EVOLUÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS

Revisão narrativa sobre o mecanismo de ação da *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase* (KPC)

1. Ananda Moraes
2. Patrícia Lius Melo Alves
Afiliação: 1. Acadêmicas do curso de Biomedicina da Universidade de Sorocaba
2. Professora adjunta da Universidade de Sorocaba

RESUMO: Os antibióticos fizeram uma grande evolução na medicina, porém, a disseminação do uso muitas vezes inadequado, ocasionaram o surgimento da resistência de algumas bactérias a diversos tipos de fármacos. A longa permanência em ambientes hospitalares aumenta a vulnerabilidade de pacientes em contrair uma infecção grave. Um dos micro-organismos de maior incidência nesse tipo de infecção, principalmente em UTI's e em pacientes que são submetidos a procedimentos invasivos, é a *Klebsiella pneumoniae*, essa bactéria é um bacilo Gram-negativo fermentador de lactose, integrante da família Enterobacteriaceae. A *K. pneumoniae* é uma bactéria capaz de produzir enzimas que hidrolisam os antibióticos, essa enzima β-lactamase é nomeada como *K. pneumoniae cabapenemase*, a resistência aos antimicrobianos tem sido compreendida como um grande problema para saúde pública. O objetivo do presente estudo foi apresentar por meio de uma revisão de literatura tradicional as considerações levantadas a respeito da evolução da resistência bacteriana aos antibióticos e o mecanismo de ação da *Klebsiella pneumoniae cabapenemase* (KPC), este trabalho irá mostrar como os antibióticos agem nas bactérias, a incidência de KPC em infecções hospitalares e os métodos microbiológicos para sua identificação. Foram utilizados para essa revisão 4 livros e 25 artigos científicos no período de 2009 a 2019, foi citado algumas pesquisas realizadas pelos autores dos artigos utilizados sobre epidemiologia e incidência da KPC em hospitais. Portanto, esta revisão, irá possibilitar uma melhor compreensão da resistência bacteriana, fazendo com que a gravidade desta seja entendida e tratada como algo de extrema importância na sociedade.

Palavras-chave: KPC; Antibióticos; Resistência; Prevalência; Infecção.

ABSTRACT: The antibiotics have made a great evolution in medicine, but, the dissemination of the often-inappropriate use has caused the emergence of resistance of some bacteria to various types of drugs. The long stay in hospital environments increases the vulnerability of patients in contracting a serious infection. One of the microorganisms of higher incidence in this type of infection, especially in ICUs and in patients who are undergoing invasive procedures, such as, *K. pneumoniae*, this bacterium is a bacillus Gram-negative lactose fermenter part of the Enterobacteriaceae family. A *K. pneumoniae*

is a bacterium capable of producing enzymes that hydrolyze antibiotics, this β-lactamase enzyme is named *K. pneumoniae* cabapenemase antimicrobial resistance has been understood a big public health problem. The objective of the present study was to present a traditional literature review the considerations raised in this respect of the evolution of bacterial resistance to antibiotics and the mechanism of action of *Klebsiella pneumoniae* cabapenemase (KPC), this work will show how antibiotics will act on bacteria, the incidence of KPC in hospital infections and its microbiological identification methods. Were used for this review 4 books and 40 scientific articles in the period from 2009 to 2019, it was mentioned some research done by the authors of articles used on the epidemiology and incidence of KPC in hospitals. Therefore, this review will allow a better understanding of bacterial resistance, making its severity understood and treated as extremely important in society.

Keywords: KPC. Antibiotics. Resistance. Prevalence. Infection.

1. INTRODUÇÃO

Desde a história da medicina, as infecções foram uma das principais causas de adoecimento, e os antibióticos revolucionaram esse cenário, tornando cirurgias e tratamentos mais seguros. (1) No entanto, o uso inadequado desses medicamentos tem contribuído para o surgimento de bactérias resistentes, como a *Klebsiella pneumoniae.* (2)

Essa bactéria, comum em ambientes como água, solo e até no organismo humano, pode causar infecções graves, especialmente em pacientes hospitalizados e imunocomprometidos. É frequentemente associada a infecções hospitalares, sobretudo em Unidade de Terapia Intensiva (UTIs) e em procedimentos invasivos. (3 e 4)

