

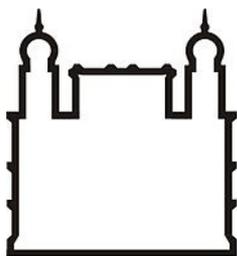
**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO E MORTALIDADE POR
ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
CARBAPENEMASE EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA EM
TERESINA, PIAUÍ**

TRÍCIA CARVALHO CARNEIRO

**TERESINA-PI
Novembro de 2018**



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

TRÍCIA CARVALHO CARNEIRO

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO E MORTALIDADE POR
ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
CARBAPENEMASE EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA EM
TERESINA, PIAUÍ**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, área de concentração: Diagnóstico, epidemiologia e controle de doenças infecciosas e parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa

TERESINA – PI
Novembro de 2018

Carneiro, Trícia Carvalho.

Fatores associados à infecção e mortalidade por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma unidade de terapia intensiva em Teresina, Piauí / Trícia Carvalho Carneiro. - Teresina, 2018.

XVII, 154f f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2018.

Orientador: Filipe Anibal Carvalho Costa.

Bibliografia: f. 117-146

1. KPC. 2. infecções por *Klebsiella*. 3. *Klebsiella* resistente a carbapenêmicos. 4. infecção hospitalar. 5. colonização KPC. I. Título.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR (A): TRÍCIA CARVALHO CARNEIRO

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO E MORTALIDADE POR
ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
CARBAPENEMASE EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA EM
TERESINA, PIAUÍ**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa

Aprovada em: 21 de novembro de 2018

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Kelsen Dantas Eulálio

Prof^a Dr^a Maria do Amparo Salmito Cavalcanti

Prof. Dr. Régis Bernardo Brandim Gomes

Prof^a Dr^a Clarissa Romero Teixeira

Prof^a Dr^a Elaine Ferreira do Nascimento

Teresina, 21 de novembro de 2018

À Laura e ao Leonardo,
por serem a melhor parte do meu dia e tonarem tudo possível.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Basílio e Maria Arlinda, pelo exemplo de vida, incentivo contínuo e dedicação.

Aos meus irmãos Aníbal, Galba e Daniel pelo apoio, ajuda e carinho.

Ao Prof. Dr. Filipe Aníbal Carvalho Costa pela generosidade, apoio, disponibilidade e paciência na orientação para a realização desse trabalho.

Aos professores membros da banca examinadora deste trabalho pela disponibilidade e pelas sugestões sempre bem-vindas.

Aos professores e amigos da Pós-Graduação em Medicina Tropical da Fundação Oswaldo Cruz pela valiosa contribuição na minha formação científica.

Aos funcionários da Fundação Oswaldo Cruz-PI, em especial à Hérida pela solicitude.

À todos os amigos, funcionários e pacientes do Hospital de Urgência de Teresina, em especial aos Drs. Antônio Gilberto Albuquerque Brito, Fábio Marcos de Sousa e a todos os plantonistas das UTIs cuja ajuda foi imprescindível para a realização desse trabalho

A todos os amigos do Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella que me ensinaram a amar a medicina tropical, em especial aos Drs. Maria do Amparo Salmito Cavalcanti e Kelsen Dantas Eulálio pelo exemplo na vida e na medicina

Ao Prof. João Batista Mendes Teles da Universidade Federal do Piauí pela ajuda com a análise estatística

Aos meus colegas de mestrado Caroline Baima, Darwin René, Dilbert Vêloso, Filipe Augusto, Jurecir Silva, Léia Madeira, Leoberto Torres pelo companheirismo, amizade, carinho e respeito durante os dois anos de convivência

E especialmente a Deus que sempre guia meus passos

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”

Leonardo da Vinci (1452-1519)

RESUMO

FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO E MORTALIDADE POR ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEMASE EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA EM TERESINA, PIAUÍ

Trícia Carvalho Carneiro. Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa, 2018.

Introdução: As infecções nosocomiais causadas por germes multirresistentes vêm apresentando um aumento expressivo ao longo das últimas décadas em todo o mundo. As infecções causadas por enterobactérias produtoras de carbapenemases, como *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) apresentam opções de tratamento restritas e altas taxas de mortalidade. O objetivo desse estudo é descrever o perfil dos pacientes colonizados por KPC em um centro de referência com análise dos preditores de mortalidade intra-hospitalar e fatores de risco para infecção por KPC. **Metodologia:** O estudo é observacional transversal descritivo tipo série de casos. Os pacientes colonizados por KPC foram avaliados quanto a variáveis epidemiológicas e clínicas. Após a coleta de *swab* retal foram incluídos pacientes colonizados com KPC, com idade superior a 18 anos e internados na UTI. O total de 54 pacientes colonizados foi dividido em dois grupos conforme o desfecho para o óbito (n= 33) ou não (n=21) para avaliar preditores de mortalidade; e também em grupo dos colonizados (n= 49) e infectados (n= 5) por KPC para avaliar fatores de risco para esta infecção. **Resultados:** A incidência da colonização por KPC foi de 17,53%, enquanto a da infecção por KPC de 1,62%. Os pacientes colonizados por KPC apresentaram mortalidade total intra-hospitalar elevada (61%), assim como aqueles infectados (100%). Entre os pacientes colonizados a terapia de substituição renal, escore APACHE II, uso de dispositivos invasivos e de antimicrobianos (carbapenêmicos, polimixina B e glicopeptídeos) foram preditores de mortalidade. Em relação aos fatores de risco para o desenvolvimento de infecção por KPC nos pacientes colonizados foi observado: tempo de internação na UTI, tempo de positividade do *swab* para KPC, uso de dispositivos invasivos, terapia de substituição renal, nutrição parenteral total e uso de antimicrobianos (aminoglicosídeos, quinolonas, polimixina B e glicopeptídeos). Os pacientes colonizados e infectados por KPC apresentaram letalidade total intra-hospitalar elevada. **Conclusão:** O isolamento de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase foi preditor independente de mortalidade na UTI, mas não de morte atribuída a infecção na amostra.

Palavras chave: KPC; infecções por *Klebsiella*; *Klebsiella* resistente a carbapenêmicos; infecção hospitalar; colonização KPC.

ABSTRACT

FACTORS ASSOCIATED TO INFECTION AND MORTALITY BY *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEMASE PRODUCING ENTEROBACTERIA IN A UNIT OF INTENSIVE THERAPY IN TERESINA, PIAUÍ

Trícia Carvalho Carneiro. Master's Dissertation in Tropical Medicine.
Supervisor: Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa, 2018.

