

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES
***Klebsiella pneumoniae* carbapenemase – ENZIMA KPC**
nas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
(IRAS)

Vinícius de Oliveira Cunha

BELO HORIZONTE/MG

2014

Vinícius de Oliveira Cunha

BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES
***Klebsiella pneumoniae carbapenemase* – ENZIMA KPC**
nas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
(IRAS)

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do Grau de Especialista em Microbiologia.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Profa. Dra. Fátima Soares Motta Noronha.

BELO HORIZONTE/MG
2014

VINÍCIUS DE OLIVEIRA CUNHA

BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

***Klebsiella pneumoniae carbapenemase* – ENZIMA KPC nas
Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)**

A banca examinadora abaixo-assinada aprova a Monografia apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia pelo Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Profa. Dra. Fátima Soares Motta Noronha.

Aprovada em: ____/____/____

Kelly Moreira Grillo Ribeiro Branco

Assinatura:_____

Universidade Federal de Minas Gerais

Fátima Soares Motta Noronha

Assinatura:_____

Universidade Federal de Minas Gerais

Aos meus pais e minha irmã.
O meu muito obrigado pelo apoio e motivação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida e amor, por me trazer a paz em momentos de ansiedade e paciência nos momentos de cansaço.

Aos meus pais, José Antônio e Geralda, minha irmã Débora, e minha namorada, pela confiança, motivação e empenho para que eu realizasse este curso.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e amizade nos momentos difíceis. Pelas ajudas que recebi em todas as dificuldades pelas quais passei.

Aos colegas da turma de pós-graduação, em especial Magna e Danielle, pelo companheirismo durante todo este ano com uma convivência tranquila e agradável.

À Prof.^a Dr.^a Fátima Soares Motta Noronha, minha orientadora, pelo conhecimento transmitido, pelo tempo dedicado e pela oportunidade oferecida.

A todos os professores da Especialização em Microbiologia, que fizeram com que eu me empenhasse nos estudos e chegasse até onde cheguei.

E por fim, ao Hospital Mater Dei, e especialmente à Dra. Flávia Massote, pelo incentivo e apoio para que esta pós-graduação fosse concretizada com sucesso.

“Lute com determinação abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito bela para ser insignificante.”

Charles Chaplin

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC - Ácido Clavulânico
AmpC - β -lactamase classe C
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BGN - Bacilos Gram-negativos
BMR - Bactérias multirresistentes
BNF - Bacilo Gram-negativo classificado como não fermentador
CCIH - Comissões de Controle de Infecções Hospitalares
CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*
CECIH - Coordenações de Controle de Infecção Hospitalar do Estado
CGP - Cocos Gram-positivos
CMCIH - Coordenações de Controle de Infecção Hospitalar do Município
CVC - Cateter venoso central
ESBL - β -lactamases de amplo espectro
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IH - Infecções hospitalares
IMP - Imipenem resistente
IPCS - Infecções primárias da corrente sanguínea
IRAS - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ISC - Infecções do sítio cirúrgico
ITU - Infecções do trato urinário associado a cateter
LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MBL - Metallo- β -lactamases
MRSA - *Staphylococcus spp.* resistentes a meticilina
MS - Ministério da Saúde
NNIS - *National Nosocomial Infections Surveillance*
NDM - *New Delhi Metallobetalactamase*
OMS - Organização Mundial de Saúde
OXA - Oxacilina
pAmpC - AmpC plasmidiais

PAV - Pneumonias hospitalares ou associadas à ventilação mecânica
PBP - Proteínas ligadoras de penicilina
SciELO - *Scientific Electronic Library Online*
SCIH - Serviços de Controle de Infecção Hospitalar
SECIH - Serviço de Epidemiologia e Controle de Infecção Hospitalar
SHV - Sulfidrilvariável
TEM - Temoniera
UTI - Unidades de Terapia Intensiva
VISA - *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina
VRE - *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina
VRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina
WHO - *World Alliance for Patient Safety*

SUMÁRIO

RESUMO	10
1 INTRODUÇÃO	12
2 JUSTIFICATIVA	15
3 OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo geral	16
3.2 Objetivos específicos	16
4 METODOLOGIA	17
5 REVISÃO DA LITERATURA	18
5.1 Infecções Relacionadas à Assitência à Saúde (IRAS)	18
5.2 <i>Enterobacteriaceae</i>	20
5.3 Diagnóstico da Infecção	22
5.4 Resistência Bacteriana	24
5.5 Resistência aos Antibióticos β -lactâmicos	27
5.5.1 <i>Alteração da permeabilidade</i>	28
5.5.2 <i>Modificação do alvo</i>	29
5.5.3 <i>Bombas de efluxo</i>	29
5.5.4 <i>Inativação enzimática</i>	30
5.6 β -lactamases.....	30
5.6.1 <i>AmpC</i>	31
5.6.2 <i>β-lactamases de amplo espectro – ESBL</i>	33
5.6.3 <i>Carbapenemases – Metallo-β-lactamases e KPC</i>	35
5.7 Tratamento	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

RESUMO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) podem ser classificadas como aquelas adquiridas pelas pessoas enquanto estão recebendo tratamento para outra condição em um ambiente de assistência à saúde. Quando relatadas, essas infecções se configuram como os sintomas mais evidentes da inadequação do sistema de saúde. O ambiente ocupado por pacientes colonizados ou infectados pode se tornar contaminado por bactérias e constituir um reservatório secundário, que favorece a transmissão cruzada. Desta forma, há o surgimento de novas linhagens que produzem enzimas como as β -lactamases do tipo de amplo espectro (ESBL), AmpC e carbapenemases, dentre elas, metalo- β -lactamases e a KPC, que são capazes de degradar antibióticos, produzir modificações que impedem a sua entrada ou alterar o sítio de ação das drogas, ações que fazem parte dos mecanismos de resistência de bactérias Gram-negativas. O isolamento dessas bactérias e a explanação de seus mecanismos de resistência favorecem o conhecimento sobre a atuação das bactérias multirresistentes, auxiliando as indústrias a buscarem novas drogas antimicrobianas, capazes de reduzir as infecções de difícil tratamento. As estratégias que favorecem o combate às bactérias multirresistentes dispõem não apenas sobre o controle de medicamentos à base de substâncias antimicrobianas, isoladas ou em associações, classificando-as sob o uso de prescrição, mas também sobre a necessidade do reforço da manutenção das condições adequadas de higiene como ação de extrema importância na prevenção e controle das IRAS.

Palavras chave: IRAS, mecanismos de resistência, β -lactamases, bactérias multirresistentes.

ABSTRACT

The Associated Infections at Health Care (AIHC) can be classified as those acquired by the people while they are receiving treatment for another condition in a health care environment. When reported, these infections are characterized as the most obvious symptoms of the inadequacy of the health system. The environment occupied by colonized or infected patients may become contaminated by bacteria and constitute a secondary reservoir, which favors cross transmission. Thus, there is the appearance of new strains that produce enzymes β -lactamases such as the type of broad spectrum (ESBL), AmpC carbapenemases and, among them, metallo-beta-lactamases and KPC, which are capable of degrading antibiotics, and may also produce changes that prevent the entry or change the site of action of drugs that are part of the resistance mechanisms of Gram-negative bacteria. The isolation of these bacteria and the explanation of their resistance mechanisms further knowledge about the performance of multiresistant bacteria, helping the industries to seek new antimicrobial, drugs able to reduce infections difficult to treat. Strategies that favor the fight against multidrug-resistant bacteria have not only on the control of drugs based on antimicrobial, alone or in association substances, ranking them in the use of prescription, but also on the need to strengthen the maintenance of appropriate conditions hygiene action as extremely important in the prevention and control of HAIC.

Keywords: HAIC, mechanisms of resistance, β -lactamase, multiresistant bacteria.

1. INTRODUÇÃO

A problemática em torno das infecções hospitalares ainda prevalece como um grande desafio à saúde pública em todo o mundo, e se trata de uma apresentação epidemiológica com implicações graves tanto sociais quanto econômicas, além da ameaça constante da disseminação de bactérias multidroga resistentes.

Essas infecções somam-se às disfunções físicas e estresse emocional do paciente podendo levar a condições incapacitantes, que reduzem a qualidade de vida e, eventualmente, levam a um aumento da letalidade. A ampliação nos custos associados à assistência à saúde é um dos efeitos, no qual o prolongamento do tempo de hospitalização do paciente com IH se torna um elemento importante, produzindo não só aumento nos custos diretos como também nos indiretos, devido a perdas de dias de trabalho. Além disso, o aumento do número de drogas utilizadas, a necessidade de procedimentos de isolamento e precauções, exames laboratoriais e outros estudos diagnósticos adicionais também podem produzir efeitos nos custos atribuídos.

O termo utilizado como Infecções Hospitalares vem sendo substituído por Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) que abrange todos os estabelecimentos onde é prestado qualquer tipo de serviço à saúde, retirando o foco apenas dos hospitais. Vem sendo utilizado para definir as infecções cuja aquisição está relacionada a um procedimento assistencial ou a internação. Podem ser exemplificadas como pneumonias hospitalares ou associadas à ventilação mecânica (PAV), infecções do trato urinário associado a cateter (ITU), infecções do sítio cirúrgico (ISC), infecções da corrente sanguínea associada a cateter venoso (IPCS). Em termos cronológicos, considera-se quando os sintomas ocorrem 72 horas após a admissão do paciente, ou quando na admissão houver presença da infecção e um posterior agravamento ou isolamento de outro patógeno na mesma topografia.

A antibioticoterapia indiscriminada nas últimas décadas tem levado à proliferação de bactérias patogênicas, envolvendo uma variedade de doenças,

que apresentam resistência a múltiplos antibióticos, sendo conhecidas como bactérias multirresistentes.

São muitos os fatores envolvidos na disseminação desses patógenos multirresistentes, dentre eles o uso abusivo de antimicrobianos, realização de procedimentos invasivos (implantação de próteses médicas, cirurgias e outros) e a capacidade que as bactérias possuem de transmitir seu material genético com a informação de resistência a antibióticos.

Atualmente são muitos os patógenos multirresistentes causadores de infecções/colonizações relacionadas à assistência em saúde, considerados pela comunidade científica internacional. São eles: *Staphylococcus* spp. resistentes ou com sensibilidade intermediária à vancomicina (VISA/VRSA) e meticilina (MRSA), *Enterococcus* spp. resistente aos glicopeptídeos, Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos (Ertapenem, Meropenem ou Imipenem) - *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., entre outras, e também *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.

As bactérias que vêm se destacando são as produtoras de uma enzima denominada carbapenemase, mais especificamente a KPC, sigla de *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, pois foi nessa bactéria que foi inicialmente encontrada, em 1996, na Carolina do Norte, Estados Unidos.

A carbapenemase é uma enzima produzida por bactérias Gram-negativas, podendo associar esta característica às enterobactérias, que confere resistência aos antibióticos da classe dos carbapenêmicos: Meropenem, Ertapenem, Imipenem, além de ser capaz de inativar agentes β -lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos. Portanto vale ressaltar a importância dos carbapenêmicos no tratamento de infecções envolvendo a família *Enterobacteriaceae*, principalmente em pacientes hospitalizados.

