

Finalidade:

Meio seletivo para isolamento de *Enterobacterales* e outros Bacilos Gram negativos resistentes aos carbapenêmicos

Registro ANVISA:

10097010167

Apresentação:

540209 - KPC CROMOGENICO-20mL-PL90X15-10PL
540225 - BIPLACA KPC CROMOGENICO-2x10mL-10PL

LB 172247

Rev. 11 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

A resistência a carbapenêmicos é atualmente um dos grandes desafios nos serviços de assistência à saúde, encontrada em membros da família *Enterobacterales* e Bacilos Gram negativos não fermentadores da glicose como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.

Os documentos BrCAST e CLSI determinam critérios de sensibilidade aos carbapenêmicos* (imipenem, ertapenem e meropenem) para realização dos testes de triagem iniciais, sem a necessidade da realização de testes confirmatórios, como por exemplo os testes com inibidores de carbapenemases, sendo este realizado apenas para fins de estudos epidemiológicos.

A presença de microrganismos multirresistentes é uma constante na medicina atual. Os riscos associados a surtos ou epidemias estão entre as preocupações de maior criticidade médica, devido ao impacto e alto custo na saúde pública, sendo fortes causadores morbidade e mortalidade principalmente nos casos de infecções da corrente sanguínea.

De acordo com a Nota técnica nº1 de 2010 da ANVISA, as medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes se baseiam no controle do fenômeno da resistência microbiana.

São considerados, pela comunidade científica internacional, patógenos multirresistentes causadores de infecções/colonizações relacionadas à assistência em saúde: *Enterococcus* spp. resistente aos glicopeptídeos, *Staphylococcus* spp. resistente ou com sensibilidade intermediária a vancomicina, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, e Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ertapenem, meropenem ou imipenem).

- Bactérias Multirresistentes ou Multidroga resistente (MDR, do inglês "Multidrug resistant") – Apresentam resistência a um ou mais antimicrobiano de três ou mais classes.

- Bactérias Extremamente resistentes ou Extensivamente resistentes às drogas (XDR, do inglês "Extensive Drug Resistant") - Apresentam resistência a um ou mais antimicrobiano em quase todas as classes (exceto uma ou duas).

- Bactéria Panresistente ou Pandroga resistente (PDR, do inglês "PanDrug Resistant") – Apresenta resistência a todos os antibióticos de todas as classes.

Com o objetivo de minimizar a transmissão cruzada de microrganismos resistentes, devem ser tomada algumas medidas, como a detecção de indivíduos colonizados e isolamento de contato de indivíduos não colonizados. Entre as medidas de monitoramento, estão as culturas de vigilância epidemiológica.

Culturas de vigilância: Acompanhamento do Serviço de controle de infecção hospitalar (SCIH) na prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) por microrganismos multirresistentes, permitindo o monitoramento adequado de patógenos multirresistentes, em parceria com o laboratório de microbiologia. E avaliar a necessidade de implantar coleta de culturas de vigilância, de acordo com o perfil epidemiológico da instituição.

Atribuições do Laboratório de Microbiologia:

Identificação de patógenos multirresistentes – Rapidez e qualidade nos exames realizados – Notificação imediata à SCIH.

Após a triagem da resistência aos carbapenêmicos podem ser realizadas a caracterização das carbapenemases pelos métodos descritos a seguir:

TESTES FENOTÍPICOS CONFIRMATÓRIOS INDICADOS PARA CONFIRMAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CARBAPENEMASES, EM ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS OU EM CONTROLES DE INFECÇÃO HOSPITALAR:

| | CarbaNP | mCIM | mCIM / eCIM |
|-----------------------|--|--|--|
| Microrganismos | <i>Enterobacterales</i> e <i>P. aeruginosa</i> não susceptíveis a 1 ou mais carbapenêmicos | <i>Enterobacterales</i> e <i>P. aeruginosa</i> não susceptíveis a 1 ou mais carbapenêmicos | <i>Enterobacterales</i> positivas no mCIM |
| Vantagens | Resultados rápidos | Não há necessidade de reagentes especiais. | Não há necessidade de reagentes especiais. |
| Limitações | -Requer aquisição de reagentes especiais. -Resultados inconclusivos podem ocorrer em alguns isolados. -Certos tipos de carbapenemases não são consistentemente detectados. | Requer incubação <i>over-night</i> | Requer incubação <i>over-night</i> |