Background: Nosocomial infections caused by multiresistant germs have been showing a significant increase in the last decades throughout the world. Infections caused by carbapenemase-producing enterobacteriaceae, such as *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), present restricted treatment options and high mortality rates. The objective of this study is to describe the profile of patients colonized by KPC in a reference center with analysis of the mortality predictors and risk factors for KPC infection. **Methodology:** The study is observational cross-sectional descriptive type series of cases. Patients colonized by KPC were evaluated for epidemiological and clinical variables. After collection of the rectal swab, patients colonized with KPC, older than 18 years and hospitalized in the ICU were included. The total of 54 colonized patients was divided into two groups according to the outcome for death (n = 33) or not (n = 21) to evaluate mortality predictors; and also in the colonized (n = 49) and infected (n = 5) by KPC to evaluate risk factors for this infection. **Results:** Incidence of colonization by KPC was 17.53%, while that of KPC infection was 1.62%. Patients colonized by KPC had high total in-hospital mortality (61%), as well as those infected (100%). Among patients colonized, renal replacement therapy, APACHE II score, use of invasive devices and antimicrobials (carbapenems, polymyxin B and glycopeptides) were predictors of mortality. Regarding the risk factors for the development of KPC infection in colonized patients, we observed: length of ICU stay, time of *swab* positivity for KPC, use of invasive devices, renal replacement therapy, total parenteral nutrition and use of antimicrobials (aminoglycosides, quinolones, polymyxin B and glycopeptides). Patients colonized and infected with KPC had elevated lethality. **Conclusion:** Isolation of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* was an independent predictor of ICU mortality but not death attributed to infection in the sample.

Keywords: KPC; *Klebsiella* infections; *Klebsiella* resistant to carbapenems; infection; colonization KPC.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Superfamília cassette ligando ATP
AKI	Injúria renal aguda
APACHE II	Escore de avaliação de saúde crônica e fisiologia aguda
APBA	Ácido 3-aminofenilborônico
APM	Alto peso molecular
BPM	Baixo peso molecular
BYG-CARBA	Teste Bogaerts-Yunes-Glupcynski
Carba NP	Teste carbapenemase Nordmann-Poirel
CDC	Centro de Controle de Doenças
CCCP	Teste carbonil cianido m-clorofenil hidrazona
CDDEP	Center for Diseases Dynamics, Economics and Policy
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMT	Superfamília dos transportadores metabólicos ou drogas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECG	Escala de Coma de Glasgow
EDTA	Ethylene Di amine Tetra acetic acid
EPC	Enterobactérias produtoras de carbapenemases
ERC	Enterobactérias resistente aos carbapenêmicos
ESBL	Beta-lactamases de espectro estendido
FIRJAN	Federação das Indústrias do Estado do Rio de Janeiro
GES	Enzima Guiana Extended-Spectrum
GIM	German Imipenemase
HUT	Hospital de Urgência de Teresina
IAH	Infecções adquiridas no hospital
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICS	Infecção de corrente sanguínea
IFO	Infecção de ferida operatória
IIA	Infecções intra-abdominais
IMI	Beta lactamases hidrolisadoras de imipenem
IMP	Imipenem metallo-beta-lactamase (Imipenemase)
ISS	Escore de severidade de injúria
ITU	Infecção do trato urinário
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LODS	Sistema de disfunção logística dos órgãos
MATE	Superfamília dos compostos de exclusão tóxicos e multi-drogas
MBL	Metallo-beta-lactamases
MELD	Escore de doença hepática em estágio terminal
MFS	Superfamília dos facilitadores maiores
MHT	Modified Hodge Test
MODS	Escore de disfunção de múltiplos órgãos
MPM	Modelo preditor de mortalidade
MPP	Microorganismos potencialmente patogênicos
NDM	New Delhi Metallo-beta-lactamase
Nmc-A	Enzimas não-metallo-carbapenemase-A
NGS	Next generation sequencing
OMS	Organização Mundial de Saúde

OXA	Oxacilinas
PAV	Pneumonia associada a ventilação mecânica
PBA	Ácido fenilborônico
PLP	Proteínas de ligação as penicilinas
PME	Proteínas da Membrana Externa
RIDE	Região Integrada de Desenvolvimento Econômico
RIFLE	Escore de risco, injúria, perda e estágio renal terminal
RND	Superfamília da divisão da nodulação de resistência
rt-RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa tempo real
RTS	Escore de Trauma revisado
SAPS II E III	Escore fisiológico simplificado agudo
SIM	Seoul Imipenemase
SME	<i>Serratia marcescens</i> Enzima
SMR	Superfamília de resistência multi-drogas
SOFA	Escore de insuficiência de órgãos relacionado a sepse
SPM	Sao Paulo Metallo-beta-lactamase
TAV	Traqueobronquite associada a ventilação mecânica
TRI	Trato respiratório inferior
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UFC	Unidades formadoras de colônias
VIM	Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase
VM	Ventilação mecânica

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Distribuição global das carbapenemases nas enterobactérias por países e regiões	30
FIGURA 2. Distribuição global da <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase por países	31
FIGURA 3. Classificação da carbapenemases, segundo AMBLER	32
FIGURA 4. Elementos genéticos móveis: plasmídeos, transposons, integrons e genes cassettes	38
FIGURA 5. Tranferência horizontal de determinantes de resistência: conjugação, transformação e transdução	39
FIGURA 6. Mecanismos de resistência bacteriana	42
FIGURA 7. Mecanismo de ação das carbapenemases	45
FIGURA 8. Incidência cumulativa da colonização e infecção por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase nos pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	66
FIGURA 9. Incidência bruta da colonização e infecção por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase nos pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	67
FIGURA 10. Diagnóstico da internação por grupos nos pacientes colonizados enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	69
FIGURA 11. Presença de comorbidades nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	72
FIGURA 12. Primeira infecção respiratória após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	79
FIGURA 13. Segunda infecção respiratória após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	79
FIGURA 14. Infecção urinária pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	80
FIGURA 15. Infecção de corrente sanguínea pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	81
FIGURA 16. Infecção de cavidade abdominal pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	82
FIGURA 17. Ventriculite pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	83

FIGURA 18. Infecção de pele pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	84
FIGURA 19. Tempo de positivação do swab em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	89
FIGURA 20. Tempo de internação na UTI em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	91
FIGURA 21. Número de infecções após colonização em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	101
FIGURA 22 – Função de sobrevivência nos pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	110
FIGURA 23 – Função de sobrevivência nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	110
FIGURA 24 – Função de sobrevivência nos pacientes infectados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	110
FIGURA 25 – Função de risco nos pacientes colonizados e infectados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	112
FIGURA 26: Taxa de letalidade entre os pacientes colonizados e infectados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	113

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Diagnóstico da internação nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	70
TABELA 2. Tempo de uso de dispositivos invasivos e necessidade de terapia de substituição renal nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	73
TABELA 3. Tempo de internação na UTI e tempo de positividade do <i>swab</i> nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	74
TABELA 4. Regressão linear múltipla nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), com variável dependente tempo de positividade do <i>swab</i> e variáveis independentes tempo de internação na UTI, número de dias em uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora e sonda nasogástrica/nasoentérica.	75
TABELA 5 – Complicações não infecciosas nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	76
TABELA 6 – Incidência de infecções após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	77
TABELA 7 – Sítio das infecções após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	78
TABELA 8 – Uso de antimicrobianos pré colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva.	85
TABELA 9. Associação entre o gênero e a faixa etária e o desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	87
TABELA 10. Associação entre infecções pós colonização, trauma e comorbidades e o desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).	88
TABELA 11. Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis gênero, terapia de substituição renal, cirurgia não abdominal e cirurgia abdominal	92
TABELA 12. Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/nasoentérica, ventilação mecânica invasiva e o índice prognóstico APACHE II	94