Sabe-se que a KPC apresenta um potencial alto de disseminação, sendo a *Klebsiella pneumoniae* uma bactéria com alta capacidade de transferir seu material genético, e conseqüentemente, seus genes de resistência. Esse fator é responsável por dificultar o controle de epidemias, e vem preocupando muitos profissionais de saúde, uma vez que o tratamento destas infecções é

extremamente difícil, o que faz elevar as altas taxas de mortalidade. Esta carbapenemase também pode ser encontrada em outras bactérias da mesma família, como: *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* spp., *Citrobacter freundii* e até mesmo *Acinetobacter baumannii*.

Portanto, o conhecimento dos métodos e estratégias de identificação da KPC é de suma importância, a fim de auxiliar na redução dos índices de morbimortalidade ligado às infecções, além de limitar sua disseminação. Porém, a identificação fenotípica desta carbapenemase (KPC) dentre as enterobactérias ainda é difícil e as estratégias para sua identificação podem e devem ser ajustadas e revistas, visando o tratamento adequado dos pacientes que porventura apresentem casos de infecção por bactérias multidroga resistentes.

2. JUSTIFICATIVA

Atualmente, várias bactérias apresentam habilidade de desenvolver mecanismos de resistência enzimáticos, sendo estes um grande problema na hora da escolha do antibiótico para o tratamento do paciente. Na família *Enterobacteriaceae*, a produção de *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), por *Klebsiella pneumoniae*, é um mecanismo emergente e de alta importância clínica. A KPC é uma enzima que confere resistência aos antimicrobianos carbapenêmicos e, além disso, é capaz de inativar grupos de antimicrobianos que apresentam anel β -lactâmico em sua estrutura.

A pesquisa e o conhecimento sobre essa enzima são relevantes a fim de limitar sua disseminação, contribuindo para a redução dos índices de morbidade e mortalidade ligados a diferentes doenças infecciosas, nas quais é imprescindível a vigilância microbiológica, juntamente com ação dos serviços de infecção hospitalar.

O surgimento rotineiro dos surtos no âmbito hospitalar vem sendo evidenciado como um desafio a ser considerado, visto que se tornou um problema de difícil resolução, que acomete tanto os hospitais públicos quanto privados. Além disso, existem os impactos sociais e econômicos que são consideravelmente aplicáveis, devido ao aumento crescente do número de pessoas, bem como da frequência de condições de imunossupressões, com a introdução de novos patógenos e aumento da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos.

Diante desse contexto, faz-se importante a realização de estudos adicionais que possam vir a auxiliar no desenvolvimento de práticas clínicas mais seguras na escolha e indicação do uso de antibióticos, além de permitir que se conheça mais sobre este mecanismo de resistência, para aumentar o banco de informações para a realização de pesquisas avançadas nesta área.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Realizar uma revisão bibliográfica, abordando questões relativas ao mecanismo de resistência enzimático (KPC) das bactérias da família *Enterobacteriaceae*.

3.2. Objetivos específicos

1. Compreender o mecanismo de ação das carbapenemases, além da forma com que as bactérias utilizam destas enzimas para resistirem aos antimicrobianos.
2. Aumentar o banco de dados de informações quanto aos microrganismos que podem produzir estas enzimas, afim de auxiliar em estudos clínicos para combater bactérias multidroga-resistentes.
3. Evidenciar o grande desafio que mobiliza órgãos nacionais e internacionais de vigilância e controle epidemiológicos através de buscas e pesquisas para a possível minimização de casos.

4. METODOLOGIA

Este trabalho foi baseado em uma pesquisa qualitativa, realizada através de uma revisão bibliográfica literária sistemática, composta por vários estudos contidos em publicações nacionais e internacionais em revistas científicas, artigos, notas técnicas e resoluções, que abordam de forma adequada o tema proposto. Para obtenção de todo esse material, foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados MEDLINE, *PubMed*, SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), dentre outros, como teses, dissertações e livros de microbiologia.

5. REVISÃO DA LITERATURA

5.1. Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)

As IRAS podem ser consideradas os sintomas que mais evidenciam a inadequação do sistema de saúde, responsável por direcionar o peso de sua responsabilidade para os profissionais e a instituição prestadora de assistência (ANVISA, 2000).

Podem ser definidas, conforme a Portaria do Ministério da Saúde nº 2616/98, como infecções adquiridas após a admissão do paciente e que se manifestam durante a internação ou até mesmo após a alta, quando relacionadas à internação ou procedimentos realizados no hospital. Contudo, a ampliação do foco, não restrito exclusivamente ao ambiente hospitalar, se refere ao fato de que as IRAS podem ocorrer em todos os níveis de atenção à saúde, a exemplo dos ambulatórios, clínicas especializadas e assistência domiciliar. Devido a essa caracterização, o CDC, no *Guideline* para precauções de isolamento, substituiu o termo *infecção hospitalar* por *infecções relacionadas à assistência à saúde* (SIEGEL *et al.*, 2007).

As infecções relacionadas à assistência à saúde, causadas por bactérias multirresistentes, estão entre os maiores problemas da saúde pública, e exige uma ação conjunta nas práticas de prevenção e controle não só destas infecções, mas também do uso inadequado de antibióticos e antimicrobianos, participação do corpo clínico nos estudos destes casos, e a detecção eficiente das infecções (ROSSI, 2011; GISKE *et al.*, 2008).

Estas infecções são responsáveis por causar altos índices de morbimortalidade e aumento dos custos, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento. Porém este problema tem sido mais expressivo nos hospitais dos países em desenvolvimento, devido a maior escassez de recursos financeiros, humanos, laboratórios de microbiologia habilitados, e também a dificuldade em estabelecer práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares, além do uso abusivo e indiscriminado dos antimicrobianos (TOUFEN, *et al.*, 2003).

Nas infecções relacionadas à assistência à saúde, pode-se dizer que os gêneros e espécies predominantemente isolados, que representam 99% das enterobactérias de importância clínica, são: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Citrobacter* spp., e *Providencia* spp. (ANVISA, 2013).

Já com relação aos bacilos Gram-negativos classificados como não fermentadores (BNFs), os mesmos são aeróbios, não esporulados, tendo como característica a grande importância nos casos de IRAS. Atualmente, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* estão entre as bactérias mais isoladas em hemoculturas e amostras do trato respiratório. Entretanto, os demais BNFs representam um percentual pequeno de isolamentos, quando comparados com outros agentes etiológicos, sendo que alguns deles apresentam resistência elevada a vários antibióticos como as bactérias da espécie *Burkholderia cepacia* e do complexo *Stenotrophomonas maltophilia*, sendo capazes de causar infecções nosocomiais graves (ANVISA, 2013).

Em 2007, Siegel relatou que as IRAS apresentadas pelos pacientes nas UTIs, estão associadas à gravidade clínica, uso de procedimentos invasivos como ventilação mecânica e cateteres, uso de imunossupressores, uso de antimicrobianos, colonização por microrganismos, e por fim, e não menos importante, o ambiente das UTIs, responsável por favorecer a seleção de bactérias multidroga-resistentes.

Em 2005 no Brasil, 36% dos estabelecimentos de saúde que tinham leitos disponíveis para internação no país não faziam controle de infecção hospitalar, segundo uma Pesquisa de Assistência Médico-Sanitária do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Mesmo sem a sistematização de informação sobre a incidência das IRAS, o Ministério da Saúde (MS) aponta que estas ocorram em uma taxa global de 9%, sendo que os óbitos decorrentes atingem uma média de 14% (IBGE, 2006; SANTOS *et al.*, 2005).

Em avaliação realizada nos Estados Unidos, observou-se que são gastos mais de cinco milhões de dólares anualmente, pois ocorrem mais de dois milhões de casos de infecções relacionadas à assistência saúde, com cerca de 90 mil óbitos registrados, razão que justifica o grande destaque no assunto, não só pela

relevância do impacto social, mas também econômico que as IRAS representam (RUTALLA *et al.*, 2006).

5.2. Enterobacteriaceae

A família *Enterobacteriaceae* é constituída por um grande grupo de bacilos Gram-negativos, classificados atualmente em 44 gêneros, 176 espécies e quatro grupos entéricos ainda não nomeados. Como características gerais são fermentadores de glicose, comumente oxidase negativos, anaeróbios facultativos, reduzem nitrato a nitrito, não formam esporos, podendo ser móveis ou imóveis, capsulados ou não, e são isolados com frequência em amostras biológicas. Como o próprio nome já indica, estão presentes no trato gastrointestinal de humanos e animais (ANVISA, 2013; KONEMAN *et al.*, 2001; STARLING, 1997). As bactérias dessa família são responsáveis por causar sepse, infecções do trato urinário como cistite e pielonefrite e pneumonias nosocomiais e até mesmo comunitárias. É possível associar mais comumente a casos de pneumonia a bactérias dos gêneros *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp., enquanto que as infecções urinárias são mais comumente causadas por *E. coli* (PATERSON; BONOMO, 2005).

Antes do surgimento dos tratamentos com antimicrobianos, da quimioterapia e das terapias imunossupressoras, as doenças causadas por enterobactérias tinham um tratamento bem estabelecido. Era sabido que pacientes que apresentavam quadros de pneumonia clássica com a produção de escarro cor vermelho tijolo, estavam infectados pelo bacilo de Friedlander (*K. pneumoniae*). Com o passar do tempo, observou-se que a maioria dos isolados de *Klebsiella* spp. estavam diretamente relacionados com infecções nosocomiais, fruto da colonização de pacientes hospitalizados, proporcional aos dias de internação. Em isolamento realizado em amostras de fezes, mãos e nasofaringe, verificou-se a presença desta bactéria nas proporções de 77%, 42% e 20%, respectivamente (PODSCHUN; ULLMAN, 1998).

Klebsiella pneumoniae, membro da família *Enterobacteriaceae*, pode ser encontrado em locais como plantas, solo, água e esgoto (PODSCHUM;

ULLMANN, 1998). Humanos podem vir a ser colonizados devido ao contato com as diversas fontes ambientais, podendo ser encontrada também colonizando a orofaringe e fezes de pessoas saudáveis. Porém no organismo de pessoas imunocomprometidas esta bactéria encontra vários ambientes propícios para seu crescimento, podendo levar a quadros graves de infecção (DESIMONI *et al.*, 2004; MARTINEZ *et al.*, 2004).

Reconhecido como um patógeno primário causador de pneumonias e choques sépticos em pacientes críticos com desfechos muitas vezes fatais para aqueles não devidamente tratados, *K. pneumoniae* pode apresentar-se como oportunista, levando a complicações clínicas em casos de pacientes hospitalizados, imunocomprometidos, e que apresentem alguma doença de base (KONEMAN *et al.*, 2001).

As espécies do gênero *Enterobacteriaceae* mais comuns em quadros de infecção hospitalar são descritas como sendo a *K. pneumoniae* e *E. coli* (GISKE *et al.*, 2008). A primeira é muito conhecida por causar casos graves de infecções em imunocomprometidos, em sítios como pulmões, abdômen, e vias urinárias (LANDMAN *et al.*, 2007). Também estudos demonstram que a mesma está entre os patógenos que mais causam pneumonia e bacteremia no Canadá e Estados Unidos. Enquanto na América Latina é considerado o terceiro microrganismo patogênico mais prevalente em isolados do trato respiratório de pacientes internados que apresentam quadros de pneumonia (MARRA *et al.*, 2011).