Além das pesquisas com os testes CarbaNP, mCIM e eCIM, as carbapenemases com auxílio de inibidores, podem ser diferenciadas em metalobetalactamase e serina carbapenemases.

METALOBETALACTAMASE

Inibidos por quelantes de zinco (EDTA e Álcool Mercaptopropiônico). Fenótipos mais comuns: NDM, IMP, SPM, VIM, GIM, outras.

No quadro abaixo estão descritas as principais resistências às classes de antibióticos mediadas por metalobetactamases e seus respectivos inibidores.

| Penicilinas | Cefalosporinas | Monobactams | Carbapenems |
|---|--------------------------------------|-------------|-------------|
| Pen. G | 1ª Geração – Cefazolina | Aztreonam | Imipenem |
| Oxacilina | 2ª Geração - Cefoxitina | | Meropenem |
| Piperacilina | 3ª Geração - Cefotaxima, Ceftazidima | | Ertapenem |
| | 4ª Geração - Cefepime | | Doripenem |
| Inibidos por EDTA, AMP Tipos: NDM, IMP, SPM, VIM, GIM, outras. | | | |

- Pode ser utilizado para isolamento utilizando culturas recentes de bactérias 18-24 horas.
- Swab de vigilância, coletado em swab Amies ou Stuart com ou sem carvão.
- Culturas de vigilância para pesquisa de KPC devem sempre incluir amostras de swab retal ou perianal (melhor sensibilidade), podendo ser combinados com secreção de orofaringe, endotraqueal, inguinal, sendo que esses últimos não devem ser escolhidos como sítios únicos.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

SERINA CARBAPENEMASE

Inibidos por ácido clavulânico e ácido fenilborônico
 Fenótipos mais comuns: KPC, GES, outras.
 No quadro a seguir estão descritas as principais resistências às classes de antibióticos mediados por serina carbapenemases e seus respectivos inibidores.

b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado ao uso diagnóstico *in vitro*;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material usado, recomendamos o uso do Detrilab.

| Penicilinas | Cefalosporinas | Monobactams | Carbapenems |
|---|--------------------------------------|-------------|-------------|
| Pen. G, | 1ª Geração – Cefazolina | Aztreonam | Imipenem |
| Oxacilina | 2ª Geração - Cefoxitina | | Meropenem |
| Piperacilina | 3ª Geração - Cefotaxima, Ceftazidima | | Ertapenem |
| | 4ª Geração - Cefepime | | Doripenem |
| Inibidos por Ácido Clavulânico, Ácido Phenil Boromico Tipos: KPC, GES, outras. | | | |

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

Meio contendo cromógenos específicos para espécies de **Enterobacterales**, inibidores para microbiota contaminante, antimicrobianos na concentração do *cut-off* (Conforme BrCast) capaz de isolar espécies não sensíveis aos carbapenêmicos.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 8°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Devido a concentração de antibióticos no meio de cultura, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

Deve ser tomado cuidado na detecção das serinobetalactamases, pois podem ser confundidas com os perfis de resistência tanto de uma hiperprodução de ESBL quanto de uma *AmpC* plasmidial. As ESBL e *AmpC* não hidrolisam carbapenêmicos em quantidade ou velocidade que possam causar resistência, mas todas elas têm um pequeno potencial de hidrólise. Se houver uma hiperprodução destas enzimas e principalmente se estiverem associadas a diminuição da permeabilidade da membrana externa (porinas e bombas de efluxo) pode ocorrer resistência aos carbapenêmicos.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouca a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização. A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto.