TABELA 13 – Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis idade e uso de ventilação mecânica invasiva	95
TABELA 14 – Uso de antimicrobianos e relação com desfecho clínico (óbito) nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI)	97
TABELA 15. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), segundo dados demográficos	103
TABELA 16. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao tempo de positivação do swab e tempo de internação na UTI	104
TABELA 17. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao uso de dispositivos invasivos na UTI	105
TABELA 18. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao escore APACHE II, necessidade de terapia de substituição renal e nutrição parenteral total	107
TABELA 19. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao uso de antimicrobianos	108
TABELA 20. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao desfecho com óbito	109

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO:	18
1.1. Conceitos iniciais	18
1.2. Importância das infecções hospitalares	22
1.3. Evolução da resistência microbiana	24
1.4. Epidemiologia enterobactéria resistente ao carbapenêmico	25
1.4.1. Reservatórios e fatores de risco	25
1.4.2. Genética da enzima	26
1.5. Descoberta dos carbapenêmicos	26
1.6. História das carbapenemases	26
1.7. Ocorrência global das carbapenemases – Epidemiologia	28
1.8. Classificação das carbapenemases	31
1.8.1. Classe A	32
1.8.2. Classe B	34
1.8.3. Classe D	37
1.9. Disseminação das carbapenemases através da transferência horizontal de genes	38
1.10. Base genética da atividade carbapenemase	42
1.10.1. Genética envolvendo a perda das proteínas da membrana externa (PME)	42
1.10.2. Expressão genética das bombas de efluxo	44
1.10.3. Supressão genética das proteínas de ligação as penicilinas (PLP)	44
1.10.4. Produção de enzimas que hidrolisam os carbapenêmicos (carbapenemases)	45
1.11. Interrelação mecanismos resistência aos carbapenêmicos	46
1.12. Diagnóstico da produção de carbapenemases	46
1.12.1. Testes fenotípicos	47
1.12.2. Testes moleculares	51
1.13. Limitações	53
1.14. Cenário atual da terapia carbapenêmica	54
1.15. Prevenção da resistência aos carbapenêmicos	55

2. JUSTIFICATIVA	57
3. OBJETIVOS	58
3.1. Geral	58
3.2. Específicos	58
4. MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1. Tipo de estudo	59
4.2. Local	59
4.3. População	60
4.3.1. Critérios de inclusão	60
4.3.2. Critérios de exclusão	61
4.4. Coleta de dados	61
4.5. Riscos	63
4.6. Benefícios	63
4.7. Questões éticas	63
4.8. Análise dos dados	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1. Cálculo da incidência da colonização e infecção por KPC entre os pacientes	66
5.2. Identificação das características clínicas e epidemiológicas dos pacientes colonizados e infectados por KPC	69
5.3. Avaliação dos fatores associados ao óbito intra-hospitalar de pacientes colonizados por KPC	87
5.4. Análise de fatores associados a infecção por KPC nos pacientes colonizados	103
5.5. Descrição da letalidade geral entre os pacientes infectados e colonizados por KPC.	113
6. CONCLUSÃO	115
7. PERSPECTIVAS	116
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117
9. APÊNDICES	147
10. ANEXOS	152

1. INTRODUÇÃO

1.1. Conceitos iniciais

A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase é uma enzima que hidrolisa carbapenêmicos e foi isolada inicialmente em *Klebsiella pneumoniae*, mas também encontradas em outras enterobactérias como: *Escherichia coli*, *Enterobacter species* e *Citrobacter species* (SMITH, 2003).

A taxa de infecção hospitalar é mais alta nos pacientes de UTI do que no restante da população hospitalar (COOPER, 2009). Essa aumentada suscetibilidade infecciosa dos pacientes nas UTIs é particularmente atribuída aos microorganismos patogênicos multi-droga resistentes. Os fatores de risco são vários, entre eles o uso de antimicrobianos, dispositivos invasivos tais como cateteres intravenosos centrais e periféricos, sonda vesical de demora, tubo endotraqueal, traqueostomia e drenos torácicos e cirúrgico, mais frequentes nestes pacientes (FRAISE, 2009; HUGHES, 2012). Devido a natureza frequentemente urgente das intervenções em UTI, pode ocorrer a aderência subótima às práticas de prevenção e controle de infecção (DEPARTMENT OF HEALTH, 2006).

A insuficiência em eliminar os microorganismos colonizantes dos órgãos internos invariavelmente leva a altas concentrações de microorganismos potencialmente patogênicos (MPP), predispondo à infecção. O organismo mobiliza ambos os sistemas de defesa humoral e celular para dificultar a instalação do quadro infeccioso. Portanto, a infecção requer não apenas invasão, mas também comprometimento da imunocompetência (SILVESTRI, 2012).

A colonização é definida como a presença de microorganismo em órgão interno que é normalmente estéril (ex. vias aéreas inferiores, bexiga), sem qualquer resposta inflamatória do hospedeiro. A infecção é um diagnóstico clínico microbiologicamente confirmado de inflamação local e/ ou generalizada. Isso inclui não apenas sinais clínicos, mas também a presença de leucócitos, > 10⁵ UFC/ml de patógenos em amostras diagnósticas obtidas de um órgão

interno, ou o isolamento de microrganismo do sangue, líquido cerebrospinal ou líquido pleural. As amostras diagnósticas são coletadas de órgãos internos que são normalmente estéreis, tais como vias aéreas inferiores, bexiga e sangue (SARGINSON, 2001).

As amostras de vigilância são coletadas de sítios corporais onde os patógenos potenciais são carreados, como o trato digestivo e lesões de pele (por exemplo, traqueostomia e úlceras de pressão). Geralmente, o conjunto de amostras de vigilância consistem de swabs retal e de orofaringe à admissão do paciente na UTI e semanalmente após a admissão. Elas não são úteis para o diagnóstico de infecções dos órgãos internos, quando amostras diagnósticas são requeridas para esse propósito (SARGINSON, 2001). Elas são indicadas para monitorar a eficácia da descontaminação sistemática do trato digestivo e para identificar a emergência de ameaça antimicrobiana resistente, consistindo num componente intrínseco de qualquer programa de descontaminação. Culturas de vigilância da orofaringe e reto são mais sensíveis em detectar resistência do que são amostras diagnósticas (DAGATA, 1999).

As culturas de vigilância, ou a falta delas, são ainda relevantes. A falta de culturas de vigilância não apenas atrasa o reconhecimento de um surto e seu controle, mas também impossibilita a compreensão da patogênese da maioria dos surtos. Para o controle e prevenção de surtos na UTI, as culturas de vigilância devem ser integrada nas rotinas das medidas de controle de infecção (DAMJANOVIC, 2012).