A preocupação aumenta com a *K. pneumoniae* produtora da enzima KPC, que confere resistência aos carbapenêmicos, antibióticos utilizados em infecções graves. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) apontou essa bactéria como a principal causa de infecções graves em UTIs no Brasil em 2015. (5 e 6)

A resistência bacteriana representa um desafio para a saúde pública, exigindo altos investimentos em tratamentos e dificultando o controle de infecções hospitalares, mesmo com o avanço da ciência. (7)

Este estudo tem como foco compreender a evolução da resistência bacteriana, com destaque para o papel da *K. pneumoniae* e o mecanismo de ação da enzima KPC, além de abordar o funcionamento dos antibióticos e os métodos laboratoriais de identificação do microrganismo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho constituiu em uma revisão de literatura tradicional sobre a evolução da resistencia bacteriana aos antibióticos e o mecanismo de ação da *Klebsiella pneumoniae cabapenemase*. Para atingir os objetivos da pesquisa, decidiu-se pela revisão e discussão bibliográfica. Esta metodologia de enfoque colabora para uma melhor discussão em relação à temática, possibilitando-se a investigação e observação mais ampla e aprofundada sobre a prática pedagógica por meio do diálogo da bibliografia de diversos autores sobre o assunto.

Foram realizadas pesquisas bibliográficas em bases de dados como Scielo (*Scientific Electronic Library Online*), NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) e Google acadêmico, selecionando artigos relevantes na linha de pesquisa e o critério de inclusão foi o período de 2009 a 2019. Os descritores utilizados foram “resistência bacteriana”, “resistência bacteriana a antibióticos”, “mecanismo de ação da enzima KPC”. Como material bibliográfico também foram utilizados livros relacionados ao tema proposto.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Mecanismos de ação dos antibióticos

Os antimicrobianos são substâncias químicas com estrutura molecular variada e de origem natural. Eles têm a capacidade de matar, inativar ou inibir o crescimento de microrganismos, sendo amplamente utilizados para tratar infecções. [8] Esses efeitos ocorrem devido à interação das moléculas dos antibióticos com receptores específicos nos micro-organismos, desencadeando reações químicas que levam à sua inibição. [9]

Os antimicrobianos podem ser classificados em naturais, semissintéticos (modificados em laboratório) e sintéticos (produzidos exclusivamente em laboratório). [7] Existem diferentes tipos de antibióticos classificados conforme suas ações, como na parede celular, membrana celular, síntese proteica, ação dos folatos e síntese do DNA. [10]

Os antibióticos que atuam na parede celular são os β-lactâmicos e glicopeptídeos, nas membranas celulares, as polimixinas e daptomicinas, na síntese proteica, os aminoglicosídeos, tetraciclinas, macrolídeos e cloranfenicol, na síntese de DNA, as quinolonas e sulfonamidas, que interferem na replicação do DNA e na síntese de purinas. [11 e 12]

A tabela a seguir exemplifica os tipos, local e ação dos antimicrobianos nas bactérias (Quadro 1).

Quadro 1- Tipos de antibióticos, localização e mecanismo de ação.

Tipos de antibióticos	Local de ação	Função
β-lactâmicos e Glicopeptídeos	**Parede Celular**	**Inibir a proliferação bacteriana**
Polimixinas e Daptomicinas	**Membrana Celular**	**Desarranjar a estrutura da membrana**
Aminoglicosídeos, Tetraciclinas, Macrolídeos e Cloranfenicol	**Ribossomo**	**Inibir a síntese proteica**
Quinolonas	**Enzima DNA-girase**	**Inibir a síntese de DNA**
Sulfonamidas	**Citoplasma**	**Inibir a síntese das purinas e de ácidos fólicos**

Fonte: Elaboração própria.

Os fármacos se diferenciam por suas propriedades químicas, físicas, farmacológicas e, principalmente, pelo mecanismo de ação. Para que os antibióticos sejam eficazes, é essencial que atinjam concentração adequada no local da infecção. (13)

Eles podem ser classificados em dois grupos principais: bactericidas, que matam as bactérias (como aminoglicosídeos, quinolonas, penicilinas e cefalosporinas), e bacteriostáticos, que apenas inibem a multiplicação dos micro-organismos, sem destruí-los (como sulfonamidas, cloranfenicol, tetraciclinas e macrolídeos). (13)

