

VIGILÂNCIA DE GENES DE CARBAPENEMASE KPC E NDM EM BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ

Ihorrana Wencz Alfien (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Márcia Maria dos Anjos, Danielle Rosani Shinohara, Nayara Helisandra Fedrigo, Rúbia Pazzetto, Bruno Buranello Costa, Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientador), e-mail: mcbtognim@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Microbiologia, Microbiologia Médica

Palavras-chave: carbapenemases, vigilância epidemiológica, resistência bacteriana.

Resumo:

Infecções causadas por bactérias multirresistentes aos agentes antimicrobianos (MDR) são responsáveis por altas taxas de morbimortalidade em todo o mundo. A rápida evolução na resistência desses microrganismos intensifica ainda mais a falta de opções terapêuticas, causando grande preocupação na prática clínica. Desde 2011, o Laboratório de Microbiologia Médica (LMM) da Universidade Estadual de Maringá realiza um programa de vigilância, estocando bactérias Gram-negativas e Gram-positivas MDR para pesquisas posteriores e analisando todas as amostras que a equipe do laboratório do Hospital Universitário de Maringá envia como suspeitas de terem carbapenemases. A pesquisa desses genes de resistência é realizada por meio de uma reação em Cadeia da polimerase (PCR) que contempla a investigação das principais carbapenemases circulantes no Brasil como *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) e *New Delhi metallo-beta-lactamase* (NDM), sendo o resultado enviado ao HUM para completar o diagnóstico do paciente. No período de agosto de 2018 a junho de 2019, um total de 725 isolados foram estocados e registrados no LMM, sendo 505 isolados de amostras clínicas e 220 isolados de culturas de vigilância. De todas as amostras testadas, em 29 isolados foi identificada a presença do gene KPC e em 4 isolados a presença de NDM. Uma vigilância adequada de bactérias MDR no ambiente hospitalar é de extrema importância, pois a rápida detecção de genes de resistência contribui para o processo de tomada de decisão, levando ao isolamento do paciente e implementação de medidas de controle.

Introdução

A resistência bacteriana a antimicrobianos é um problema relevante em vários países, inclusive no Brasil. No ano de 2014 a Organização Mundial de Saúde aprovou um plano de ação global com o objetivo de minimizar o problema de resistência antimicrobiana, indicando a adoção de medidas de vigilância para prevenir a disseminação de bactérias multirresistentes aos agentes antimicrobianos (MDR) (MEHRAD et al., 2015).

Os genes que codificam carbapenemases conferem às bactérias a capacidade de hidrolizar os beta-lactâmicos, como carbapenêmicos, cefalosporinas,

penicilinas e monobactâmicos. Do ponto de vista epidemiológico são de extrema relevância as carbapenemases do tipo KPC e as do tipo NDM, pois ambas apresentaram rápida e ampla disseminação mundial após suas descrições iniciais (ANVISA, 2013).

Desde 2011, o Laboratório de Microbiologia Médica (LMM) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) realiza um programa de vigilância de bactérias multirresistentes aos agentes antimicrobianos, no Hospital Universitário de Maringá (HUM). Esse programa inclui análises genéticas que utilizam metodologias de investigação da resistência de bactérias MDR, as quais são muito importantes para direcionar o uso de antimicrobianos, de forma a garantir a terapêutica adequada ao paciente e colaborar com o controle da resistência bacteriana. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi realizar a rápida detecção das carbapenemases KPC e NDM e estocar bactérias MDR isoladas em um hospital ensino.

Materiais e métodos

Manutenção do estoque de bactérias MDR:

Isolados bacterianos MDR de amostras clínicas e de swabs de vigilância de pacientes hospitalizados no HUM são enviados ao Laboratório de Microbiologia Médica (LMM) que pertence ao Departamento de Ciências Básicas da Saúde (DBS) da UEM. Durante todo o período de desenvolvimento do projeto, os isolados foram registrados em planilha no software Excel, repicados em placas de ágar nutriente, estocados em tubos tipo *ependorf* com caldo Mueller Hinton e glicerol e armazenados em freezer a -20 °C. Posteriormente, esses isolados ficaram disponíveis para a utilização em projetos de pesquisa.

Detecção das principais carbapenemases:

Em isolados do HUM que apresentaram suspeita da presença de carbapenemases, foi realizada a pesquisa de genes de resistência por meio de uma reação em Cadeia da Polimerase (PCR) multiplex padronizada pelo LMM que contempla a pesquisa dos genes *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) e *New Delhi metallo-beta-lactamase* (NDM).

Resultados e Discussão

Durante o período de agosto de 2018 a junho de 2019 foram estocados 725 isolados bacterianos que apresentaram diferentes perfis de resistência aos principais antimicrobianos, sendo que 505 foram isolados de amostras clínicas e 220 de culturas de vigilância.

As Figuras 1 e 2 apresentam o número de isolados de acordo com gênero/espécie, sendo a figura 1 referente aos isolados provenientes de amostras clínicas e a figura 2 referente aos isolados de vigilância.