Em 1998, Ardanuy *et al.*, relatou que além da alta prevalência nas infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), os gêneros *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp., vem ganhando notoriedade na comunidade hospitalar devido ao fato de desenvolverem resistência aos antimicrobianos, e serem causadores de surtos.

Conforme dados publicados pelo Ministério da Saúde em 2010, *K. pneumoniae* vem apresentando um perfil de resistência aos antimicrobianos nos últimos anos que preocupa todas as áreas de saúde, tornando-se um problema de saúde pública. Algumas notícias sobre mortes provocadas por *K. pneumoniae*, produtora da enzima carbapenemase (KPC), trouxeram alarde a várias partes do Brasil. Foram feitas, só no Distrito Federal, 187 notificações de

infecção no ano de 2010, e registrados 18 óbitos. Enquanto que em São Paulo, o Hospital das Clínicas relatou 70 casos desde 2008.

Segundo Dienstmann *et al.* (2010), o termo bactéria multirresistente é usado para classificar os organismos que apresentam resistência a uma quantidade expressiva de antimicrobianos. As expressões de resistências em bactérias podem se originar de diversas formas como, por exemplo, a utilização inadequada dos antimicrobianos.

K. pneumoniae produtora de carbapenemase é uma bactéria que pode expressar resistência a até 95% dos antimicrobianos existentes no mercado farmacêutico, sendo que uma de suas principais formas de impedir a ação dos antibióticos está na produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL). Linhagens produtoras de ESBL frequentemente apresentam resistência aos antimicrobianos de importância clínica, como cefalosporinas, aminoglicosídeos, penicilinas e quinolonas (BRADFORD, 2001; SPANU *et al.*, 2002). Outras formas de resistência emergentes, e de extrema importância, são a produção de β -lactamases tipo AmpC, que são capazes de hidrolisar a cefoxitina, a produção de carbapenemases, do tipo metalo- β -lactamases (MBL) e carbapenemases tipo KPC (PEIRANO *et al.*, 2009).

5.3. Diagnóstico da Infecção

Para a identificação de um microrganismo utiliza-se de métodos baseados na comparação entre os exames bioquímicos que refletem as atividades metabólicas do isolado e os dados já publicados sobre os gêneros e espécies conhecidos, além dos métodos moleculares, sendo utilizados com frequência na confirmação de identificação de isolados bacterianos. O gênero *Klebsiella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, é composto por bacilos Gram-negativos, não móveis, e geralmente encapsulados, que produzem lisina descarboxilase, mas não produzem ornitina descarboxilase. Das muitas espécies dentro do gênero *Klebsiella*, *K. pneumoniae* é considerada a espécie de maior importância médica, responsável por 75% a 86% das infecções clínicas causadas por bactérias deste gênero, sendo seguida pela espécie *K. oxytoca*

responsável por 13% a 25 % das infecções. A exata determinação da contribuição de várias espécies do gênero nas doenças em seres humanos é dificultada pelo fato de os laboratórios clínicos raramente realizarem caracterização de isolados de *Klebsiella* spp. (BROBERG; PALACIOS; MILLER, 2014).

Quando a identificação da espécie de *Klebsiella* não for completa utilizando-se de testes bioquímicos tradicionais, optar por métodos alternativos se torna uma boa escolha, como a avaliação da resistência intrínseca das espécies conhecidas e produção de β -lactamases. Outras formas de diagnóstico são: disco-difusão, E-test, focalização isoelétrica (BRADFORD *et al.*, 2004) e teste de Hodge modificado (ANVISA, 2013). O disco-difusão é um dos principais métodos para a realização de triagem fenotípica, onde se realiza antibiograma com discos de cefalosporinas subclasse III (como Cefoperazona e Cefotaxima) e Imipenem (IPM) ou utilizando Meropenem (MEM) e Ertapenem (ETP) (BRATU *et al.*, 2005). Enquanto o teste de Hodge modificado tem sido um método de escolha por apresentar alta sensibilidade e especificidade para identificação de estirpes produtoras de carbapenemases.

O emprego de técnicas de identificação molecular de bactérias patogênicas vem sendo bastante utilizado em estudo de infecções hospitalares. Um exame molecular é necessário para diferenciar carbapenemases tipo KPC de outros tipos. A identificação dessas variantes, instituído pela triagem molecular, vai definir um padrão de substrato específico, que pode ser usado para identificar o tratamento com antibiótico adequado. Porém, uma das desvantagens de alguns dos exames que são baseados em reação em cadeia da polimerase (PCR), por exemplo, é que eles distinguem apenas algumas variações devido à sua limitada capacidade de multiplexação (IREDELL; SINTCHENKO, 2006).

Algumas técnicas foram descritas para a identificação molecular de patógenos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, dentre elas estão a PFGE e ERIC-PCR. A PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), considerada o padrão ouro devido sua alta capacidade de discriminação é baseada na análise do perfil de restrição do DNA genômico por meio de eletroforese. Mesmo apresentando

muitos benefícios, tem como desvantagem a necessidade de vários dias para sua execução, impedindo a tipagem de algumas linhagens bacterianas devido à degradação do DNA, além do emprego de alto custo para sua realização (SILBERT *et al.*, 2003).

Como alternativa para a técnica de PFGE, o método baseado em PCR tem sido o mais empregado. A técnica ERIC-PCR (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR*) consiste em analisar o padrão de amplificação de elementos repetidos encontrados no genoma bacteriano com a utilização de iniciadores específicos e sequenciamento confirmatório (VERSALOVIC *et al.*, 1991; ANVISA, 2013). Portanto esta metodologia é mais rápida na obtenção de resultados quando comparada com o PFGE, além de apresentar alta reprodutibilidade, simples implementação e execução, baixo custo e não enfrenta problemas com a degradação do DNA (SILBERT *et al.*, 2003; ANVISA, 2013).

5.4. Resistência Bacteriana

A prática indiscriminada e muitas vezes abusiva da antibioticoterapia trouxe consigo o desenvolvimento de mecanismos de resistência comuns principalmente em ambientes nosocomiais. Dentre esses mecanismos temos a mutação gênica, responsável por alterar de alguma forma o alvo do antimicrobiano, fazendo com que não haja comprometimento no funcionamento da bactéria; alteração na permeabilidade da membrana celular, que leva a um impedimento na entrada do antibiótico na célula, bombeamento do antibiótico para fora da mesma, pelo mecanismo de efluxo; e também o desenvolvimento da capacidade de degradar ou de inativar o antibiótico (SILVEIRA, 2006).

Nas décadas de 60 e 70, o uso indiscriminado das penicilinas semissintéticas, das penicilinas de amplo espectro e cefalosporinas favoreceu a emergência de *Staphylococcus aureus* resistente metilina (MRSA). Sendo seu primeiro registro ocorrido nos EUA, em 1968. Em 1999, o *National Nosocomial Infections Surveillance* (NNIS) registrou que mais de 50% dos isolados de *S. aureus* de pacientes em UTI constituíam MRSA. A crescente prevalência

destaca-se também no que se refere aos *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina (VRE), que no período entre 1990 e 1997 aumentou de índices menores que 1% para 15%. Já em 2003, o NNIS registrou 28,5%. Para *Pseudomonas aeruginosa*, entre os anos de 1999 e 2003 houve um aumento de 23% para 29,5% de resistência as fluoroquinolonas em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), sendo confirmado este aumento em 2007 com estudos realizados por Menezes *et al.* (FERNANDES, 2000; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; HICPAC, 2006).

A resistência aos antimicrobianos está diretamente relacionada à expressão fenotípica dos organismos procariontes, podendo ser resistência intrínseca, adquirida ou susceptibilidade. O surgimento de bactérias resistentes a antibióticos comumente utilizados na prática clínica pode ser considerado como uma manifestação natural que se baseia no princípio evolutivo da adaptação genética de organismos a mudanças no seu meio ambiente. Sabe-se que o tempo de duplicação das bactérias pode ser de apenas 20 minutos, ou seja, é possível de serem produzidas muitas gerações em apenas algumas horas, que leva a inúmeras oportunidades para uma evolução adaptativa (SILVEIRA, 2006).

Dentre as características fenotípicas de um microrganismo, temos o perfil de resistência intrínseca que o mesmo apresenta frente a alguns antibióticos, ou seja, faz parte de sua herança genética sendo transmitida verticalmente sem a perda da característica. O principal determinante deste tipo de resistência é a presença ou ausência do alvo para a ação da droga (DEL FILHO *et al.*, 2008). Um exemplo são os organismos do gênero *Enterobacter*, naturalmente resistentes a cefoxitina, sendo tal fenótipo oriundo da produção de uma β -lactamase cromossômica, denominada AmpC (CAVALLO, 2008). Pelo fato de ser previsível, é importante ressaltar que este tipo de resistência não apresenta qualquer risco ao tratamento terapêutico, uma vez que se conhece o agente etiológico da infecção e os mecanismos de ação do fármaco (DEL FILHO *et al.*, 2008).

No entanto, a resistência adquirida aos antibióticos, por sua vez, apresenta-se quando há o surgimento de resistência em uma espécie bacteriana

que anteriormente mostrava perfil de sensibilidade a droga, que pode ser resultante da aquisição de genes de resistência veiculados por elementos genéticos móveis ou da combinação entre eles, ou até mesmo por mutação de genes reguladores ou estruturais (GOLD *et al.*, 1996).

Os genes de resistência na maioria das vezes compõem o DNA de plasmídeos extracromossomais, e podem ser transferidos entre microrganismos (ANVISA, 2010). Os microrganismos anteriormente sensíveis podem adquirir resistência pela troca de material genético com bactérias resistentes, por meio de mecanismos como a conjugação, transformação ou transdução com transposons, o que facilita a incorporação de genes que codificam resistência a vários antimicrobianos, para o genoma de uma bactéria sensível ou seu plasmídeo, tornando-a multirresistente (TENOVER, 2006).

A conjugação ocorre, na maioria das vezes, com a transferência do DNA do plasmídeo de uma célula bacteriana para outra, uma vez denominado fator F, podendo ocorrer entre diferentes gêneros e espécies. Sabe-se que nas bactérias Gram negativas, o plasmídeo é responsável por transportar os genes que codificam a síntese de pili sexuais, isto é, projeções da doadora que entrarão em contato com a célula receptora. Em ambientes hospitalares, este mecanismo tem alta importância epidemiológica podendo favorecer a aquisição de vários genes de resistência (VERMELHO; BASTOS; SÁ, 2007).

Outro mecanismo, já citado anteriormente, é a transformação que está relacionada a lise celular, exposição e captação do material genético que fica disperso, e o mesmo é inserido no genoma de uma célula bacteriana receptora, no material cromossômico ou no plasmídeo. Este processo ocorre com uma exigência, ou seja, célula deve encontrar-se competente, com seus sítios de superfície para a ligação do DNA da célula doadora disponíveis, e também uma membrana em boas condições que permitam a passagem do plasmídeo (VERMELHO; BASTOS; SÁ, 2007).