3.2 Antibióticos que inibem a síntese da parede celular

Os antibióticos β-lactâmicos (como penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos) atuam impedindo a formação da parede celular das bactérias, o que leva à morte do micro-organismo. Eles se ligam a proteínas específicas e bloqueiam a síntese do peptideoglicano, estrutura essencial da parede celular. (14 e 15) Outros antibióticos, como os glicopeptídeos (ex: vancomicina), também agem na parede celular, mas por outro mecanismo, bloqueiam a adição de novas unidades estruturais à parede. (8 e 12)A bacitracina, por sua vez, impede o transporte de componentes usados na construção da parede celular. (8)

A fosfomicina interfere na produção inicial dos componentes da parede, inibindo uma enzima essencial para essa etapa. (8, 10 e 15) Já antibióticos como as polimixinas e daptomicinas atacam diretamente a membrana da bactéria, desorganizando sua estrutura e provocando a morte celular. (11)

Outros antibióticos agem impedindo a produção de proteínas pelas bactérias. Os aminoglicosídeos e tetraciclinas se ligam ao ribossomo 30S, enquanto os macrolídeos e cloranfenicol atuam no ribossomo 50S, atrapalhando a formação correta das proteínas. [8 e 11]

Por fim, há antibióticos que interferem diretamente no DNA bacteriano. As quinolonas impedem o desenrolamento do DNA, as rifampicinas bloqueiam sua replicação, e o metronidazol danifica o DNA após ser ativado dentro da célula. As sulfonamidas, por outro lado, inibem a produção de componentes necessários para a formação do DNA, como as purinas e o ácido fólico. [8, 11 e 12]

3.3 Resistência bacteriana

A descoberta dos antibióticos reduziu significativamente a mortalidade por infecções bacterianas. No entanto, o uso excessivo e inadequado desses medicamentos tem contribuído para o surgimento de bactérias resistentes, o que preocupa a comunidade científica. [16]

Segundo a ANVISA[5], micro-organismos multirresistentes são aqueles que resistem a vários antimicrobianos. Quando não respondem a nenhum, são chamados de pan-resistentes. As principais bactérias resistentes pertencem ao grupo ESKAPE: *Acinetobacter baumanii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Enterococcus* resistentes a glicopeptídeos e *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos.

A resistência pode ser natural (intrínseca) ou adquirida, por meio de mutações ou troca de material genético entre bactérias. [12]A forma mais comum de resistência é a transferível, que pode ocorrer por:

- **Transformação**: absorção de DNA de outra bactéria. [17]
- **Transdução**: transferência de genes via vírus bacteriófago. [14 e 15]
- **Conjugação**: troca direta de material genético entre bactérias. [17]
- **Transposição**: movimentação de genes dentro da célula. [17]

Esse processo tem se intensificado devido ao uso indiscriminado de antibióticos, resultando no aumento de bactérias multirresistentes. [18]

3.4 Mecanismo de Resistencia da Bactéria *Klebsiella pneumoniae*

A resistência antimicrobiana em *Klebsiella pneumoniae* é multifacetada e impulsionada por uma combinação de fatores genéticos e adaptativos. A produção de beta-lactamases, enzimas que hidrolisam o anel beta-lactâmico de antibióticos beta-lactâmicos (penicilinas,

cefalosporinas, carbapenêmicos etc.), é o mecanismo de resistência mais comum em *Klebsiella pneumoniae*. As beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs), como CTX-M, SHV e TEM, conferem resistência a uma ampla gama de cefalosporinas de terceira geração. [11]

Mais preocupante ainda é a emergência de carbapenemases, como KPC, NDM e OXA-48, que hidrolisam carbapenêmicos, antibióticos frequentemente considerados de "última linha" para o tratamento de infecções graves. A disseminação plasmidial desses genes de resistência entre diferentes cepas e espécies bacterianas contribui para a rápida expansão do problema. [9]

A membrana externa da *Klebsiella pneumoniae*, como outras bactérias gram-negativas, atua como uma barreira protetora contra a entrada de antibióticos. A diminuição da expressão ou mutação das porinas, canais proteicos que facilitam a passagem de substâncias através da membrana, impede a entrada de antibióticos, aumentando a resistência. Esse mecanismo, frequentemente associado à produção de beta-lactamases, potencializa ainda mais a resistência aos beta-lactâmicos. [10]