*Para maiores informações sobre os testes citados acima, consultar os documentos BrCAST ou CLSI.

2. COMPOSIÇÃO

| Formulação | g/L |
|------------------------------------|--------|
| Peptona (bovina ou suína) | 10,5 |
| Fatores de crescimento | 2,6 |
| Inibidores | 1,55 |
| Ágar base | 17,0 |
| Mistura de substratos cromogênicos | 0,4 |
| Água deionizada | 1000mL |
| pH 7,0 ± 0,2 a 25°C | |

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa (± 37°C) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

Devido a presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;

- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar placas com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para “Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A” para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica,
- Bico de Bunsen;
- Alças bacteriológicas.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem usadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
- b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 33-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;
- c- Usando procedimentos adequados, proceder a inoculação do material diretamente na superfície do meio;
- d- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 33-37°C/18-24h.
- e- Após a incubação analisar o desenvolvimento de colônias e analisar as cores conforme descrito a seguir:

| Cores das Colônias | Microrganismo |
|---|---|
| Rósea, magenta, avermelhado | <i>Escherichia coli</i> |
| Verde escura a azul metálico com ou sem halo rosado | Presume-se grupo KESC (<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. ou <i>Citrobacter</i> spp.); |
| Cinza a verde espalhada | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| Amarelo a marrom ou verde com halo marrom | <i>Proteus</i> spp., <i>Morganella</i> spp., <i>Providencia</i> spp. |
| Branca a transparente | <i>Acinetobacter</i> spp. |
| Frequentemente inibido | Fungos e leveduras |
| Frequentemente inibido | Cocos Gram-positivos |
| Inibição | Cepas sensíveis aos carbapenêmicos |

- f- A interpretação das colônias deve sempre levar em consideração as características morfológicas e, quando necessário, as microscópicas.
- g- Pode ser necessário a incubação por mais 24h, para melhor desenvolvimento das cores das colônias e diferenciação das espécies.
- h- Caso haja crescimento de qualquer colônia que não corresponda as características descritas, ou para casos em que não ocorra a formação completa da coloração sugerida, proceder com testes identificação e confirmatórios para Bacilos Gram-negativos conforme metodologia seguida pelo laboratório, para descartar a presença de outros isolados com resistência aos carbapenêmicos ou a presença de outras variantes de genes.

7. RESULTADOS

Relatório

- Não houve crescimento:

“Ausência de microrganismos resistentes aos carbapenêmicos na amostra analisada”.

- Havendo crescimento:

“Presença de _____ (citar espécie isolada) sugestivo de resistência aos carbapenêmicos na amostra analisada”.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

- A utilização de antibióticos na formulação pode acarretar foto sensibilidade, acarretando degradação, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Algumas variações de cor, apresentando tonalidades e intensidades diferentes entre si, podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- A presença de mais de uma variante genética intrínseca a cepa analisada, *E. coli* Lactose negativa, por exemplo, pode interferir na coloração gerada pelos cromógenos. É possível que características únicas ou mutadas da cepa ou do portador possam interferir no desempenho dos cromógenos afetando ou retardando o total desenvolvimento de cor das colônias.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na ação dos cromógenos.
- Alguns microrganismos, não KPC, que possam apresentar resistência à carbapenêmicos ou aos demais inibidores de flora, podem se desenvolver no meio de cultura, porém suas características fenotípicas são facilmente diferenciadas.
- Esta é uma análise qualitativa, o crescimento está condicionado a microrganismos resistentes à carbapenêmicos e não susceptíveis aos inibidores de flora utilizado. A possibilidade de haver genes diferentes em uma mesma cepa com fenótipo similar pode ocasionar um crescimento reduzido.
- Este meio de cultura pode apresentar precipitados em seu interior, devido a cristalização de inibidores, estes precipitados não interferem no desempenho do meio de cultura ou alteram a capacidade de crescimento de microrganismos.