E por último a transdução, na qual ocorre a transferência de material genético entre bactérias por meio de um bacteriófago; vírus que se replica em bactérias, participando como vetor na transferência de genes entre elas (VERMELHO; BASTOS, SÁ, 2007).

Como observado no cotidiano das unidades de isolamento, a infecção e/ou colonização de pacientes por mais de um tipo de microrganismo resistente pode constituir a situação adequada para que ocorra a transferência de genes codificadores de resistência entre patógenos, o que favorece o desenvolvimento de bactérias multidroga-resistentes (SILVEIRA, 2006).

São muitas as formas de resistência que podem impedir a ação de antimicrobianos. Normalmente os fármacos atuam inibindo processos essenciais para a multiplicação e sobrevivência da célula bacteriana, alterando a membrana citoplasmática e a síntese de proteínas, ácidos nucleicos e da parede celular (MURRAY *et al.*, 2014).

5.5. Resistência aos Antibióticos β -lactâmicos

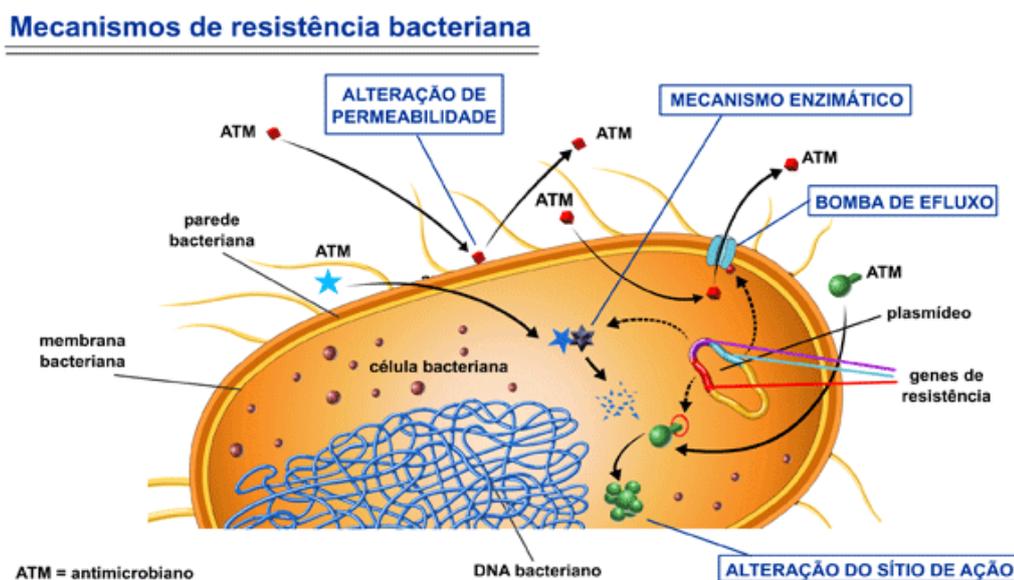
O grupo dos antimicrobianos β -lactâmicos, composto por penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos, são muito utilizados nos como escolha na antibioticoterapia. Isto ocorre em razão da sua efetividade, efeitos adversos mínimos aos pacientes, e ainda o baixo custo. Constituem uma grande família de diferentes grupos de compostos que contém em sua estrutura um anel betalactâmico. Agem na formação da parede celular bacteriana, conferindo ligações mais fracas no peptidoglicano, levando a lise celular (WILK; LOVERING; STRYNADKA, 2005).

A resistência antimicrobiana está ligada principalmente à produção de enzimas que pertencem ao grupo das β -lactamases cromossomais ou plasmidiais, que apresentam a capacidade de degradar os antibióticos β -lactâmicos, largamente utilizados no tratamento de infecções de alta gravidade. As principais β -lactamases de interesse clínico são a β -lactamase de espectro estendido (ESBL), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), metalo- β -lactamase (MBL) e β -lactamase classe C (AmpC) (MEYER; PICOLI, 2011).

A resistência aos antibióticos β -lactâmicos pode se apresentar de algumas formas, como sendo resultado de alteração na permeabilidade da membrana citoplasmática, modificações do alvo do antibiótico, existência de

proteínas de efluxo ou até mesmo por inativação enzimática do antimicrobiano (NIKAIDO, 2009).

Figura 1. Exemplos de mecanismos de resistência bacteriana



Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

5.5.1. Alteração na permeabilidade

Frequentemente a resistência aos antibióticos está associada à diminuição da permeabilidade da membrana externa das bactérias gram-negativas. O fluxo de moléculas para dentro da célula acontece por características intrínsecas como carga, dimensão, estrutura e também através de proteínas de membrana, responsáveis por formarem canais. Os antimicrobianos têm este percurso para atingir o espaço periplasmático, como é o caso dos antibióticos β -lactâmicos. Desta forma, qualquer dano ou perda de função destas proteínas, pode levar à diminuição da sensibilidade a vários antibióticos (LIVERMORE, 2003).

5.5.2. Modificação do alvo

Neste mecanismo, a resistência ocorre devido a substituições de aminoácidos nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), fazendo com que a ligação com o agente antimicrobiano torne-se menos susceptível. A modificação desses aminoácidos pode acontecer devido à presença de proteínas provenientes da recombinação entre genes codificadores de PBPs associadas à expressão de susceptibilidade, a hiperprodução da proteína, ou a aquisição de novas PBPs que levam a um aumento do nível de resistência aos antibióticos β -lactâmicos (GEORGOPAPADAKOU; LIU, 1980).

Este mecanismo de resistência apresenta-se com maior frequência em bactérias Gram-positivas, apesar de já terem sido relatados casos em Gram-negativas. Há também outros tipos de alteração do alvo, como mutação da DNA girase, responsável por expressar resistência às fluoroquinolonas, e também mutação dos ribossomos constituintes da parede celular (KAYABAS, 2008).

5.5.3. Bombas de efluxo

A especificidade do antibiótico pode variar em função da bomba de efluxo. Caracterizado pelo bombeamento ativo de antimicrobianos do meio intracelular para o extracelular, este mecanismo gera uma resistência bacteriana a determinados antimicrobianos, como é o caso da resistência às tetraciclina codificada por plasmídeos em *E. coli*, devido à presença de proteínas integrantes da membrana plasmática bacteriana (PIDDOCK, 2006).

Segundo Harbottle *et al.* (2006), o principal mecanismo responsável pela resistência antimicrobiana é o aumento da síntese de proteínas, devido às várias mutações que ocorrem em seus repressores de transcrição. Essas mutações podem levar a um aumento da eficiência do transporte dos antibióticos para o exterior da célula.

5.5.4. Inativação enzimática

Pode ser descrito como sendo um mecanismo muito importante de resistência contra agentes β -lactâmicos, e acontece com bactérias que constituem genes codificadores de enzimas que causam a destruição do antibiótico, como a β -lactamase. A atividade desta enzima baseia-se na hidrólise, causando a inativação de uma variedade de antibióticos β -lactâmicos como, por exemplo, as penicilinas e cefalosporinas, tornando a bactéria capaz de produzir essa enzima resistente a antimicrobianos potentes de uso hospitalar e ambulatorial (JARVIS, 2004).

A bactéria ao utilizar um destes mecanismos, ou uma combinação deles, na maioria das vezes causa sérios problemas na escolha da antibioticoterapia ideal, pois tem se tornado resistente até aos antibióticos mais promissores, independentemente da classe química a qual pertencam.

5.6. β -lactamases

As β -lactamases fazem parte de uma família de enzimas bastante complexa que apresentam diversidade considerável conforme o antibiótico. São de origem genética (cromossômica ou plasmidial), bem como, sua sensibilidade a compostos inibidores destas enzimas, como Ácido Clavulânico (AC) e EDTA (HICPAC, 2006).

Sabe-se que dentre as bactérias Gram-negativas, a produção de β -lactamases é considerado o principal e mais importante mecanismo de resistência contra agentes β -lactâmicos (SANDERS; SANDERS, 1992). Conhecidas por possuírem atividade hidrolítica e inativarem uma variedade de antibióticos β -lactâmicos (JAIN *et al.*, 2003). Os principais produtores desta enzima são: *K. pneumoniae* e *Escherichia coli* (CASSETTARI *et al.*, 2006) sendo o veículo principal de transmissão, o contato entre pacientes, profissional de saúde e meio ambiente, uma vez que, o reservatório destas bactérias é o trato intestinal (HOSOGLU *et al.*, 2007).

A classificação mais utilizada para o grupo das β -lactamases é a de Bush, Jacoby e Medeiros que separa as enzimas de acordo com a preferência pelo substrato e de acordo com o perfil de inibição que cada uma apresenta (AC e EDTA). Então, a partir deste princípio, foram divididas em 4 grandes grupos, ressaltando que alguns tipos específicos são mais comuns em enterobactérias. Dentre as mais comuns podemos destacar as β -lactamases do Grupo 1 (AmpC), que são enzimas induzíveis e não inibidas por EDTA e AC, e o Grupo 2be que são aqueles capazes de produzir as β -lactamases de amplo espectro (*Extended-spectrum β -lactamase-ESBL*), que não se apresentam induzíveis e nem são inibidas por AC (OLIVEIRA, 2008).

5.6.1. AmpC

A produção das enzimas β -lactamases do tipo AmpC ocorre por ação de genes localizados no cromossomo ou plasmídeo, e tem como característica importante conferir resistência às cefalosporinas de terceira geração, como Cefotaxima, Ceftazidima e Ceftriaxona, e aos inibidores das β -lactamases (NORDAMNN; MAMMERI, 2007). São conhecidas desde 1989, e existem descritos nove diferentes tipos enzimáticos, denominados FOX (encontradas em *K. pneumoniae* isoladas na América do Norte e Europa), DHA (comuns em *K. pneumoniae* isoladas na Ásia), CMY (pAmpC mais comumente encontrada entre membros da família *Enterobacteriaceae*), ACT, ACC, MIR, MOX, LAT e CFE (TOLENTINO, 2009).

Várias espécies da família *Enterobacteriaceae* apresentam genes AmpC plasmidiais (pAmpC) derivados de genes cromossômicos. Normalmente estão localizados em integrons de classe I, nos plasmídeos, onde também podem ser encontrados os genes que irão determinar a resistência para outras drogas como sulfas e fluoroquinolonas, além de genes para a produção de diferentes tipos de ESBL (ALVAREZ *et al.*, 2004). Hanson *et al.* (2008), relatou que linhagens que produzem pAmpC apresentam fenótipos multirresistentes e estão disseminadas dentro de hospitais e também na comunidade através de transmissão horizontal.

Em linhagens de *K. pneumoniae* são encontradas apenas enzimas AmpC plasmidiais (pAmpC), o que torna essa característica peculiar um fator importante para resistência a drogas β -lactâmicas. Na maioria das linhagens é observado também produção de ESBL tipo Temoniera (TEM), Sulfidril variável (SHV) e Oxacilina (OXA), e a grande diversidade de β -lactamases que podem ser expressas dificulta a sua detecção fenotípica (TOLENTINO, 2009).