Os sistemas de efluxo ativo bombeiam antibióticos para fora da célula, reduzindo sua concentração intracelular e impedindo sua ação. A superexpressão de bombas de efluxo, como AcrAB-TolC, amplifica a resistência a múltiplos antibióticos, incluindo fluoroquinolonas, tetraciclinas e cloranfenicol. A resistência a alguns antibióticos pode ser mediada por mutações nos sítios de ligação do antibiótico em enzimas ou ribossomos bacterianos. Por exemplo, mutações nas girases ou topoisomerases podem conferir resistência a fluoroquinolonas. [5]

A *Klebsiella pneumoniae* possui a capacidade de formar biofilmes, comunidades bacterianas aderidas a uma superfície envoltas em uma matriz polimérica. Os biofilmes conferem resistência a *Klebsiella pneumoniae* por vários mecanismos, incluindo a dificuldade de penetração dos antibióticos na matriz, a presença de bactérias metabolicamente inativas e o aumento da transferência horizontal de genes de resistência. [9]

Diante da complexidade e da diversidade dos mecanismos de resistência da *Klebsiella pneumoniae*, a implementação de estratégias abrangentes é fundamental para conter sua disseminação e garantir o tratamento eficaz das infecções. Promover o uso criterioso e otimizado de antibióticos em hospitais e na comunidade, evitando o uso desnecessário e a seleção de cepas resistentes. [16]

A resistência antimicrobiana da *Klebsiella pneumoniae* representa um desafio crítico para a saúde pública, exigindo uma abordagem multidisciplinar e coordenada para controlar sua disseminação e garantir a disponibilidade de opções terapêuticas eficazes no futuro. O conhecimento detalhado dos mecanismos de resistência é essencial para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento, contribuindo para a proteção da saúde da

população. [10]

3.5 *Klebsiella pneumoniae* e enzima KPC

A *Klebsiella pneumoniae* é um bacilo Gram-negativo pertencente à familia Enterobacteriaceae. Essa bactéria faz parte da microbiota normal do corpo humano e habita principalmente o trato gastrointestinal e nasofaringe. E é uma das principais enterobactérias responsáveis por diversas infecções nosocomiais, ou seja, é a principal causa de infecções no ambiente hospitalar, porém até pouco tempo a principal enterobactéria responsável por esses tipos de infecções era a Escherichia coli, mas a *Klebsiella pneumoniae* vem sendo cada vez mais relatadas nas infecções hospitalares. [19]

Esse aumento da notificação de infecções causadas pela *Klebsiella pneumoniae* é devido ao fato de que, o meio mais comum para a transmissão dessa bactéria é o trato gastrointestinal e as mãos do corpo clínico hospitalar, provocando a rápida disseminação da bactéria. Além disso, possui alguns fatores de virulência que destacam a sua patogenicidade, pois essas bactérias são capazes de produzir uma cápsula polissacaridia, que protege as bactérias de serem fagocitadas pelas células polimorfonucleares e possuem propriedades de adesão, pois utilizam fimbrias ou adesinas para se fixarem nas células epiteliais. [19]

No ano de 1996, na cidade Carolina do Norte, Costa Leste dos Estados Unidos surgiu o primeiro relato da identificação de uma *K. pneumoniae* produtora de KPC. Após a sua descoberta observou-se que houve uma grande disseminação dessa bactéria pelo mundo sendo isoladas de pacientes dos Estados Unidos, Grécia, Colômbia, Itália, China e Israel que sofreram com surtos hospitalares ocasionados por essa bactéria. [15 e 20]

No ano de 2005 na Colômbia foi registrado o primeiro caso da enzima KPC-2 isolados de dois doentes, e foi identificado o gene blaKPC-2, com sequence Types ST258 e ST512, que são sequências de nucleotídeos específicos do DNA do micro-organismos. No mesmo ano também foi relatado o primeiro caso de KPC-2 no Brasil no estado de São Paulo. Já na Argentina o primeiro caso relatado da identificação da enzima KPC-2 foi em 2006. No ano de 2007 foi observado novamente a presença da enzima em quatro pacientes na cidade do Recife, e em 2008 no Rio de Janeiro, observando-se rápida disseminação da enzima por quase todo o território brasileiro. [15, 19 e 20]

Mesmo que essa enzima já tenha sido encontrada em outras enterobactérias, é mais comum a ocorrência em cepas de *K. pneumoniae*. A bactéria produtora de KPC já foi isolada em diversas regiões do Brasil, colocando assim o Brasil como um dos países com maior

prevalência de KPC. [15, 19 e 20]