Existem dois mecanismos básicos de colonização e infecção em pacientes de UTI: migração e translocação. A migração é o movimento de MPP de um lugar, como orofaringe e intestino, onde eles estão presentes em supercrescimento, para outro sítio, em particular órgãos internos normalmente estéreis (VAN UFFELEN, 1984). A translocação (ou migração transmural) foi originalmente definido como a passagem de bactérias viáveis do intestino através do epitélio para a lâmina própria e conseqüentemente para os linfonodos mesentéricos e possivelmente outros órgãos (SILVESTRI, 2012).

Classificar infecção é crucial em qualquer programa de vigilância infecciosa, particularmente na UTI. A definição do tempo, geralmente 48 horas, tem sido aceita para distinguir infecções adquiridas na comunidade daquelas adquiridas no hospital, incluindo infecções adquiridas na UTI (SPENCER, 1996;

SILVESTRI, 2012). A severidade da doença subjacente, procedimentos diagnósticos e terapêuticos invasivos que violam as defesas normais do hospedeiro, equipamentos de suporte de vida contaminados e a presença de microorganismos resistentes, são fatores críticos na alta taxa de infecção na UTI (MASSANARI, HIERHOLZER, 1986).

As infecções do trato respiratório inferior (TRI) em pacientes incubados incluem a traqueobronquite associada a ventilação mecânica (TAV) e a pneumonia associada ao ventilador (PAV). Ambas são infecções adquiridas no hospital que ocorrem dentro de 48 horas após a intubação (CHASTRE, FAGON, 2002; NIEDERMAN, 2005). Em contraste à TAV, a PAV requer a presença de novos e persistentes infiltrados pulmonares na radiografia de tórax, que pode ser difícil de interpretar em alguns pacientes criticamente doentes; e dois ou mais dos seguintes critérios: febre ($> 38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia; contagem de leucócitos $> 10.000/\text{microlitro}$; secreção traqueobrônquica purulenta ou redução na taxa da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial (PaO_2)/ fração inspirada de oxigênio (FIO_2) $> 15\%$ de acordo com as definições dos centros dos Estados Unidos para controle e prevenção de doenças. É difícil determinar a exata incidência e importância de TAV por várias razões. A PAV que ocorre durante os primeiros quatro dias de ventilação mecânica é definida como de início precoce na tentativa de diferenciar da PAV de início tardio, que se desenvolve depois desse período (ALMIRAL, 2012).

A infecção de corrente sanguínea (ICS) adquirida no hospital é definida em um paciente através de uma cultura de sangue positiva para uma bactéria ou fungo e clinicamente significativa, que é obtida mais que 72 horas após a admissão ou previamente, se isso for diretamente relacionado à manipulação invasiva na admissão na UTI (GARNER, 1988). Na UTI, os tipos de infecções mais frequentes são as infecções do trato respiratório inferior e infecção de corrente sanguínea. Essa distribuição é relacionada ao uso disseminado de ventilação mecânica e cateteres intravenosos. (TRILLA, 1994; VALLÉS, FERRER, 2012).

As infecções intra-abdominais (IIA) são definidas como uma resposta inflamatória do peritônio à microrganismos e suas toxinas, o que resulta num exsudato purulento na cavidade abdominal (BOSSCHA, 1999). A classificação das peritonites em geral é difícil. Pode-se classificá-las diferenciando as raras

formas de peritonite primária, que usualmente respondem a tratamento médico; as peritonites terciárias, que não respondem a quaisquer tratamentos, e a peritonite secundária (mais comum) que demanda intervenção cirúrgica e terapia antibiótica. As IIA incluem as seguintes condições patológicas: 1. infecções de órgãos isolados (colecistite, apendicite, diverticulite, colangite, pancreatite, salpingite, etc) que podem ou não ser complicadas por peritonite, mesmo na ausência de perfuração; 2. peritonite classificada como primária, secundária ou terciária e 3. Abscesso intra-abdominal, classificado na base da sua localização e configuração anatômica (SGANGA, 2012).

Quanto à infecção do trato urinário (ITU), acredita-se que a colonização extra luminal é a mais provável rota de entrada dos microrganismos, principalmente via uretra feminina, que é mais curta. A colonização dos cateteres urinários é inevitável e esperada. Uma vez que os microrganismos colonizam a urina, eles rapidamente progridem, dentro de 72 horas, a concentrações de $> 10^5$ UFC/ml (STARK, MAKI, 1984). A maioria dos microrganismos causando ITU associada a um cateter são derivados da própria flora e colonizam a região perineal do paciente (tais como *E. coli*) ou das mãos dos profissionais de saúde durante a inserção do cateter ou manipulação do sistema coletor. Os pacientes requerendo inserção de cateter por longo prazo desenvolvem ITU em quase 100% dos casos (SGANGA, 2012).

Uma variedade de escores estão disponíveis para estratificação da severidade da doença e resultados prognósticos. Esses escores são necessários para controle de qualidade e manuseio na UTI (TOY, 2014).

Os sistemas prognósticos (sistemas de escores) disponíveis para determinação da severidade na UTI são geralmente categorizados em quatro grupos: 1. Escores de prognóstico de risco geral, por exemplo para avaliação da saúde crônica e fisiologia aguda, APACHE, APACHE II, APACHE III, APACHE IV, modelo de predição mortalidade (MPM), escores fisiológicos simplificados agudos (SAPS II e III); 2. Escores prognósticos da doença e órgãos específicos, por exemplo escala de coma de Glasgow (ECG), classificação de CHILD-Pugh, escore para modelo de doença hepática em estado terminal (MELD), risco, injúria, perda e estágio renal terminal (RIFLE), classificação para injúria renal aguda (AKI) e escores de insuficiência cardíaca; 3. Escores de disfunção de órgãos, por exemplo escore de insuficiência de órgãos relacionados a sepse

(SOFA), escore de disfunção de múltiplos órgãos (MODS), sistema de disfunção logística de órgãos (LODS) e 4. Escores de trauma, por exemplo escore de severidade da injúria (ISS) e escore de trauma revisado (RTS) (TOY, 2014).

Os sistemas de prognóstico de risco geral foram desenvolvidos baseados na suposição que a severidade da doença aguda pode ser mensurada através das características do paciente e grau de anormalidade de variáveis fisiológicas. Esses sistemas incluem o modelo APACHE II introduzido em 1985, consistindo em um dos índices prognósticos mais comumente aplicados na UTI, sendo designados para ajudar a determinar resultados em populações e são úteis para avaliação da certeza de qualidade e de resultados em coorte de pacientes. Esses sistemas de escores podem prover uma boa estimativa do número de pacientes que podem morrer em uma população de pacientes similares; contudo, esses sistemas não podem ser usados para prever exatamente qual dos pacientes irá morrer. Ele compreende 17 variáveis selecionadas por painel de *experts*: idade, status fisiológico, condições agudas e processo de doença crônica. Quanto mais alto o escore maior a mortalidade (TOY, 2014).