No caso das enterobactérias a produção de enzimas sofre indução do próprio antimicrobiano β -lactâmico, o que pode levar a falha terapêutica, mesmo que a bactéria tenha sido considerada susceptível ao antimicrobiano no teste de sensibilidade realizado *in vitro* (OLIVEIRA, 2008).

As principais moléculas inibidoras de β -lactamases, como Ácido Clavulânico, tazobactam e Sulbactam, na maioria das vezes, não conseguem levar a uma inibição das enzimas AmpC de maneira adequada para que o β -lactâmico consiga ter ação. Sem contar que o AC apresenta forte característica indutora dessas enzimas. Independente do mecanismo de produção de AmpC, que pode ser induzível ou mutação, aqueles isolados produtores dessa enzima normalmente permanecem sensíveis aos carbapenêmicos, que não sofrem a ação direta dessas enzimas. Mas pode ocorrer resistência decorrente da perda de porinas (OLIVEIRA, 2008).

O impedimento quanto a estimativa da prevalência destas enzimas se dá pela dificuldade de detecção fenotípica das linhagens produtoras de pAmpC, tornando-se uma barreira para o controle da sua disseminação (DIAS, 2008). Sendo assim, a investigação molecular da produção de AmpC plasmidial tem se tornado um importante instrumento para se conhecer a diversidade dos mecanismos de resistência que linhagens de importância clínica vem apresentando ao longo dos anos, além do uso também de métodos moleculares que auxiliam na detecção da produção de pAmpC, ajudando a equipe médica na escolha das condutas terapêuticas e de controle de infecção (THOMSON, 2001)

5.6.2. β -lactamases de amplo espectro - ESBL

Essas enzimas são transmitidas ou codificadas por plasmídeos, dentro das famílias TEM, SHV e OXA, variantes relatadas em 1987 por SIROT *et al.* como as mais isoladas. Em 2005, foram descritas mais de 370 variantes naturais de ESBLs diferentes (STÜRENBURG *et al.*, 2005).

Como diferença entre si apresentam algumas substituições na sequência de aminoácidos que levam a alterações tanto nas configurações, quanto nas propriedades do seu sítio ativo. Isto pode levar a mutações no DNA destas enzimas tornando-as capazes de hidrolisar antibióticos β -lactâmicos ou, até mesmo, reconhecer β -lactâmicos de amplo espectro como substrato, muito fracamente (KNOX, 1995).

Foi realizado o mapeamento das ESBLs e, então, divididas em dois grandes grupos, que não apresentam relação entre si, embora algumas de suas enzimas tenham a capacidade de agir sobre o mesmo substrato, ligando-se aos antibióticos β -lactâmicos em sítios completamente diferentes. A descrição deste grupo de enzimas foi realizada a partir da avaliação de genes presentes em plasmídeos, como o TEM-1, TEM-2 e SHV-1, os quais sofreram mutações, que levaram a substituições no sítio ativo destas enzimas e no aminoácido terminal (STÜRENBURG; MACK, 2003).

Dentro da família *Enterobacteriaceae*, *K. pneumoniae* é a bactéria que apresenta a maior diversidade de fenótipos de resistência associados a produção de ESBL, e onde estas enzimas são mais comumente encontradas (TOLENTINO, 2009).

A primeira ESBL do tipo SHV descrita e identificada foi a SHV-2, encontrada em isolados clínicos de *Serratia marcescens* e *K. pneumoniae*, enquanto que a primeira do tipo TEM foi relatada em 1987, a TEM-3, identificada também em isolados clínicos de *K. pneumoniae*. Atualmente, a maioria das ESBL identificadas em isolados clínicos é do tipo, TEM (TEM-1 e TEM-2), SHV (SHV-1) e CTX-M, sendo que as duas primeiras são derivadas de enzimas, e codificadas por genes *bla*TEM e *bla*SHV. É importante ressaltar que estas enzimas, que são codificadas por genes localizados em plasmídeos tem alto

perfil de disseminação para outras espécies de bactérias, e podem ser identificadas em importantes patógenos da família *Enterobacteriaceae* (TOLENTINO, 2009).

Apesar de todos os estudos que são realizados para o conhecimento a respeito das ESBLs, além de todos os achados sobre o assunto, a ocorrência desta enzima era até o ano de 2000, relatado por Steward *et al.* como mundialmente subestimada, uma vez que a avaliação da incidência de microrganismos produtores de ESBL não era tão fácil de ser feita, principalmente, por algumas diferenças entre os métodos de detecção e interpretação utilizados, além da falta de notificação do quanto é encontrado uma bactéria apresentando esta característica. Porém com o surgimento das metodologias moleculares, a identificação de isolados produtores destas enzimas se tornou mais eficiente, auxiliando na confirmação dos resultados bioquímicos sugestivos (ANDERSON *et al.*, 2007).

5.6.3. Carbapenemases - Metallo- β -lactamases (MBLs) e KPC

Ao longo dos anos, vem sendo observada, uma maior incidência de bacilos Gram-negativos resistentes a cefalosporinas de espectro ampliado no ambiente hospitalar, levando assim, ao maior uso de β -lactâmicos mais potentes, como os carbapenêmicos (QUINTEIRA, *et al.*, 2005). Essa classe de antibióticos é uma importante opção terapêutica que vem sendo utilizada no tratamento de infecções nosocomiais. Essa escolha preferencial como antibioticoterapia se deve a sua elevada afinidade pelas proteínas ligadoras de penicilina do tipo 2 (PBP2), a estabilidade a muitas β -lactamases, incluindo as de espectro ampliado (ESBL) e as cromossômicas (AmpC), e a ótima permeabilidade através da membrana externa bacteriana (WOODFORD, *et al.*, 2000).

As enzimas carbapenemases são em sua grande maioria capazes de hidrolisar não só carbapenêmicos, mas também os demais β -lactâmicos. Três grandes classes de carbapenemases são encontradas atualmente em enterobactérias no mundo inteiro: as MBL, sendo os tipos IMP (Imipenem resistente), VIM e NDM (*New Delhi Metallo- β -lactamase*) as mais frequentemente detectadas em enterobactérias; as OXA-carbapenemases; e as carbapenemases do tipo KPC. Podem ser consideradas, do ponto de vista epidemiológico, as enzimas de maior relevância, as carbapenemases do tipo KPC e as do tipo NDM, devido ao alto, rápido e amplo potencial de disseminação mundial (ANVISA, 2013).

São relatados dois tipos de enzimas que apresentam a capacidade de hidrolisar os antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos, que são as enzimas serinas, que possuem uma fração serina no seu sítio ativo (classes A, C e D), de acordo com Ambler (1980), que por um mecanismo de hidrólise, inativa a droga por romper o anel β -lactâmico; e as MBLs (classe B) (WALSH *et al.*, 2005).

Dentre os principais microrganismos causadores de infecções nosocomiais, apresentando importantes mecanismos de resistência pode-se destacar os bacilos Gram-negativos oportunistas, não fermentadores de glicose, como *Pseudomonas aeruginosa* e, *Acinetobacter baumannii* (MARRA *et al.*,

2011). Essas bactérias podem ser citadas como as principais produtoras de metalo- β -lactamases, enzimas pertencentes à classe B de Ambler ou à classe 3 de Bush-Jacoby-Medeiros que apresentam habilidade de hidrolisar todos os β -lactâmicos comercialmente disponíveis, sendo a única exceção o monobactâmico, Aztreonam. Na hidrólise, utilizam como cofator, dois íons divalentes, normalmente o zinco. Mesmo apresentando resistência aos inibidores de β -lactamases, como o Sulbactam e o Ácido Clavulânico, são sensíveis às substâncias que tem característica quelante de íons metálicos, como o ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA), e os compostos derivados do ácido tiolático, a exemplo o ácido-mercaptopropiônico (MPA) (CROWDER *et al.*, 1998; QUEENAN; BUSH, 2007).

A primeira vez que foi realizada a identificação da NDM-1 foi na Suécia, no ano de 2008, em um paciente com caso de hospitalização na Índia. O mesmo foi colonizado com *K. pneumoniae* e uma *E. coli* transportando o gene *bla*_{NDM-1} em plasmídeos transmissíveis (YONG *et al.*, 2009).

Devido à rápida disseminação que NDM-1 apresenta, observou-se a rapidez e fluidez com que os genes são transferidos entre espécies bacterianas. O *bla*_{NDM-1} foi primeiramente mapeado dos plasmídeos isolados a partir de *E. coli* e *K. pneumoniae* carbapenêmicos resistentes, e a partir deste mapeamento foi visto os relatos de expressão tanto cromossômica do plasmídeo e *bla*_{NDM-1} em outras espécies de enterobactérias, bem como *Acinetobacter* spp. e *P. aeruginosa* (PATEL; BONOMO, 2013).

Foram detectados recentemente alguns casos de microrganismos produtores de NDM-1 em Porto Alegre, no estado do Rio Grande do Sul. O gene *bla*_{NDM-1} foi identificado em *Providencia rettgeri* e *Enterobacter cloacae*. A detecção desses casos demonstra a oportunidade de realização do controle da disseminação desse tipo de mecanismo de resistência no Brasil. Esse controle só poderá ser alcançado, se houver um esforço multidisciplinar, incluindo não só a detecção precoce de pacientes colonizados e a implementação de precauções de contato, mas também a escolha do tratamento adequado (ANVISA, 2013).

Conforme trabalho publicado em 2013 por Patel & Bonomo, existem sete variantes (NDM-1 a NDM-7), sendo que a mais comum nos isolados é a NDM-1.

Uma avaliação recente da construção genética associada com *bla*_{NDM-1} levou à descoberta de uma nova proteína de resistência a bleomicina, a BRP_{MBL}. Em avaliação realizada com 23 isolados da variante NDM-1 em *Enterobacteriaceae* e *A. baumannii* foi possível observar que a grande maioria deles possuía um novo gene de resistência a bleomicina (PATEL; BONOMO, 2013).

Estudos têm demonstrado que a falta de medicamentos eficazes contra NDM-1 vem exigindo esforço contínuo de investigação para resolver este problema. Uma maneira que pode ser eficiente seria a descoberta de inibidores NDM-1, que protejam os antibióticos β -lactâmicos a partir do efeito de hidrólise da enzima, recuperando assim a potência antibacteriana. Levando em consideração a determinação da atividade biológica e a simulação molecular sobre o mecanismo inibitório, alguns derivados do ácido tiofeno-carboxílico foram descobertos como sendo inibidores de NDM-1, e a atividade inibidora foi demonstrada *in vitro* através de inibição enzimática. Portanto, o efeito sinérgico destes inibidores em combinação com Meropenem contra *E. coli* que expressam NDM-1 foi também comprovada a partir da determinação dos valores de concentração inibitória mínima (SHEN et al., 2013).