3.6 Estudos Epidemiológicos da enzima KPC

A descoberta da enzima KPC em 1996 sinalizou o aumento da resistência antimicrobiana e sua rápida disseminação global. Estudos epidemiológicos realizados entre 2007 e 2009 identificaram a presença da KPC em amostras da Europa, dos Estados Unidos e da América Latina. Das 5.516 enterobactérias *Klebsiella sp*. analisadas, 5,3% eram resistentes aos carbapenêmicos e 2,8% apresentavam a enzima KPC, incluindo 10 amostras provenientes do Brasil. [19] No último ano do estudo, 96,2% das amostras isoladas eram produtoras de KPC, evidenciando a disseminação dessa enzima no país. [20]

De acordo com os dados reportados na literatura, a bactéria *Klebsiella pneumoniae* é considerada a causadora de 85% das infecções por cepas multirresistentes e são responsáveis por cerca de 40% das mortes de pacientes infectados por essa bactéria, ressaltando a importância de pesquisas nesta área. [20]

Um estudo no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, realizado entre o periodo de 2012 a 2016, foi isolado um total de 6.219 de *K. pneumoniae* de 6.219 doentes, sendo que 51.7% eram mulheres. Onde, 1.061 amostras foram colhidas no ano de 2012; 1.062 no ano de 2013; 1.149 em 2014; 1.441 em 2015 e 1.506 em 2016. Desse modo observa-se que ocorreu um aumento no numero de casos de infecções por *K. pneumoniae* em todos os anos. Desses 6.219 isolados de *K. pneumoniae*, 59% vieram de amostras de urina; 16% de secreções pulmonares; 10% de hemoculturas; 9% de exsudados; 4% de líquidos biológicos; e 2% de outros produtos, como drenos, proteses, etc. [19]

3.7 Incidência de KPC em hospitais

Estudo entre 2012 e 2015 sobre infecções hospitalares causadas por *Klebsiella pneumoniae* em unidades de terapia intensiva (UTI), envolvendo adultos e neonatos. Foram registrados 21 casos em UTI de adultos e 13 em neonatos, sendo observada a resistência a antimicrobianos, com 41,7% dos isolados expressando ESBL e 23,5% expressando KPC. Em 2012, 42% das amostras de adultos apresentaram ESBL, e 14,2% produziram KPC. Em 2013, 55% das amostras de *K. pneumoniae* foram produtoras de ESBL. Já em 2014, houve um aumento no número de isolados multirresistentes, especialmente produtores de carbapenemases, com 22,2% dos casos sem mecanismos de resistência identificados. As

infecções na UTI de adultos mostraram maior prevalência de KPC comparado à UTI de neonatos. [21]

Em outro estudo realizado no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, Minas Gerais, entre 2013 e 2015, foram analisadas 42 amostras de *K. pneumoniae* produtora de KPC. O estudo revelou que as mulheres foram mais frequentemente infectadas por essa bactéria multirresistente, com destaque para infecções no sítio cirúrgico, embora 24% das infecções tenham ocorrido no trato urinário. [22]

3.8 Mecanismo de ação da KPC *(Klebsiella pneumonieae carbapenemase)*

A enzima KPC *(Klebsiella pneumonieae carbapenemase)* foi descrita pela primeira vez em 1996 nos Estados Unidos, foi isolada da bactéria *K. pneumoniae* e logo se espalhou para outros países. Na Colombia verificou-se o primeiro caso de KPC-2 em cepas de Klebsiella peneumoniae. [23]

A KPC é uma cabapenemase da classe A, uma serina beta-lactamase e é frequente em cepas de *K. Pneumoniae*. [22]A expressão "bactéria multirresistente" é utilizado para classificar os micro-organismos que são resistentes a diversos tipos de antibióticos, como por exemplo a *Klebsiella pneumoniae* KPC que apresenta resistência a 95% dos antimicrobianos disponíveis no mercado farmacêutico. A resistência deve-se a produção da enzima beta-lactamase por *K. Pneumoniae*. [6]

A enzima KPC hidrolisa o anel β-lactâmico dos antibióticos carbapenêmicos, e consequentemente acaba desativando outros anéis como os dos grupos da cefalosporina e penicilina. [23]