1.2. Importância das infecções hospitalares

As infecções adquiridas no hospital (IAH) ocorrem em 5 a 10% dos pacientes admitidos nos hospitais nos Estados Unidos e permanece a principal causa de morbidade e mortalidade (WENZEL, 1990). As taxas endêmicas de IAH variam muito entre hospitais e entre setores do mesmo hospital. Os pacientes em UTIs, que representam 8 a 15% das admissões hospitalares, experimentam uma percentagem desproporcionalmente alta de IAH quando comparados com pacientes em áreas não críticas (WEINSTEIN, 1991). Pacientes admitidos nas UTIs respondem por 45% de todas as pneumonias hospitalares e infecção de corrente sanguínea (ICS), embora as unidades críticas compreendam apenas 5-10% dos leitos hospitalares (WENZEL, 1983). Essas taxas de infecções dentre pacientes de UTI são cinco a dez vezes maiores que aquelas descritas para pacientes na enfermagem em geral (VALLÉS, FERRER, 2012).

No Brasil as infecções hospitalares atingem 14% das internações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016)

A pneumonia nosocomial responde a 31% de todas as infecções hospitalares e a grande maioria está associada à ventilação mecânica. A incidência de PAV varia de 9 a 67% dos pacientes em ventilação mecânica. A PAV aumenta em média o tempo na ventilação por até 10 dias, o tempo de permanência na UTI por até seis dias e o tempo total de permanência hospitalar por até 11 dias (ALMIRAL, 2012).

Nos Estados Unidos as infecções de corrente sanguínea respondem por quase 20% das infecções hospitalares nos pacientes de UTI, 87% delas associadas ao uso de cateter venoso central (RICHARDS, 1999). Um outro estudo de vigilância em 49 hospitais norte-americanos (SCOPE) revelou que 51% de todas as infecções de corrente sanguínea hospitalares ocorriam na UTI (WISPLINGHOFF, 2004). Estudos conduzidos em pacientes criticamente doentes mostram que a taxa de incidência de infecção de corrente sanguínea nosocomial na UTI variou de 27 a 68 episódios por 1000 admissões (RELLO, 1994), dependendo do tipo de UTI (cirúrgica, médica, coronariana), severidade da doença do paciente, uso de dispositivos invasivos e o tempo de permanência na UTI (VALLÉS, FERRER, 2012).

A taxa de mortalidade associada com severa peritonite permanece alta, variando de 3% em abscessos localizados, 10% em peritonite localizada, 32% em peritonite difusa supurativa e 70 a 80% em infecções mistas complicadas (SGANGA, 2012).

A infecção de ferida operatória (IFO) é a mais importante complicação de procedimentos cirúrgicos e continua sendo uma grande causa de mortalidade nesses pacientes (WHEELER, BERNARD, 1999). As infecções de sítio cirúrgico são a terceira infecção nosocomial mais reportada, respondendo por 14-16% de todas as infecções nosocomiais dentre pacientes hospitalizados (MANGRAM, 1996). Entre os pacientes cirúrgicos elas são a infecção nosocomial mais comum, respondendo por 38% de todas as infecções. A maior parte delas está confinada à incisão (cerca de dois terços) e um terço envolve órgãos ou espaços manipulados durante a operação. Quando os pacientes cirúrgicos com infecção de sítio cirúrgico morrem, 77% das mortes estão relacionadas à infecção, a maioria (93%) com infecção grave envolvendo órgãos ou espaços manipulados durante a cirurgia (MANGRAM, 1996).

A infecção do trato urinário (ITU) responde por mais de 30% das infecções descritas em hospitais. Virtualmente, todas as ITUs associadas aos cuidados de saúde são causadas por instrumentação do trato urinário. A duração do uso do cateter é o mais importante fator de risco para infecção (LO, 2008), cujo risco aumenta em estimativa de 5 a 10% para cada dia de permanência do cateter no local. Quanto maior o tempo de prevalência do cateter no local, mais provavelmente a colonização irá ocorrer (SGANGA, 2012).

1.3. Evolução da resistência microbiana

A evolução da resistência dentre agentes microbianos está constantemente aumentando e é fortemente influenciada por vários fatores incluindo os hospitais, superpopulação, saneamento e a disseminação de vários agentes microbianos no ambiente (DAVIES, DAVIES, 2010). Contribui para a emergência de resistência em espécies bacterianas a aquisição de genes de resistência por essas bactérias. A emergência de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e Metallo-beta-lactamases (MBL) no ambiente representam uma situação alarmante e o maior revés à terapia antimicrobiana (NOOR, RIAZ, 2016).

A emergência de resistência multidrogas entre os bacilos gram-negativos aos antimicrobianos, especialmente beta-lactâmicos (tais como carbapenêmicos que são frequentemente usados como antimicrobianos de última geração) está aumentando durante os últimos anos devido à produção de uma variedade de enzimas beta-lactamases, incluindo carbapenemases, o que dificulta o tratamento de doenças bacterianas levando a um aumento das taxas de morbidade e mortalidade (DAHAB, IBRAHIM, 2017). Os produtores de carbapenemases podem causar significantes infecções em comparação àqueles não produtores de carbapenemases, porque os genes que codificam a produção de carbapenemases são achados no material genético móvel que codifica também para resistência a outras classes de antimicrobianos. Os genes são mediados por plasmídios e as enzimas podem serem adquiridas por organismos suscetíveis tornando-os multirresistentes (DAHAB, IBRAHIM, 2017).

Os carbapenêmicos são o mais potente grupo de antimicrobianos disponível, eles são frequentemente usados como última linha para o tratamento

de infecções causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes que incluem Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e enterobactérias produtoras de AmpC, tão bem quanto as *Pseudomonas Aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) multirresistente e *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*). Nas últimas três décadas os carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem e doripenem) desempenharam um papel central no tratamento de infecções severas. Contudo, a recente emergência e rápida disseminação das enterobactérias produtoras de ESBL levaram a superutilização dos carbapenêmicos (HOXHA, 2016; PEREZ, 2016). O uso inadequado e sem controle de carbapenêmicos proporcionou uma pressão seletiva favorecendo a transferência de genes de resistência dos cromossomos aos plasmídios, com subsequente disseminação de plasmídios entre cepas, e de cepas entre pacientes levando à emergência e abrupta disseminação de ERC (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; DESOUKI (2), 2016)

1.4. Epidemiologia das enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC)

A forma de disseminação das ERC não tem sido a mesma para todas as enzimas (LÓPEZ-CERERO, ALMIRANTE, 2014). Existem dois principais parâmetros que devem ser identificados na epidemiologia das ERC:

1.4.1. Reservatório primário e fatores de risco para infecção e colonização: os mais importantes reservatórios identificados em ERC são indivíduos infectados ou colonizados de área endêmicas ou centros com surtos (LÓPEZ-CERERO, ALMIRANTE, 2014; DESOUKI (2), 2016). O risco de colonização e infecção com ERC tem sido associado com doença crítica e cirurgia, condições comórbidas, incluindo transplante de órgãos ou células-tronco, a presença de feridas, o uso de dispositivos invasivos ou ventilação mecânica e uso prévio de antimicrobianos. Adicionalmente, o risco de colonização por ERC aumenta com a estadia em unidade de terapia intensiva, o compartilhamento de um quarto com um conhecido portador de uma cepa ERC; a transferência entre instalações ou unidades e a hospitalização prolongada (SAVARD, PAERL, 2014; DESOUKI (2), 2016).