As MBLs aparecem de forma intrínseca em determinados organismos, como *Chryseobacterium meningosepticum*, *Chryseobacterium indologenes*, *Aeromonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Legionella gormanii*, *Bacillus cereus* e *Caulobacter crescentus*. Entretanto, desde a década de 1990, vem sendo observado em outras bactérias de grande importância clínica, como *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., e alguns gêneros da família *Enterobacteriaceae*, a presença de genes que codificam essas enzimas. Além disso, Mendes et al., relatou em 2006, que estes genes foram encontrados em regiões do genoma que conferem mobilidade ao gene, o que faz com que essas enzimas possam ser classificadas como MBL adquiridas ou simplesmente MBLs móveis.

Portanto, o alto índice de utilização de carbapenêmicos no ambiente hospitalar acaba por ocasionar maior pressão seletiva sobre a microbiota nosocomial, favorecendo a seleção de subpopulações de microrganismos que apresentam sensibilidade diminuída ou resistente a esses antimicrobianos. Têm

sido isoladas pelos laboratórios de microbiologia clínica na maior parte dos hospitais brasileiros, amostras bacterianas de *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes a grande maioria dos agentes antimicrobianos e sensíveis somente à Polimixina B, causando sérios problemas ao corpo clínico na hora da decisão e implantação de protocolos de antibioticoterapia (MENDES *et al.*, 2006).

As carbapenemases, dentre as β -lactamases, são consideradas as mais versáteis, uma vez que, são capazes de hidrolisar a grande maioria dos antibióticos β -lactâmicos disponíveis no mercado (LIVERMORE, *et al.*, 2006). As KPCs são enzimas codificadas por plasmídeos, pertencentes à classe A serina, assim caracterizadas por requerer um sítio serina e um grupo funcional 2f para hidrolisar penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos (QWEENAN; BUSH, 2007). Portanto, aqueles isolados bacterianos que adquirem o gene plasmidial para a produção de KPC, normalmente são resistentes também a várias outras classes de agentes antimicrobianos utilizados como opções de tratamento (DIENSTMANN *et al.*, 2010; FONTANA *et al.*, 2010; KITCHEL *et al.*, 2009; LANDMAN *et al.*, 2005; QUEENAN; BUSH, 2007), o que limita a escolha de antibióticos para o tratamento de infecções graves (ENDIMIAMI *et al.*, 2009).

Os bastonetes Gram-negativos que são capazes de produzir carbapenemases, podem ser considerados os principais responsáveis por causar infecções graves, de difícil tratamento, e principalmente, alto índice de mortalidade. Os primeiros casos descritos foram enzimas espécies específicas, porém sabe-se que os genes que induzem a produção dessas enzimas estão presentes no plasmídeo, ou seja, tem alto poder de transmissão entre espécies (PFEIFER *et al.*, 2010; QWEENAN; BUSH, 2007).

O gene responsável por codificar a enzima KPC, o *bla*_{KPC}, é transmissível por plasmídeos entre *Enterobacteriaceae* (MARSCHALL *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2010). Por apresentar característica de mobilidade, pode ser facilmente transferido entre bactérias da mesma espécie ou até mesmo entre espécies diferentes (DEL PELOSO; BARROS; SANTOS, 2010). O mesmo já foi encontrado em algumas variadas espécies da família *Enterobacteriaceae* além de alguns não fermentadores como *Acinetobacter* e *Pseudomonas* (BULIK *et al.*,

2010; COLE *et al.*, 2009; ROBLED0 *et al.*, 2010; TIBBETTS *et al.*, 2008; TSAKRIS *et al.*, 2009; WOLTER *et al.*, 2009). Em 2010, Robledo *et al.* relataram que oito diferentes variantes KPC (KPC 2 a 9) já haviam sido identificados com diferença de uma ou duas substituições de aminoácidos (ROBLED0 *et al.*, 2010).

Para o rastreamento da enzima KPC, podem ser utilizados métodos bastante variados, por exemplo focalização isoelétrica, disco-difusão, E-test e teste de Hodge modificado, e ainda, e principal teste confirmatório de escolha é a pesquisa do gene *bla_{KPC}* por PCR (ANDERSON *et al.*, 2007). Pode ser feita a triagem fenotípica que se dá pela utilização do antibiograma com discos de cefalosporinas subclasse III (Cefoperazona, Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftizoxima, Ceftriaxona) e Imipenem (IPM), Meropenem (MEM) e Ertapenem (ETP) (BRATU *et al.*, 2005).

De acordo com os infectologistas, a maioria das infecções causadas por enterobactérias que produzem a enzima KPC, ocorre em pacientes com imunidade comprometida, que apresentam comorbidades. São pacientes transplantados, neutropênicos, em ventilação mecânica, aqueles em UTI, com longos períodos de internação que apresentam risco aumentado de infecção ou colonização para bactérias multirresistentes, e também com dispositivos invasivos como cateter, sonda, pulsão venosa periférica (MARCHAIM, 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A enzima KPC foi definida pela ANVISA em 2011 como tendo a capacidade de impedir a ação de vários agentes antimicrobianos, sendo atualmente apontada como o principal facilitador de algumas infecções, isto devido à resistência que confere a muitos dos medicamentos disponíveis no mercado. Ainda relatou que, entre 2009 e 2010 houve diversos casos em hospitais do Espírito Santo; Goiás; Minas Gerais; Santa Catarina; Distrito Federal e São Paulo. Devido sua localização em plasmídeo, o grupo KPC apresenta ainda alto potencial de disseminação, sendo mais comum em *K. pneumoniae*, uma bactéria que apresenta alta capacidade de acumular e transferir genes de resistência, dificultando o controle de epidemias e elevando as taxas de mortalidade.

Normalmente, o paciente que apresenta quadro de infecção por *Klebsiella pneumoniae* ou outra enterobactéria produtora de KPC apresenta sinais e sintomas como febre ou hipotermia, taquicardia, complicações respiratórias e nos casos mais graves, inchaço, hipotensão, e até mesmo falência múltipla dos órgãos. Em relação ao sítio de ação, a bactéria produtora de KPC pode causar pneumonia associada à ventilação mecânica, infecção do trato urinário, septicemia, infecção de partes moles e outros tipos de infecção (OLIVEIRA, 2010).

5.7. Tratamento

Com relação ao tratamento de enterobactérias multirresistentes, como aquelas produtoras de KPC, a ANVISA publicou uma nota técnica em 2013, estabelecendo algumas condutas com relação ao tratamento empírico e após resultados dos testes de susceptibilidade aos antibióticos. A terapêutica empírica para infecções por enterobactérias multirresistentes se baseia na utilização de Polimixina B ou Polimixina E (Colistina) em associação com um ou mais antimicrobianos aminoglicosídeos (Gentamicina ou Amicacina), carbapenêmicos (Meropenem ou Doripenem), e Tigeciclina. Além disso, sempre usar associações de dois ou três antimicrobianos, sendo um deles Polimixina B ou Polimixina E (Colistina), evitando-se a utilização de monoterapias devido ao alto risco do rápido desenvolvimento de resistência.

A escolha do(s) fármaco(s) de associação com Polimixina B ou E deve se basear, preferencialmente, no perfil de susceptibilidade esperado aos referidos medicamentos utilizados na antibioticoterapia das enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos detectadas no ambiente hospitalar ou, na ausência de dados locais, na região, considerando igualmente o local de infecção e a penetração esperada do antimicrobiano na escolha da droga a ser utilizada na combinação (ANVISA, 2013).

Após a liberação do perfil de sensibilidade é necessário que seja realizada a adequação quanto ao uso dos medicamentos. Sempre que houver a possibilidade, deve-se manter no mínimo 2 (dois) fármacos com sensibilidade

comprovada *in vitro*. Porém, nos casos em que não for detectada sensibilidade a uma segunda droga (susceptibilidade apenas à Polimixina B ou E), recomenda-se manter a terapia combinada de Polimixina B ou E com carbapenêmicos (Meropenem ou Doripenem) ou Tigeciclina, na tentativa de que ocorra sinergismo entre elas. Sugere-se que, além da determinação das CIMs para uma das Polimixinas (B ou E), também sejam determinadas as CIMs de Tigeciclina e carbapenêmicos (Meropenem) e a consultoria de um infectologista (ou Comissão de Controle de Infecção Hospitalar) para a determinação da terapia combinada com base na interpretação do antibiograma, CIMs e quadro clínico do paciente. Por fim, nos casos em que forem detectadas linhagens resistentes às Polimixinas (concentrações inibitórias mínimas [CIMs] > 2 mg/L), recomenda-se a associação de dois ou três dos antimicrobianos sugeridos para a combinação (ANVISA, 2013).

A Nota Técnica publicada pela ANVISA em 2013, também estabelece condutas para realização da triagem e identificação das possíveis linhagens produtoras de carbapenemases. Para a interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) de enterobactérias devem ser utilizadas as normas do CLSI do ano vigente.

Ao se avaliar as dificuldades no tratamento das infecções por enterobactérias não sensíveis aos carbapenêmicos, a determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) para Imipenem, Meropenem, Tigeciclina, Polimixina B ou Colistina por método não automatizado é necessária para guiar o tratamento. A continuidade do tratamento iniciado empiricamente com Polimixinas deve ser subsidiado por determinação da CIM, uma vez que, em algumas instituições no Brasil a taxa de resistência às Polimixinas, em enterobactérias produtoras de KPC, é superior a 9%. Com relação a Tigeciclina os critérios interpretativos estão disponíveis apenas para *Escherichia coli*; portanto seu uso também deve ser guiado por determinação da CIM por método não automatizado (ANVISA, 2013).

A triagem de enterobactérias produtoras de carbapenemases é iniciada a partir da realização do TSA de enterobactérias isoladas de pacientes hospitalizados, no qual, o laboratório deverá testar simultaneamente Ertapenem,

Imipenem e Meropenem. Nos casos de utilização do sistema de automação com painel sem Ertapenem este antimicrobiano deverá ser testado por disco-difusão para auxiliar na liberação dos resultados. Quando o isolado apresentar sensibilidade aos três carbapenêmicos (Ertapenem, Imipenem, Meropenem), o resultado poderá ser liberado como tal, quanto a esse grupo de antimicrobianos, sem que seja necessária a realização de testes adicionais, não sendo necessária a pesquisa de carbapenemases. Já para triagem de produtores de carbapenemase em isolados do Grupo CESP (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii* e *Hafnia alvei*) deverão ser considerados apenas os resultados de Imipenem e Meropenem, enquanto que para isolados que não pertençam a esse grupo o Ertapenem também deverá ser utilizado. Aqueles isolados com diâmetro de halo de inibição ≤ 22 mm ou com CIM ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$ para Imipenem e/ou Meropenem, e isolados com diâmetro do halo de inibição ≤ 24 mm, ou CIM ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ para Ertapenem deverão ser testados, de modo suplementar, com discos de Meropenem e Imipenem com e sem adição de EDTA, Cloxacilina (CLOXA) e Ácido Fenilborônico (AFB) (ANVISA, 2013).

Quanto ao teste de Hodge modificado, amplamente utilizado em vários laboratórios de microbiologia no Brasil, a ANVISA informou que o mesmo apresenta uma baixa sensibilidade na detecção de NDM e, portanto, deve ser evitado para detecção de carbapenemases, até que mais evidências científicas sejam acumuladas ao seu favor. Portanto a detecção fenotípica de carbapenemases deve ser baseada no uso de bloqueadores enzimáticos, uma vez que as metalo- β -lactamases atuam utilizando dois metais para o mecanismo catalítico, e os bloqueadores atuam como quelantes desses íons. São várias as substâncias que apresentam essa propriedade, porém uma das mais utilizadas é o EDTA.