O uso indiscriminado de antibióticos promove o surgimento de cepas resistentes, como a carbapenemases KPC ou MBL (metalo β- lactamase). Os genes que codificam essa enzima estão presentes em plasmídeos imobilizáveis que geram ampla difusão e transferência entre bactérias. [15]

Para a confirmação da presença de KPC e detecção da sensibilidade aos carbapenêmicos em enterobactérias é feito um teste de PCR em tempo real para pesquisa do gene blaKPC ou ainda testes de focalização isoelétrica, disco-difusão, E-test e teste de Hodge modificado. [3]

Nas bactérias KPC existe um gene denominado SHV-1 que oferece resistência a maioria dos tipos de antibióticos, principalmente os carbapenêmicos. Em seu DNA pode já constar a informação necessária para codificar o gene de resistêcia, porém, ele só será expresso e entrará em ação quando a bactéria entrar em contato com o antimicrobiano, assim iniciará todo o

mecanismo de defesa. [3]

3.9 Métodos microbiológicos para a identificação de *K. pneumoniae* produtora de KPC

3.9.1 Teste de Hodge modificado

O teste de Hodge é utilizado para detectar a produção da enzima KPC por microrganismos. Ele envolve a semeadura de uma cepa padrão de *Escherichia coli* em ágar Mueller-Hinton e a aplicação de um disco de ertapenem no centro da placa. Em seguida, estrias com a amostra do paciente e uma cepa controle de *K. pneumoniae* são realizadas em direção ao disco. O teste é incubado a 37°C por 18 horas, sendo considerado positivo quando há alargamento do halo de inibição da *E. coli*, indicando produção de carbapenemase. [15] O ertapenem é preferido por apresentar maior sensibilidade e especificidade para detecção de KPC. [24]

Já o teste de diluição em ágar é utilizado para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), que representa a menor concentração de antibiótico capaz de inibir o crescimento bacteriano. A metodologia segue os padrões do CLSI e envolve diluições seriadas do antibiótico em meio de cultura, inoculação da bactéria com concentração padronizada e incubação por 18 a 20 horas. A leitura é feita com base na menor concentração sem crescimento visível. [14 e 15]

3.9.2 Teste de disco difusão

Neste teste, é utilizado discos de antibióticos específicos para o que se deseja investigar, geralmente os mais usados para análise de KPC positivo são: amoxicilina + ácido clavulânico (30µg), ceftazidima (30µg), cefotaxima (30µg), cefepima (30µg), ceftriaxona (30µg), cefoxitina (30µg), gentamicina (10µg), amicacina (30µg), fosfomicina (200µg), ciprofloxacina (5µg), sulfametoxazol + trimetropim (25µg), ertapenem (10µg), imipenem (10µg), tigeciclina (10µg) e meropenem (10µg). Em uma placa de Petri contendo meio de cultura Muller Hinton o microrganismos é semeado de maneira homogênea por toda extensão da placa, os disco são colocados sobre o meio de cultura em uma distância em que os halos possam ser visto de forma clara, após é mantido em uma estufa de incubação por 24 horas a 37ºC. Após o tempo necessário para crescimento é realizada a interpretação dos halos de inibição que são mensurados em milímetros. [15]

3.9.3 Teste do ácido fenil borônico (AFB)

O AFB consegue inibir a ação da KPC, porém quando é adicionada a cloxacilina não ocorre aumento do potencial do ácido. [5] A amostra do paciente é suspensa em uma diluição com turvação 0,5 da escala de McFarland, um swab esterilizado é umedecido nessa amostra turvada e semeado sobre toda a placa de ágar Muller-Hinton. [15]

Os discos de ertapenem, meropenem e imipenem são dispostos na placa de Petri e em seguida é pipetado 10 ul de EDTA, AFB ou CLOXACILINA. [5]

A placa é incubada por 24 horas a 37°C. Na interpretação é considerado o microrganismos produtor de KPC aquele em que o isolado ficou com um halo com diferença de diâmetro igual ou superior a 5 para os antimicrobianos ertapenem e meropenem com AFB. [15]