1.4.2. **Genética da enzima:** algumas estruturas genéticas são propensas à aumentar a plasticidade e mobilidade do gene. As enzimas disseminam-se primariamente, clonalmente e/ou por simultânea transmissão horizontal (NORDMANN, POIREL, 2014; DESOUKI (2), 2016).

A emergência de carbapenemases nas enterobactérias tem levantado uma preocupação global dentro das comunidades científicas, médicas e de saúde pública. Ambos, o CDC e a Organização Mundial de Saúde (OMS), consideram as Enterobactérias produtoras de carbapenemases (EPC) uma significativa ameaça que necessita de ação imediata. As infecções por EPC são associadas com alta mortalidade, primariamente devido à demora e a extrema limitação nas opções de tratamento efetivas. Mudanças no combate à EPC são principalmente direcionadas à oportuna e acurada detecção de cepas multi-drogas resistentes, e na consideração rigorosa sobre a melhor opção terapêutica para o tratamento (CANTON, 2015; BASSETTI, 2016; DESOUKI (2), 2016).

1.5. **Descoberta dos carbapenêmicos**

Os carbapenêmicos foram primeiramente descobertos da teinamicina produzida naturalmente por *Streptomyces cattleya*. A teinamicina foi identificada como um efetivo inibidor da enzima beta-lactamase depois do ácido clavulânico (MOELLERING, 1989). Os carbapenêmicos foram desenvolvidos depois da emergência de cepas resistentes multi-drogas a drogas do grupo das cefalosporinas (ex. ceftriaxona, cefepime, cefotaxima), especialmente nas enterobactérias. Os carbapenêmicos são antibióticos beta-lactâmicos e exibem um amplo espectro de atividade contra uma variedade de bactérias gram-negativas e gram-positivas. Eles são geralmente usados como agentes de última linha no tratamento de infecções (PAPP-WALLACE, 2011).

1.6. **História das carbapenemases**

ERC já foi relatada em todos os continentes, mas a primeira ERC descrita foi em 1993 (NAAS, NORDMANN, 1994; HAIDER, ABRAR, 2016). As

carbapenemases *K. pneumoniae* foram primeiro descritas em 2001 de amostras clínicas do norte da Califórnia (YIGIT, 2001).

A enzima *Serratia marcescens* (SME-1) foi primeiro detectada na Inglaterra em 1982 em duas *S. marcescens*. As enzimas non-metallo-carbapenemase-A (Nmc-A) foram identificadas pela primeira vez em *E. cloacae* na França em 1990 (WALTHER-RASMUSSEN, HOIBY, 2007; DESOUKI (1), 2016). Dentre todas as classes de carbapenemases, a primeira delas Mnc-A foi descrita em membros de enterobactérias, *Enterobacter cloacae* em 1993 na América do Norte (ARNOLD, 2011). A primeira enzima Guiana Extended-Spectrum beta-lactamase (GES) (GES-1) foi reportada em 2000. As enzimas GES foram primeiro descritas na *Klebsiella pneumoniae*, a causa de infecção em uma criança em um hospital na Guiana Francesa em 1998 (POIREL, LE THOMAS, 2000). O primeiro produtor de KPC (uma *K. pneumoniae* positiva KPC-2) foi identificada em 1996 nos Estados Unidos (QUEENAN, BUSH, 2007) e elas estão dentre as enzimas primeiramente descritas (NOOR UL, RIAZ, 2016). As MBL (metallo beta-lactamases) foram primeiro detectadas em 1960, contudo foi apenas na década de 90 que ficaram mais conhecidas quando surgiram vários relatos de emergência de infecções clínicas e surtos nosocomiais associados com esses genes nos bacilos gram-negativos. As enzimas tipo VIM foram primeiramente reportadas em uma *P. aeruginosa* resistente ao carbapenêmico isolada clinicamente em 1997 em Verona, Itália (MEINI, 2014). Esse tipo (VIM) foi também achado em cepas de *Pseudomonas* da França (POIREL, 2000). A NDM (New Delhi metallo-beta-lactamase) foi primeiro detectada em 2008 em uma *K. pneumoniae* isolada causando infecção do trato urinário em um paciente sueco de origem indiana que havia sido previamente hospitalizado em New Delhi. Baseado na sua origem geográfica os cientistas a nomearam de New Delhi metallo-beta-lactamase em 2008 (YONG, 2009). As Imipenemases metallo-beta-lactamases (IMP) foram as primeiras MBL adquiridas a serem identificadas e ela foi primeiramente encontrada em um isolado de *S. marcescens* no Japão em 1991.

A OXA-48 foi primeiro reportada em uma *K. pneumoniae* isolada recuperada em Istambul, Turquia em 2003 (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014). A primeira carbapenemase resistente associado à

OXA foi relatada em 1985 na Escócia entre isolados clínicos de *A. baumannii* (WALTHER-RASMUSSEN, HOIBY, 2006).

1.7. Ocorrência global das carbapenemases - Epidemiologia

A maioria dos membros das enterobactérias pertencem à flora intestinal normal do corpo humano e suas cepas resistentes aos carbapenêmicos causam infecções oportunistas ou nosocomiais (PITOUT, LAUPLAND, 2008). Os tipos de carbapenemases variam entre os países, parcialmente dependendo da relação entre a troca de população entre as regiões e aos possíveis reservatórios de cada carbapenemase (DJAHMI, 2014; ZAHEDI, 2015; DESOUKI D. G (3), 2016). A epidemiologia da EPC é bem definida na Europa onde vários ensaios nacionais e multinacionais foram realizados nos últimos anos. Embora, a prevalência de carbapenemase seja alta dentro desta área, constituindo um dos mais importantes reservatórios, os dados do Norte da África e regiões do Oriente Médio, outros além de Israel, são ainda escassos (ZAHEDI, 2015; GIRMENIA, 2016; DESOUKI D. G (3), 2016). Os membros das enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) são responsáveis por alta mortalidade e morbidade em populações da Grécia e Estados Unidos (QUEENAN, BUSH, 2007). As cepas de *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos estão tornando-se um grave problema de saúde pública na Europa, países do Mediterrâneo, Espanha e China (GUTIÉRREZ, 2007; WANG, ZHOU, 2010; CASTANHEIRA, 2014).