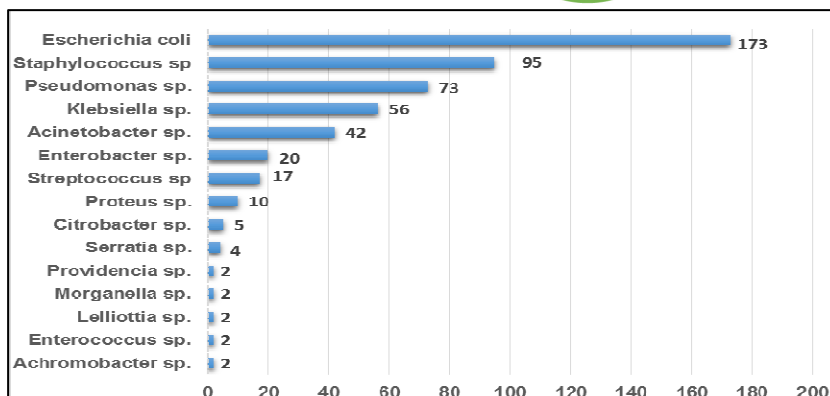


Figura 1 – Isolados de amostras clínicas do Hospital Universitário de Maringá estocados no Laboratório de Microbiologia Médica no período de agosto de 2018 a junho de 2019.

A *E. coli* foi o microrganismo mais isolado em amostras clínicas dos pacientes do HUM, sendo o principal sítio de isolamento o trato urinário. Diferentes estudos apontam ela como a principal causa de infecções do trato urinário, pois pertence à microbiota normal do intestino humano e pode contaminar, colonizar e, subsequentemente, causar infecções extra-intestinais, sendo também um dos principais agentes etiológicos de septicemias, e meningites.

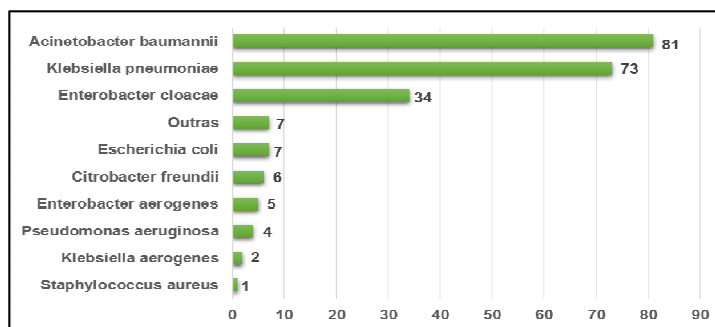


Figura 2 – Isolados de swabs de vigilância do Hospital Universitário de Maringá estocados no Laboratório de Microbiologia Médica no período de agosto de 2018 a junho de 2019.

Entre as bactérias isoladas de swabs de vigilância, a bactéria mais frequente foi o *Acinetobacter baumannii*. Trata-se de um patógeno humano oportunista que infecta predominantemente pacientes gravemente doentes, sendo considerado uma ameaça global no cenário dos serviços de saúde, principalmente devido à sua propensão a adquirir mecanismos de resistência a múltiplos antimicrobianos (GIAMMANCO et al., 2017). Esse número elevado de isolados de *A. baumannii* no HUM também se deve ao fato de que este microrganismo é endêmico em nossa região.

No período de 11 meses foram realizadas 34 pesquisas moleculares dos genes de resistência KPC e NDM, em isolados suspeitos detectados por análise fenotípica, sendo que de todas as amostras testadas, em 29 isolados foi identificada a presença do gene KPC e em 4 isolados a presença de NDM.

A carbapenemase do tipo KPC tem a capacidade de hidrolisar não apenas os antimicrobianos carbapenêmicos, mas também vários outros agentes antimicrobianos da classe de antibióticos β -lactâmicos, tornando as opções de tratamento muito restritas e contribuindo para a alta taxa de mortalidade (PORRECA et al., 2018). A carbapenemase do tipo NDM tem sido transportada por plasmídeos que abrigam outros genes de resistência e possuem alta capacidade de disseminação. (ROZALES et al., 2014). Portanto, destaca-se a importância de um sistema de vigilância de bactérias MDR e da detecção de genes de resistência como KPC e NDM no âmbito hospitalar.

Conclusões

Durante o período do projeto foi possível compreender a importância de uma vigilância adequada de bactérias MDR no ambiente hospitalar. A rápida detecção de genes de resistência contribuiu para o processo de tomada de decisão no HUM, levando ao isolamento do paciente e implementação de medidas de controle. Também foi possível auxiliar em diferentes linhas de pesquisa dentro do laboratório com a manutenção do estoque de bactérias MDR.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio ao desenvolvimento científico.

Referências

ANVISA. Nota técnica nº 01/2013 medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília, 17 de abril de 2013.

GIAMMANCO, A.; CALA, C.; FASCIANA, T.; DOWZICKY, M. J. Global assessment of the activity of tigecycline against multidrug-resistant Gram-negative pathogens between 2004 and 2014 as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *MSphere* v. 2, p. e00310-16, 2017.

MEHRAD, B.; CLARK, N. M.; ZHANEL, G. G.; LYNCH, J. P. Antimicrobial resistance in hospital-acquired gram-negative bacterial infections. *Chest* v.147, n.5, p.1413-21, 2015.

PORRECA, A. M.; SULLIVAN, K. V.; GALLAGHER, J. C. The epidemiology, evolution and Treatment of KPC- producing Organisms. *Cur Infect Dis Report*, v.20, p.13, 2018.

ROZALES, F. P.; RIBEIRO, V. B.; MAGAGNIN, C. M.; PAGANO, M.; LUTZ, L.; FALCI, D. R.; et al. Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Porto Alegre, Brazil. *Int. J. Infect. Dis.*, v.25, p.79-81, 2014.