3.9.4. Testes moleculares para investigação de resistência bacteriana

Testes moleculares para investigação de resistência bacteriana
Os testes fenotípicos são utilizados apenas como triagem, enquanto os testes moleculares, como Proteína C-reativa – PCR e sequenciamento, confirmam a presença da enzima KPC. (5) A PCR é um método preciso e sensível para detectar o gene blaKPC, porém requer equipamentos especializados, o que limita sua aplicação rotineira em laboratórios de microbiologia. O teste utiliza primers específicos e ocorre em um termociclador, passando pelas etapas de desnaturação, anelamento e extensão. A amplificação do gene é analisada por fluorescência em gel de agarose, sendo a intensidade da fluorescência proporcional à quantidade de produto formado. [25]

4 CONCLUSÃO

Os antibióticos trouxeram inúmeros benefícios para o tratamento de infecções que antes pareciam ser incuráveis, se tornando um fármaco de extrema importância clínica. Porém ao longo dos anos a problemática da resistência bacteriana veio a tona e se tornou motivo de preocupação, algumas cepas se tornaram resistentes a maioria dos antibióticos lançados no mercado, devido a administração dos antimicrobianos com dosagens feitas de maneira incorreta e equivocada, que muitas das vezes são realizadas sem a prescrição médica.

A *K. pneumoniae* por ser um dos micro-organismos com capacidade de resistir a

diversos antibióticos torna-se uma bactéria muito importante e que merece atenção. Sua prevalência incide principalmente em infecções nosocomiais gerando um grande alarme, pois sua disseminação ocorre de forma rápida e difícil de conter.

Os antimicrobianos combatem os microrganismos de diversas formas e atuam em diferentes locais na bactéria, porém algumas bactérias conseguiram agir contra o fármaco através de importantes mecanismos de ação. Um importante mecanismo de resistência observado foi a produção da enzima *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, uma beta-lactamase que inibe a ação dos antibióticos carbapenêmicos e que apresenta rápida disseminação pelo mundo, devido a capacidade de transmissão por meio de elementos genéticos móveis, como os plasmídeos.

Portanto, os testes microbiológicos e moleculares auxiliam na detecção da bactéria e da enzima, e ajudam o médico na indicação do melhor tratamento contra essa bactéria. Porém, o controle da disseminação dessa bactéria é algo que está ao nosso alcance, pois depende muito do cuidado com o manuseio dos materiais de trabalho em hospitais e da higienização das mãos do corpo clínico hospitalar, assim como a esterilização dos equipamentos que são portas de entrada para esses micro-organismos. Quando esses procedimentos são feito de forma correta contribuem de forma considerável para o controle da evolução da resistência bacteriana. Os estudos relacionados a resistência bacteriana possibilita assim uma melhor compreensão da sua evolução e disseminação, fazendo com que a gravidade dessa questão seja entendida e tratada como algo de extrema relevância por toda sociedade.

REFERÊNCIAS

1. Goodman LS, Gilman AG, Gilman A. (1980) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: MacMillan Publishing Company;.

2. Oliveira RC, Camargo AEB, Cassiani SHDB. (2005) *Estratégias para prevenção de erros na medicação no setor de emergência*. Rev Bras Enferm;58(4):399-404.

3. Moreira T, Freire D. (2025) *Klebsiella pneumoniae e sua resistência a antibióticos* [Internet]. [cited Apr 2]. Available from: https://adm.online.unip.br/img_ead%20masterpiece_dup/36843.PDF

4. Figueiredo FN. (2018) *Avaliação de mutações associadas a resistência a Tigeciclina em isolados clínicos de Klebsiella pneumoniae produtoras de Carbapenemase do tipo KPC* [Internet]. [cited 2025 Mar 14]. Available from: https://bdtd.ucb.br:8443/jspui/handle/tede/2389

5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2013) *NOTA TÉCNICA Nº 01/2013: Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes* [Internet]. Brasília; Apr 17 [cited unknown]. Available from: https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201706/30132435-1369161512-nota-tec-01-2013-anvisa.pdf

6. Maciel BC, Mattos LPatrVD. (2013) A bactéria multirresistente Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC). *Atas Ciênc Saúde*. 2013;1(2):[sem paginação]. Available from: https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/553

7. Da Costa ALP, Silva Junior ACS. (2017) *Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura.* Estação Científica *(UNIFAP)*;7(2):45-53.

8. Trabulsi LR, Alterthum F. (2015) *Microbiologia*. 6ª ed. São Paulo: Atheneu.

9. Faria TV, Pessalacia JDR, Silva ES. (2016) *Fatores de risco no uso de antimicrobianos em uma instituição hospitalar: reflexões bioéticas*. Acta Bioeth. 2016;22(2):321-9.