As carbapenemases tem ampla disseminação através do mundo (WALSH, 2005). KPCs tem sido relatadas com frequência nos Estados Unidos, China, Itália, Polônia, Grécia, Israel, Brasil, Argentina, Colômbia e Taiwan (MUNOZ-PRICE, 2013). A enzima *Serratia marcescens* (SME-1) tem sido isolada esporadicamente através dos EUA e Canada (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; MATASEJE, 2014; DESOUKI (1), 2016). As enzimas IMI e Nmc-A foram detectadas em poucas cepas de *E. cloacae* nos Estados Unidos, França e Argentina (NORDMANN, POIREL, 2014; DESOUKI (1), 2016). Embora as GES sejam muito raras, a GES-5 foi identificada principalmente na América do Sul (Brasil) e em alguns casos dispersos na Turquia e Coreia do Sul (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; NORDMANN, POIREL, 2014; DESOUKI (1), 2016). As KPCs são conhecidas por serem distribuídas em

todo o mundo (LEE, 2014; NOOR UL, RIAZ, 2016) e após sua descrição nos Estados Unidos imediatamente expandiram-se para outros continentes (MUNOZ-PRICE, 2013; NOOR UL, RIAZ, 2016).

Desde sua detecção as MBL tipo NDM tem se tornado o mais prevalente gene MBL circulando em todo o mundo (LOGAN, BONOMO, 2016; DESOUKI (1), 2016). Esse é um novo grupo emergente de carbapenemases com frequência crescente (PALZKILL, 2013). O subcontinente indiano, a região dos Balcãs e o Oriente Médio são considerados os principais reservatórios de produtores de NDM. NDM-1 é a principal MBL detectada em cepas de bactérias resistentes aos carbapenêmicos em pacientes na Índia (LASCOLS, 2011). Em países próximo ao subcontinente indiano, tais como a China, casos recentes revelam uma alta incidência de enterobactérias produtoras de NDM (DORTET, 2014; ZHOU, 2014; JIA, 2016). Produtores de carbapenemase tipo IMP tem se disseminado por vários países, mas sua frequência ainda é muito inferior à dos produtores de KPC, VIM, NDM ou OXA-48 (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; NORDMANN, POIREL, 2014; DESOUKI (1), 2016). Um estudo conduzido na Índia mostrou a taxa de prevalência para MBL em isolados clínicos em 63% quando utilizado imipenem. A resistência está sempre aumentando e isso tem sido demonstrado pela descoberta de enzimas tipo IMP-4 dentre isolados de *Citrobacter* coletados em Hong Kong, China durante o início dos anos 2000 (PELEG, 2005; NOOR UL, RIAZ, 2016). Em 2005 houve um grande surto de IMP-4 em Melbourne, Austrália. A enzima foi achada predominantemente em isolados de *Serratia* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esses organismos resistentes tornaram-se a fonte de disseminação de genes de resistência a sete outros membros da família das enterobactérias e genes IMP tornaram-se endêmicos na Austrália (HAWKEY, 2015). As metallo-beta-lactamases (MBL), incluindo IMP e VIM conferem resistência ao Imipenem em cepas bacterianas prevalentes nas populações da Europa e Ásia (SHARMA, 2016).

As carbapenemases OXA-48-like vem sendo isoladas de forma crescente em enterobactérias na Turquia, Oriente Médio e países do Norte da África (NORDMANN, POIREL, 2014; GIRMENIA, 2016). Espanha, França, Alemanha, Suíça, Holanda e Reino Unido são os países europeus onde um substancial aumento no número de enterobactérias produtoras de carbapenemases OXA-48

tem sido relatado. Nas Américas, Rússia, China e Austrália apenas casos esporádicos de carbapenemases OXA-48-like foram descritos. O acúmulo de genes beta-lactamases classe D no DNA cromossômico de *Acinetobacter baumannii* confere resistência aos carbapenêmicos. As cepas de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos estão emergindo na Europa, América do Norte e América Latina nos últimos 10 anos (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014). A OXA-48 tem sido detectada em populações da Índia e países do Mediterrâneo (NORDMANN, 2011).

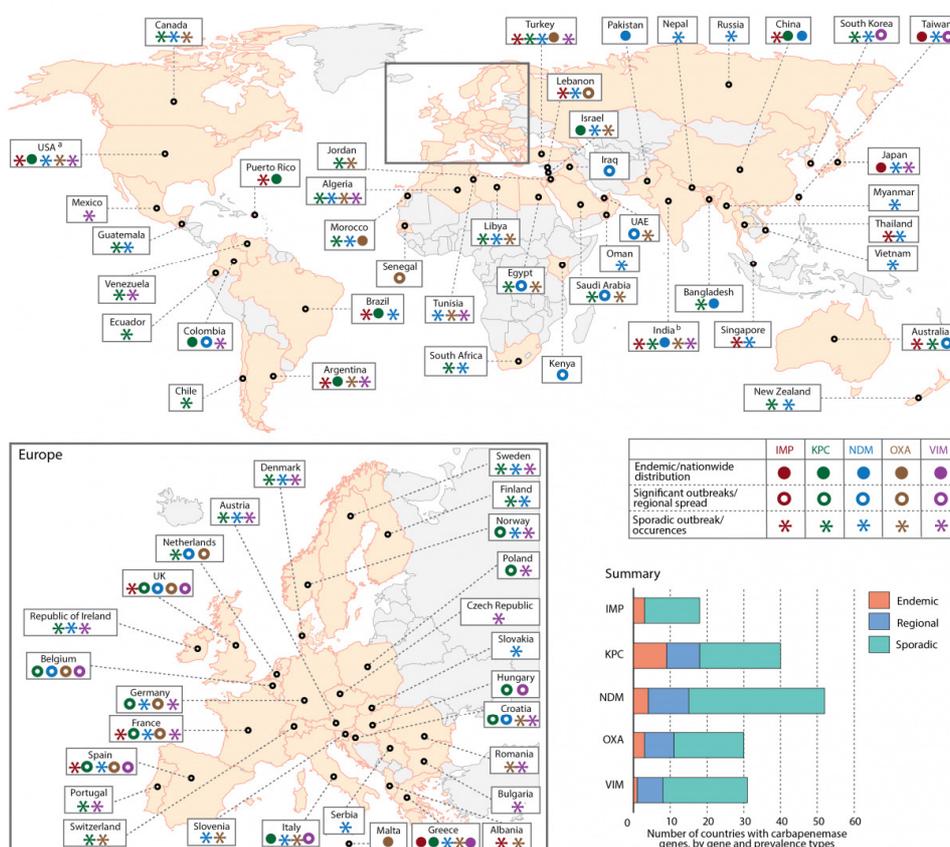


FIGURA 1. Distribuição global das carbapenemases nas enterobactérias por países e regiões. Adaptado de Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (CDDEP), 2011