Enfim, o teste PCR é um método rápido e preciso de identificação do gene *blaKPC*. Além de apresentar alta sensibilidade e especificidade na metodologia, tem características peculiares quanto à rapidez. No entanto, a PCR exige equipamento e conhecimentos especializados em diagnóstico molecular, e

devido a estas exigências ainda não está disponível para utilização na rotina dos laboratórios de microbiologia (COLE *et al.*, 2009)

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo sobre os mecanismos de resistência bacteriana tem se tornado, ao longo de décadas, extremamente importante e essencial, uma vez que possibilita o esclarecimento quanto às direções estratégicas que poderão auxiliar na queda e erradicação das IRAS. Vale ressaltar o quão fundamental é a participação dos laboratórios na identificação das linhagens causadoras dos surtos, e uma vez apontado o microrganismo, a chance de se obter um tratamento adequado com uso correto dos antibióticos tende a aumentar. Hoje, o apelo por um maior interesse no isolamento destas bactérias e aclaração dos mecanismos de resistência pelas indústrias é incessante, pois é a partir destas informações, que as mesmas têm condições reais de produzirem novos antibióticos, que apresentem alta potência no combate aos microrganismos multidroga resistentes.

A via mais comumente associada à disseminação das IRAS é a contaminação de patógenos entre as mãos de profissionais de saúde e pacientes. Entretanto, o ambiente hospitalar tem contribuição importante na disseminação dos microrganismos multirresistentes. Isto porque, na maioria das vezes, o ambiente ocupado por pacientes colonizados e/ou infectados por estes patógenos torna-se contaminado. Uma vez nesta situação, a dificuldade de descontaminação favorece o desenvolvimento de outros mecanismos de resistência, pela troca de material genético com informações de resistência aos antimicrobianos, o que dificulta ainda mais o tratamento.

Mesmo com todo o avanço não só da biotecnologia, mas também da biologia molecular e dos estudos que sequenciam genomas, ainda é difícil acompanhar a descrição de linhagens de bactérias com multirresistência a drogas. A resistência KPC constitui uma ameaça para os pacientes no ambiente nosocomial e para as instituições de saúde, uma vez que é difícil a identificação e o tratamento destes patógenos resistentes, o que acarreta na elevação dos índices de mortalidade nas unidades de saúde. Frente a esta situação, percebe-se que a ampla versatilidade da resistência bacteriana mostra a necessidade de

restringir ao máximo o uso de antibióticos, bem como a realização de ações que visam prevenir as infecções.

Realizar a prevenção é a principal forma de se combater as infecções relacionadas à assistência à saúde, uma vez que o tratamento apresenta alta complexidade. Assim, os profissionais de saúde são de extrema importância para a eficiência destas ações, tendo especial atenção à higienização das mãos de todas as pessoas que visitam o ambiente hospitalar. Isolar os pacientes com quadros infecciosos causados por microrganismos MDR, e a limpeza dos locais são as providências básicas que devem ser tomadas afim de evitar a dispersão de BMRs, principalmente aquelas que expressam fenótipos como KPC e NDM-1, hoje os principais causadores de morte no âmbito hospitalar.

As IRAS devem ser controladas atendendo às exigências éticas e legais para que haja uma melhoria na qualidade do atendimento e da assistência ao paciente. São irrefutáveis as vantagens destas práticas, pois além de reduzirem a morbimortalidade dos pacientes, leva a redução nos custos associados ao tratamento dos quadros infecciosos nas instituições de saúde em todo o Brasil.

Portanto, o papel do microbiologista clínico diante do problema atual da bactéria KPC é de suma importância dentro de um laboratório. É necessária a investigação de fenótipos de resistência aos antimicrobianos mediante técnicas adequadas e simples que possam ser realizadas dentro de um laboratório. Outros aspectos importantes são a constante atualização sobre o tema e a troca de informações com o corpo clínico hospitalar e com o Serviço de Epidemiologia e Controle de Infecção Hospitalar (SECIH). Também deve-se estabelecer programas de controle da qualidade que venham garantir um resultado confiável e rápido para auxiliar no diagnóstico do paciente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, K.F. *et al.* Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, n. 8, p. 2723-5, 2007.

ALVAREZ, M., *et al.* Epidemiology of conjugative plasmid mediated AmpC β -lactamases in the United States. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 48, n. 2, p. 533-7, 2004.

ANVISA. **Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar.** Brasília, DF, 2000. **Caderno A. Epidemiologia para o Controle de Infecção Hospitalar.**

_____. GGES/UIPEA. **Indicadores Nacionais de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.** Brasília, DF, set. 2010.

_____. **Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.** Brasília, DF, 2013. **MÓDULO 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica.** mai. 2013.

_____. _____. Brasília, mai. 2013. **MÓDULO 6: Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica.**

_____. _____. Brasília, mai. de 2013. **MÓDULO 7: Detecção e Identificação de Micobactérias de Importância Médica.**

_____. **NOTA TÉCNICA Nº 01/2013: Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias Multirresistentes.** Brasília, 17 de abr. de 2013.

_____. **Programa de pesquisas hospitalares em busca de excelência: fortalecendo o desempenho hospitalar em Brasil. Diagnóstico do controle da infecção hospitalar no Brasil.** Brasília, DF, 2005.

_____. **Segurança do paciente: higienização das mãos.** Brasília, mai. 2010.

_____. UNIDADE DE INVESTIGAÇÃO E PREVENÇÃO DAS INFECÇÕES E DOS EVENTOS ADVERSOS GERÊNCIA GERAL DE TECNOLOGIA EM SERVIÇOS DE SAÚDE. **Nota Técnica Nº 1/2010** - Medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes. Brasília, DF, 2010.

ARDANUY, C.; *et al.* Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, v. 42, n. 1, p. 1636-1640, 1998.

BRADFORD, P.A. *et al.* Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 β -lactamases in New York City. **Clin. Infect. Dis.** v. 39, n. 1, p. 55-60, 2004.

BRADFORD, P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Rev. Clin. Microbiol.** v. 14, n. 4, p. 933-951, 2001.

BRATU, S. *et al.* Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 49, n. 2, p. 776-778, 2005.

BROBERG, C.A.; PALACIOS, M.; MILLER V.L. *Klebsiella*: a long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter. F1000Prime Reports 2014; 6:64. doi:10.12703/P6-64.

BULIK, C.C.; *et al.* Comparison of Meropenem MICs and Susceptibilities for Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates by Various Testing Methods. **J. Clin. Microbiol.** 48: 2402-2406. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20484603>. Acesso em: 15 out. 2014.

BUSH, K. New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 32, n. 7, p. 1085-1089, 2001.

CASSETTARI, V.C. *et al.* Outbreak off extended-spectctrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in an intermediate-risk neonatal unit linked to onychomycosis in a health care worker. **J. Pediatría.** Rio de Janeiro, 8 ed., p. 313-6, 2006.

CAVALLO, J.D. **Comité de Lantibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Paris. France, 2008.

COLE, J.M.; *et al.* Development and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Genes. **J Clin Microbiol.** 47: 322-326. Fev. 2009. Disponível em: <http://jcm.asm.org/cgi/content/short/47/2/322>. Acesso em: 10 out. 2014.

CROWDER, M.W. *et al.* Overexpression, purification, and characterization of the cloned metallo- β -lactamase L1 from *Stenotrophomonas maltophilia*. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 42, n. 4, p. 921-926, 1998.

DEL FILHO, F.S.; M. FILHO, T.R.; GROPPPO, F.C. **Resistência Bacteriana**, 2008. Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/odontologia/artigos/2835/resistencia-bacteriana>> Acesso em: 15 ago. 2014.

DEL PELOSO, P.; BARROS, M.; SANTOS, F. *Serratia marcescens* KPC sepsis. **J. Bras. Patol. Med. Laboratório**. Out. 2010, vol. 46, n. 5, p. 365-367. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442010000500004. Acesso em: 05 mai. 2014.

DESIMONI, M.C., ESQUIVEL, G.P., MERINO, L.A. Fecal colonization by extended-spectrum betalactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.** v. 22, n. 9, p. 507-11, 2004.

DIAS, R.C., Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 60, n. 1, p. 79-87, 2008.

DIENSTMANN, R. *et al.* Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) in Enterobacteriaceae de Ambiente Hospitalar. **J. Bras. Patol. Med. Laboratório**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442010000100005&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 abr. 2014.

ENDIMIAMI, A. *et al.* Emergence of blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* in a long-term acute care hospital: a new challenge to our healthcare. **J. Antimicrob. Chemother.** 64: 1102-1110. 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2760463/?tool=pubmed>. Acesso em: 19 mai. 2014.

ENDIMIAMI, A; *et al.* ACHN-490, A neoglycoside with potent *in vitro* activity against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. **Antimicrob. Agents Chemother.** 53: 4504-4507. Out. 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2764147/?tool=pubmed>. Acesso em: 06 abr. 2014.

ENDIMIAMI, A.; CHOUDHARY, Y.; BONOMO, R. *In vitro* activity of NXL104 in combination with beta-lactams against *Klebsiella pneumoniae* isolates producing KPC carbapenemases. **Antimicrob Agents Chemother**; 53 (8): 3599-601. Agos. 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2715587/?tool=pubmed>. Acesso em: 19 mar. 2014.

FERNANDES, A. T. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000.

FONTANA, C. *et al.* Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. **BMC Rev. Notes**; 3: 40, 2010.

Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844393/?tool=pubmed>. Acesso em: 18 jun. 2014.

GALES, A.C. *et al.* Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 52, n. 4, p. 699-702, 2003.

GEORGOPAPADAKOU, N.H., LIU, F.Y. Penicillin-binding proteins in bacteria. **Antimicrob. Agents. Chemother.** n. 18, p. 148-157, 1980.

GISKE, C.G; *et al.* Clinical Economic Impact Common Multidrug-Resistant Gram Negative Bacilli. **Antimicrobial. Agents Chemother**, v. 52, n. 3, p. 813-821, 2008.

GOLD, H.S.; MOELLERING, R C.JR. Antimicrobial-Drug Resistance. **The New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 19, p. 1445-53, 1996.

HANES, M.S.; *et al.* Structural and biochemical characterization of the interaction between KPC-2 beta-lactamase and beta-lactamase inhibitor protein. **Biochemistry**. Out. 2009.

Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2769493/?tool=pubmed>. Acesso em 14 abr. 2014.

HANSON, N.D., *et al.* Surveillance of community-based reservoirs reveals the presence of CTX-M, imported AmpC, and OXA- 30 beta-lactamases in urine isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a U.S. community. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 52, n. 10, p. 3814-6, 2008.

HARBOTTLE, H., *et al.* Genetics of antimicrobial resistance. **Animal Biotechnology**. n. 17, p. 111-124, 2006.

HICPAC - HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. **Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008**. Disponível em:

<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf> Acesso em: 12 set. 2014.