Os resultados falso-negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Técnica de coleta inadequada;
- Incubação em temperatura inadequada;
- Uso de antimicrobiano prévio;
- Utilização de alça flambada não resfriada;
- Tempo de incubação insuficiente;
- Infecção crônica (infecção pouco ativa);
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado;
- Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura;
- Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Materiais necessários

Cepas padrão: ATCC® (American Type Culture Collection) ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

| Especificação | Resultado esperado |
|--|---|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC-BAA® 1705 | Crescimento bom – colônias verdes |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 | Inibição |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 | Inibição |
| Meio não inoculado | Meio levemente opaco, com coloração bege. |

- Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- Análise dos resultados

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

- Este produto apresenta sensibilidade e especificidade $\geq 95\%$ frente a genótipos KPC e NDM-1.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

- Koneman, Elmer; *et al.* Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
- Mahon, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
- Prevalence and molecular characterization of *Enterobacteriaceae* producing NDM-1 carbapenemase at a military hospital in Pakistan and evaluation of two chromogenic media
- Day KM, *et al.* Diagnostic Microbiology And Infectious Disease 2013;75:187-91- Murray, P.R. *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
- Detection of carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae* by use of a novel screening medium
- Nordmann P, Girlich D, Poirel L. J Clin Microbiol. 2012 Aug;50(8):27616. doi: 10.1128/JCM.06477-11. Epub 2012 Feb 22.
- Department of Health Advisory Committee on Antimicrobial Resistance and Healthcare Associated Infection (ARHAI) and Health Protection Agency. 28 Jan 2011.
- Cohen S.J., Leverstein-Van Hall M.A., (2010) Int. J. Antimicrob. Agents 36, 205–210.
- Queenan, A. M.; Bush, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clinical microbiology reviews, v. 20, n. 3, p. 440–58, table of contents, 2007.
- Doi, Y.; Potoski, B. A.; Adams-Haduch, J. M.; *et al.* Simple Disk-Based Method for Detection of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Type β -Lactamase by Use of a Boronic Acid Compound. Journal of clinical microbiology, v. 46, n. 12, p. 4083–4086, 2008.
- Ambler, R. P. The Structure of beta-lactamases. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 289, n. 1036, p. 321–331, 1980.
- 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.
- Tumbarello, M.; Viale, P.; Viscoli, C.; *et al.* Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, v. 55, n. 7, p. 943–50, 2012.
- Tuon FF, Bianchet LC, Pentead-Filho SR. Epidemiology of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacter bacteremia in a Brazilian hospital. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43:452-4.
- Anderson K. F., *et al.* 2007. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol. 45:2723–2725.

- Hirsch E. B., Tam V. H. 2010. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. J. Antimicrob. Chemother.65:1119–1125
- Difco Manual, 2nd edition 2009.



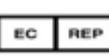
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone (41) 3661-9000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

| | | | |
|---|--|---|---|
|  | Código do produto |  | Número de lote |
|  | Número de série |  | Fabricante |
|  | Consultar instruções para utilização |  | Validade |
|  | Temperatura de armazenagem (limite de temperatura) |  | Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> . |
|  | Não utilizar se a embalagem estiver danificada |  | Representante autorizado na Comunidade Européia |
|  | Quantidade suficiente para <n> ensaios |  | Frágil, manusear com cuidado |
|  | Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento |  | Esterilização utilizando óxido de etileno |
|  | Esterilização utilizando irradiação |  | Esterilizado utilizando vapor ou calor seco. |
|  | Risco biológico |  | Cuidado. Importante consultar instruções de uso. |
|  | Controle |  | Controle Negativo |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | Controle Positivo |  | Manter seco |
|  | Manter afastado da luz solar e longe do calor |  | Somente para avaliação de desempenho |
|  | Não utilizar |  | Não reesterilizar |

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)