cipullo R](#), [Moreira JC](#), [Baia C](#), [Barbosa V](#), [Abboud CS](#). Infection with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae* in solid organ transplantation. [Transpl Infect Dis](#). 14(2):198-205,. 2011.

<http://www.brcast.org.br> (acesso em 05/04/2016). BrCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

Bueno MF, Francisco GR, O'Hara JA, de Oliveira Garcia D, Doi Y. Coproduction of 16S rRNA methyltransferase RmtD or RmtG with KPC-2 and CTX-M group extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 57(5): 2397-2400, 2013a.

[Cabral AB](#), [Maciel MA](#), [Barros JF](#), [Antunes MM](#), [Lopes AC](#). Detection of *bla*_{KPC-2} in *Proteus mirabilis* in Brazil. [Rev Soc Bras Med Trop](#). 48(1):94-5, 2015.

[Campos JC](#), [da Silva MJ](#), [dos Santos PR](#), [Barros EM](#), [Pereira Mde O](#), [Seco BM](#), [Magagnin CM](#), [Leiroz LK](#), [de Oliveira TG](#), [de Faria-Júnior C](#), [Cerdeira LT](#), [Barth AL](#), [Sampaio SC](#), [Zavascki AP](#), [Poirel L](#), [Sampaio JL](#). Characterization of Tn3000, a Transposon Responsible for *bla*_{NDM-1} Dissemination among Enterobacteriaceae in Brazil, Nepal, Morocco, and India. [Antimicrob Agents Chemother](#). 59(12):7387-95, 2015.

Carmo Junior NV, Ferreira Filho H, Costa DAG, Calvalcante AJW, de Oliveira Garcia D, Furtado JJD. First report of a NDM-producing *Providencia rettgeri* strain in the state of São Paulo. *Braz. J. Infect. Dis.*;19(6):675–676, 2015.

Carvalho-Assef AP, Pereira PS, Albano RM, Berião GC, Chagas TP, Timm LN, Da Silva RC, Falci DR, Asensi MD. Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. *J Antimicrob Chemother*. 68(12): 2956-2957, 2013.

[Carvalho-Assef AP](#), [Pereira PS](#), [Albano RM](#), [Berião GC](#), [Tavares CP](#), [Chagas TP](#), [Marques EA](#), [Timm LN](#), [Da Silva RC](#), [Falci DR](#), [Asensi MD](#). Detection of NDM-1-, CTX-M-15-, and qnrB4-producing *Enterobacter hormaechei* isolates in Brazil. [Antimicrob Agents Chemother](#). 58(4):2475-6, 2014.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 26th ed. CLSI supplement M100S (ISBN 1-56238-923-8 {Print}; ISBN 1-56238-924-6 [Eletronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne Pennsylvania 19087 USA, 2016.

[Jácome PR](#), [Alves LR](#), [Cabral AB](#), [Lopes AC](#), [Maciel MA](#). First report of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil. [Antimicrob Agents Chemother](#). 56(9):4990,. 2012.

Monteiro J, Santos AF, Asensi MD, Peirano G, Gales AC. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(1):333-4., 2009.

Nota Técnica nº 02/2015 GVIMS/GGTES/ANVISA – Sub-Rede Analítica de Resistência Microbiana em Serviços de Saúde -

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Servicos+de+Saude/Assunto+de+Interesse/Controle+de+Infeccao+em+Servicos+de+Saude/Nota+Tecnica>

Nota Técnica nº 12/2013 da ANVISA – Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias Multirresistentes

[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ea4d4c004f4ec3b98925d9d785749fbd/Microsoft+Word++NOTA+T%C3%89CNICA+ENTEROBACTERIAS+17+04+2013\(1\).pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ea4d4c004f4ec3b98925d9d785749fbd/Microsoft+Word++NOTA+T%C3%89CNICA+ENTEROBACTERIAS+17+04+2013(1).pdf?MOD=AJPERES)

Pagano M, Poirel L, Martins AF, Rozales FP, Zavascki AP, Barth AL, Nordmann P. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter pittii* in Brazil. *Int J Antimicrob Agents*. 45(4):444-5, 2015.

Pavez M, Mamizuka EM, Lincopan N. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(6): 2702, 2009.

Peirano G, Seki LM, Val Passos VL, Pinto MC, Guerra LR, Asensi MD. Carbapenem-hydrolysing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *J Antimicrob Chemother*. 63(2): 265-268, 2009.

Pereira GH; Garcia DO; Mostardeiro M; Ogassavara C; Levin AS. Spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in São Paulo, Brazil. *J. Hosp Infect*. 79: 172-188, 2011.

Pereira PS, Borghi M, Albano RM, Lopes JC, Silveira MC, Marques EA, Oliveira JC, Asensi MD, Carvalho-Assef AP. Coproduction of NDM-1 and KPC-2 in *Enterobacter hormaechei* from Brazil. *Microb Drug Resist*. 21(2):234-6, 2015.

Pereira PS, de Araujo CF, Seki LM, Zahner V, Carvalho-Assef AP, Asensi MD. Update of the molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil: spread of clonal complex 11 (ST11, ST437 and ST340). *J Antimicrob Chemother*. 68(2): 312-316, 2013.

Pillonetto M, Arend L, Vespero EC, Pelisson M, Chagas TP, Carvalho-Assef AP, Asensi MD. First report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* sequence type 25 in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 58(12):7592-4, 2014.

Quiles MG, Rocchetti TT, Fehlberg LC, Kusano EJ, Chebabo A, Pereira RM, Gales AC, Pignatari AC. Unusual association of NDM-1 with KPC-2 and armA among Brazilian Enterobacteriaceae isolates. *Braz J Med Biol Res*. 48(2):174-7, 2015.

Rizek C, Fu L, Dos Santos LC, Leite G, Ramos J, Rossi F, Guimaraes T, Levin AS, Costa SF. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 13:43, 2014.

Seki LM, Pereira OS, de Souza MPAH, Conceição MS, Marques EA, Porto CO, Colnago EML, Alves CFM, Gomes D, Carvalho-Assef APDA, Samuelsen O, Asensi MD. Molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Brazil: the predominance of sequence type 437. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 70:274-277, 2011.

Silva KE, Cayô R, Carvalhaes CG, Patussi Correia Sacchi F, Rodrigues-Costa F, Ramos da Silva AC, Croda J, Gales AC, Simionatto S. Coproduction of KPC-2 and IMP-10 in Carbapenem-Resistant *Serratia marcescens* Isolates from an Outbreak in a Brazilian Teaching Hospital. *J Clin Microbiol*. 53(7):2324-8, 2015.

Anexo:

FLUXOGRAMA PARA ENVIO DE CEPAS AO IAL