HOSOGLU, *et al.* Extended spect rum beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkish hospitals. **Indian J. Med. Microbiol.** n. 25, p. 346-50, 2007.

IBGE. Departamento de População e Indicadores Sociais. **Estatísticas da saúde: assistência médico-sanitária 2005**. Rio de Janeiro, 2006.

IREDELL, J.R., SINTCHENKO, V. Screening for antibiotic resistant Gram-negative bacteria. **Lancet Infect. Dis.** n. 6, p. 316-317, 2006.

JAIN, A., *et al.* Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Gram-negative bacteria in septicaemic neonates in a tertiary care hospital. **J. Med. Microbiol.** n. 52, p. 421-5, 2003.

JARVIS, W.R. Controlling healthcare-associated infections: the role of infection control and antimicrobial practices. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases.** v. 15, n. 1, p. 30-40, 2004.

KAYABAS, U. *et al.* An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures in a urology unit: A pulsed-field gel electrophoresis – based epidemiologic study. **American Journal of Infection Control**, St. Louis, v.36, p.33-38, 2008.

KNOX, J.R. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamases: mutations, specificity, and three-dimensional structure. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 39, n. 12, p. 2593-601, 1995.

KITCHEL, B.; *et al.* Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. **Antimicrob. Agents Chemother.**; 53(8): 3365-70, Ago. 2009.

Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2715580/?tool=pubmed>. Acesso em 14 abr. 2014.

KONEMAN, E.W.; *et al.* **Diagnóstico microbiológico.** 5. Ed., Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001, 1465 p.

LANDMAN, D.; *et al.* Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 60, n. 5, p. 78-82, 2007.

LANDMAN, D.; *et al.* Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures. **J. Clin. Microbiol.**; 43(11): 5639-41, 2005.

Disponível em

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1287836/?tool=pubmed>.

Acesso em: 14 abr. 2014.

LIVERMORE, D.M.; WOODFORD, N. The β -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. **Trends in Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 413-420, 2006.

MARCHAIM, D. Isolation of Imipenem-resistant *Enterobacter* species; emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. **Antimicrob. Agents Chemother.**, n. 52, p. 1413-1418, 2008.

MARRA, A.R.; *et al.* Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2563 cases from a prospective nationwide surveillance study. **J. of Clin. Microbiol.**, v. 49, n.5, p. 1866-1871, 2011.

MARRA, A.R., *et al.* Bloodstream infections with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology, microbiology and clinical outcomes. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 50, n. 1, p. 388-90, 2006.

MARSCHALL, J.M.; *et al.* Presence of the KPC Carbapenemase Gene in *Enterobacteriaceae* Causing Bacteremia and Its Correlation with *In Vitro* Carbapenem Susceptibility. **J. Clin. Microbiol.** 47: 239-241, 2009 Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620828/>. Acesso em: 15 set. 2014.

MARTINS, W.M.B.S.; *et al.* Prevalência do gene *blaKPC* em isolados clínicos de *Enterobacteriaceae* e não fermentadores encontrados em amostras clínicas em um hospital universitário do Recife. **X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2010** – UFRPE: Recife, 18 a 22 de outubro. Disponível em: <http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R1934-1.PDF>. Acesso em: 15 set. 2014.

MARTINEZ, J., *et al.* How are gene sequence analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. **Int. Microbiol.** v. 7, n. 4, p. 261-8, 2004.

MEDEIROS, A.A. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. **Clin. Infect. Dis.** v. 24, Suppl. 1, p. 19-45, 1997.

MENEZES, *et al.* Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** 2007 jun; 43(3):149-155.

MEYER G.; PICOLI, S.U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** 2011 jan-fev; 47.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.; PEALLER, M. **Medical Microbiology**. 7 ed. Elsevier Mosby, USA, 2014.

NIKAIDO H. Multidrug Resistance in Bacteria. Review in Advance first posted online on February 20, 2009.

NORDMAN, P., MAMMERI, H. Extended-spectrum cephalosporinases: structure, detection and epidemiology. **Future Microbiol.** v. 2, p. 297-307, 2007.

OLIVEIRA, R. **Nota sobre a *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase – KPC**. Serv. Est. De Contr. De Infecção. Mato Grosso. Disponível em: http://www.saude.mt.gov.br/portal/arquivos/doc/Nota_sobre_a_KPC_SECIH.pdf Acesso em: 11 out, 2014.

OLIVEIRA, K.R.P. **[Beta]-lactamases na família *Enterobacteriaceae*: métodos de detecção e prevalência.** 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/14753>> Acesso em: 01 de setembro de 2014.

OLIVEIRA, S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem.** v. 10, n. 1, p. 189-197, 2008. Disponível em <<http://www.fen.ufg.br/revista/v10/n1/v10n1a17.htm>> Acesso em: 15 jul. 2014.

PATEL, G.; BONOMO, RA. "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. **Frontiers in Microbiol.** 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3596785/> Acesso em: 13 out. 2014.

PATERSON, D.L.; BONOMO R.A. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.

PEIRANO, G., *et al.* Carbapenem-hydrolysing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brasil. **J Antimicrob. Chemother.** v. 63, n. 2, p. 265-8, 2009.

PFEIFER, Y.; CULLIK, A.; WITTE, W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacteria pathogens. **International Journal of Medical Microbiology.** v. 300, p. 371-379, 2010.

PIDDOCK, L.J.V. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacterial. **Clin. Microbiol. Rev.**, n. 19, p. 382-402, 2006.

PODSCHUM, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clin. Microbiol. Rev.**, n. 11, p. 589-603, 1998.

QUEENAN, A.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. **J. Clin. Microbiol. Rev.** 20:440-458. Jul. 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1932750/?tool=pubmed>. Acesso em: 07 jun. 2014.

QUINTEIRA, S. *et al.* Characterization of In100, a new integron carrying a metallo- β -lactamase and a carbenicillinase, from *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, n. 1, p. 451-3, 2005.

ROBLEDO, I.E. *et al.* Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. **J. Antimicrob. Agents Chemother.** 54: 1354-1357. Mar. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2825984/?tool=pubmed>>. Acesso em: 17 ago. 2014.

ROSSI, F. The challenges of microbial resistance in Brazil. **Clin. Infect. Dis.**, v. 52, n. 9, p. 1138-1143, 2011.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D.B. **Resistencia bacteriana. Interpretando o antibiograma.** São Paulo: Atheneu, 2005.

RUTALLA, A.W. *et al.* Bacterial contamination of keyboards: efficacy and functional impact of disinfectants. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, New Jersey, v. 27, n. 4, p. 372-377, abr. 2006.

SANDERS, C.C.; SANDERS, W.E Jr. Beta-Lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. **Clin. Infect. Dis.** v. 15, n. 5, p. 824-39, Nov 1992.

SANTOS, A.A.M. *et al.* **Diagnóstico do controle da infecção hospitalar no Brasil. In: Programa de Pesquisas Hospitalares em Busca de Excelência: Fortalecendo o Desempenho Hospitalar no Brasil**, ANVISA, 2005. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/Infectes%20Hospitalares_diagnostico.pdf>. Acesso em: 30 set. 2014.

SHEN, B. *et al.* Inhibitor Discovery of Full-Length New Delhi Metallo- β -Lactamase-1 (NDM-1). **PLoS ONE**. v. 8, n. 5, p. 62955. doi:10.1371/journal.pone.0062955.

SIEGEL, J.D. *et al.* Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infections agents in healthcare settings. United States, 2007. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007>. Acesso em: set./2014.

SILBERT, S., BOYKEN, L., HOLLINS, R.J., PFALLER, M.A. Improving typeability of multiple bacterial species using pulsed-field gel electrophoresis and thiourea. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 47, n. 4, p. 619-21, 2003.

SILVEIRA, G.P. *et al.* Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 844-855, mar. 2006.

SIROT, D. *et al.* Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. **J. Antimicrob. Chemother.** v. 20, n. 3, p. 323-34, Sep, 1987.

SPANU, T., *et al.* Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 46, n. 1, p. 196-202, 2002.

STARLING, C.E.F.; COUTO, B.R.G.M.; PINHEIRO, S.M.C. Applying the Centers for Diseases Control and Prevention and National Nosocomial Surveillance System Methods in Brazilian Hospitals. **American Journal Infection Control**. v. 25, n. 4, p. 303-311, 1997.

STEWARD, C.D. *et al.* Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: a survey of project ICARE laboratories. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 38, n. 1, p. 59-67, 2000.

STURENBURG, E. *et al.* Evaluation of a new screen agar plate for detection and presumptive identification of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 51, n. 1, p. 51-5, 2005.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American Journal of Medicine**, New York, v. 119, s. 6A, p. 3-10, 2006.

THOMSON, K.S. Controversies about extended-spectrum and AmpC beta-lactamases. **Emerg. Infect. Dis.** v. 7, n. 2, p. 333-6, 2001.

TIBBETTS, R. *et al.* Detection of KPC-2 in a clinical isolate of *Proteus mirabilis* and first reported description of carbapenemase resistance caused by a KPC beta-lactamase in *P. mirabilis*. **J. Clin. Microbiol.** 46(9): 3080-3, Set. 2008.
Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2546724/?tool=pubmed>. Acesso em: 22 set. 2014.

TOUFEN JR, C. *et al.* Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 58, n. 5, p. 254-259, 2003.

TSAKRIS, A. *et al.* Evaluation of Boronic Acid Disk Tests for Differentiating KPC-Possessing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in the Clinical Laboratory. **J. Clin. Microbiol.** 47: 362-367. Fev. 2009.
Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2643660/?tool=pubmed>. Acesso em: 19 set. 2014.

TOLENTINO, F.M. Detecção e Identificação dos genes de beta-lactamases blaSHV, blaTEM e blaCTX-M em *Klebsiella pneumoniae* isoladas em um Hospital Terciário do Estado de São Paulo. 2009. 94f. (Dissertação Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Biociências - Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. São José do Rio Preto, 2009.

VERMELHO, A.B.; BASTOS, M.C.F.; SÁ, M.H.B. **Bacteriologia geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VERSALOVIC, J., KOUEUTH, T., LUPSKI, J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. **Nucleic Acids Res.** v. 19, n. 24, p. 6823-31, 1991.

WALSH, T.R. *et al.* Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 18, n. 2, p. 306-325, abr. 2005.

WILK, M.S.; LOVERING, A.L.; STRYNADKA, N.C.J. B-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, p. 525-533, 2005.

WOLTER D.J. *et al.* Surveillance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Puerto Rican Medical Center Hospitals: dissemination

of KPC and IMP-18 -lactamases. **Antimicrob. Agents Chemother.** 53(4): 1660-4, Abr. 2009.

Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663076/?tool=pubmed>. Acesso em: 13 out. 2014.

WOODFORD, N. *et al.* Carbapenemases of *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum*: distribution of *bla_B* and characterization of a novel metallo-β-lactamase gene, *bla_{B3}*, in the type strain, NCTC 10016. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 44, n. 6, p. 1448-52, 2000.

YONG D. *et al.* Characterization of a new metallo-β-lactamase gene, *bla_(NDM-1)*, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 53, p. 5046-5054, 2009.