10. Martins NB, et al. (2019) *Análise da prescrição médica de antibióticos de uma farmácia comercial do município de Imperatriz-MA* [Internet]. [cited 2019 Apr 25]. Available from: https://assets.itpac.br/arquivos/revista/74/artigo10.pdf

11. Santos MC, Ribeiro M. (2016) *Bactérias de relevância clínica e seus mecanismos de resistência no contexto das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)*. Rev Científica UMC. 2016;1(1):[sem paginação]. Available from: https://revista.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/13

12. Lima CC, Benjamim SCC, Santos RFS. (2017) *Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão*. CuidArte Enferm. 2017;11(1):105-13. Available from: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/bde-31632

13. Sousa JC. (2017) *Identificação de mecanismos de resistência bacteriana em isolados de Klebsiella pneumoniae em hospitais do nordeste brasileiro*. 2017.

14. Pavez Aguilar MA. (2009) *Caracterização molecular da resistência aos carbapenêmicos em enterobactérias isoladas em hospitais brasileiros* [Internet]. 2009 [cited 2025 Mar 14]. Available from: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-28092009-144325/

15. Nhambe LF. (2014) *Caracterização de carbapenemases do tipo KPC em enterobactérias de origem clínica* [Internet]. 2014 [cited 2025 Mar 14]. Available from: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-27052015-150406/

16. Barbosa LA. (2014) Resistência bacteriana decorrente do uso abusivo de antibióticos: informações relevantes para elaboração de programas educativos voltados para profissionais da saúde e para a comunidade. 2014.

17. Ribeiro M, Cortina MA. (2020) *As principais bactérias de importância clínica e os mecanismos de resistência no contexto das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde* [Internet]. [cited unknown]. Available from: file://D:/Users/Seven/Documents/faculdade/TCC/Microbiologia/Artigo%20-

%20principais%20bact%C3%A9rias%20e%20os%20mecanismos%20de%20resistencia.pdf

18. Barker SJ, Payne DJ, Rappuoli R, De Gregorio E. (2018) *Technologies to address antimicrobial resistance*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115(51):12887-95. Available from: https://www.pnas.org/content/115/51/12887

19. Reis T. (2017) *Estudo Epidemiológico de Klebsiella pneumoniae Resistentes aos Carbapenemas no Centro Hospitalar Universitário de Coimbra: Emergência de Carbapenemases* [Internet]. [cited 2025 Apr 2]. Available from: https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/83684

20. Antochevis L, Zavascki AP. (2017) *Avaliação do perfil de sensibilidade e caracterização molecular de isolados de Klebsiella pneumoniae produtores de KPC isoladas de corrente sanguínea em quatro hospitais de Porto Alegre* [Internet]. 2017 [cited 2025 Apr 2]. Available from: https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/174721/001063886.pdf?sequence=1

21. Silva A, Velasquez ACP, Guguel PA. (2019) *Perfil de resistência de Klebsiella pneumoniae isoladas de pacientes da unidade de terapia intensiva de um hospital no sudoeste do Paraná* [Internet]. [cited 2019 Apr 14]. Available from: https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumS/article/download/2091/2077

22. Almeida ML. (2017) *Resistência bacteriana: uma ameaça global*. Braz J Health Rev. 2017;6(5):19741-8.

23. Figueiral FN, Faria T. (2014) *Mecanismos de resistência de Klebsiella pneumoniae produtoras de carbapenemase: uma análise molecular*. 2014.

24. Dienstmann R, Picoli SU, Meyer G, Schenkel T, Steyer J. (2010) *Avaliação fenotípica da enzima Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) em Enterobacteriaceae de ambiente hospitalar*. *J Bras Patol Med Lab*. 2010;46(1):23-7. Available from: https://www.scielo.br/j/jbpml/a/wWg6tbkYQXdwj4cB7DFBFch/?lang=pt

25. Rocchetti TT. *Detecção bacteriana e de genes de resistência a antimicrobianos pela técnica de PCR em tempo real em infecções de corrente sanguínea de pacientes submetidos a transplantes de órgão* [Internet]. [cited unknown]. Available from: http://www.lemc.com.br/public/uploads/teses/Talita_Trevizani_Rocchetti-MESTRADO.pdf