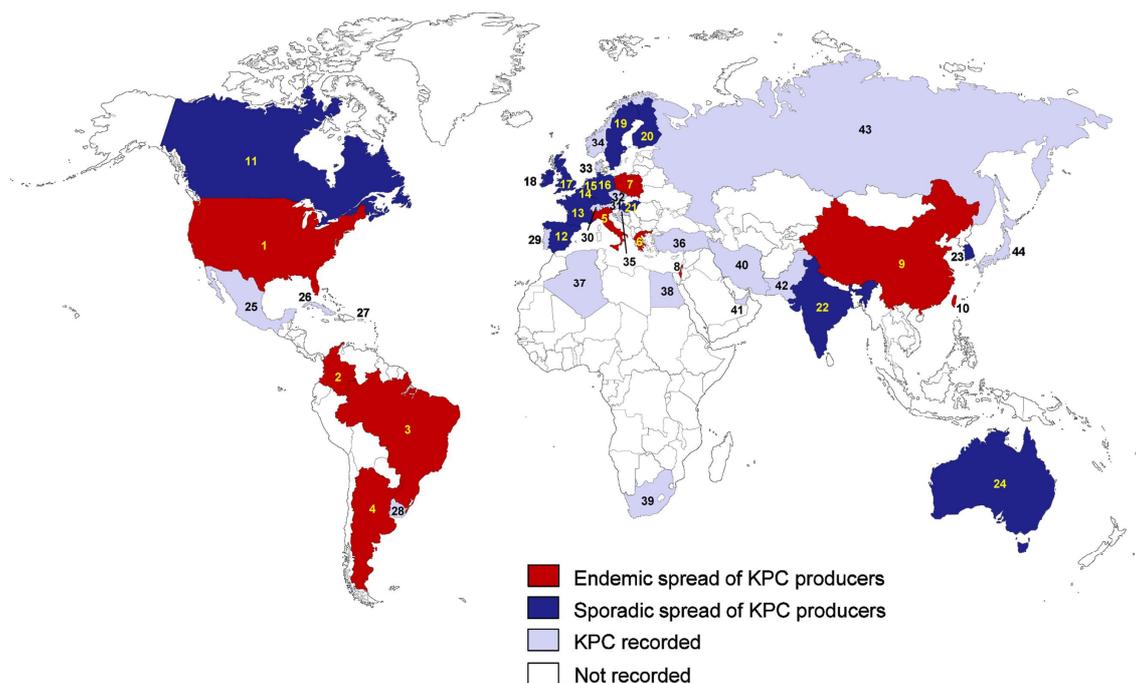


FIGURA 2. Distribuição global da *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase por países. Adaptado de DESOUKI (1), 2016

1.8. Classificação das carbapenemases

A maioria das carbapenemases hidrolisam quase todos os beta-lactâmicos, não apenas carbapenêmicos, mas também as penicilinas cefalosporinas e monobactam e a maioria delas não são afetadas por todos os inibidores de beta-lactamases comercialmente disponíveis e assim são até capazes de superar os inibidores maiores de enzimas como o ácido clavulânico, exceto para a classe A (QUEENAN, BUSH, 2007; DESOUKI (1), 2016). A classificação de Ambler é baseada na sequência de aminoácidos dessas enzimas e existem em três principais classes: A, B e D. As enzimas nas classes A e D são serina beta-lactamases porque de acordo com a classificação de Ambler seu mecanismo hidrolítico requer um sítio ativo de serina na posição 70, enquanto aquelas da classe B são metallo-beta-lactamases (MBL), requerem zinco para hidrolisar seus substratos e são inibidas por agentes quelantes como EDTA (THOMSON, 2010; DESOUKI (1), 2016; NOOR UL, RIAZ, 2016).

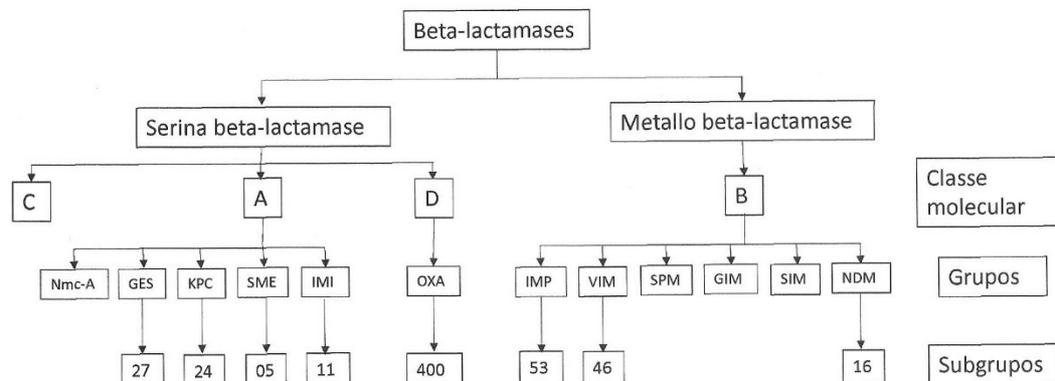


FIGURA 3. Classificação das carbapenemases (beta-lactamases) – AMBLER. Adaptado de NOOR UL, RIAZ, 2016

1.8.1. **Classe A** (serina carbapenemase) incluem *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC), *Serratia marcescens* Enzima (SME), e beta-lactamase hidrolisadoras imipenem (IMI), e estão comumente presentes em enterobactérias e raramente em *Pseudomonas species* e *Acinetobacter baumannii*, que usualmente hidrolisam penicilinas e cefalosporinas mais eficientemente que carbapenêmicos. KPC são usualmente encontradas em *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter species* e *Citrobacter species*. Essas beta-lactamases tem sido detectadas em *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, e *Klebsiella* spp (QUEENAN, BUSH, 2007). Esta classe inclui importantes enzimas tipo KPC, IMI, SME e GES (WALTHER-RASMUSSEN, HOIBY, 2007; NOOR UL, RIAZ, 2016). A SME, IMI e NmcA: esses três grupos de enzimas são na maioria das vezes codificadas por genes cromossômicos e hidrolisam um amplo espectro de substratos, incluindo penicilinas, aztreonam, carbapenêmicos e algumas cefalosporinas (QUEENAN, BUSH, 2007; DESOUKI (1), 2016). A família da enzima *Serratia marcescens* inclui cinco variantes (SME-1 a SME-5), todas são cromossomicamente codificadas (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; MATASEJE, 2014). As enzimas SME são assim denominadas devido à exclusiva associação destas

com *Serratia marcescens* e ainda a *blaSME* é prevalente apenas em subpopulação de *Serratia*. Também acredita-se que a *blaSME* seja um gene cromossômico com uma existência não móvel (WALTHER-RASMUSSEN, HOIBY, 2007). O perfil hidrolítico das SMEs é muito próximo do Nmc-A, contudo eles tem apenas 68% similaridade da sequência de aminoácidos. Até agora, existem poucos dados sobre esta classe de carbapenemase. As beta-lactamases hidrolisadoras de imipenem (IMI) são raras. Elas incluem 11 variantes atribuídas (IMI-1 a IMI-11). Também são descritas as enzimas non-metallo-carbapenemase-A (Nmc-A) (DESOUKI (1), 2016). A subclasse MncA foi previamente relacionada às enzimas tipo ESBL. O *blaNMC-A* é cromossomicamente codificado tendo a produção de enzima ao nível basal com expressão induzida sobre a reação com o beta-lactâmico (NAAS, NORDMANN, 1994; NOOR UL, RIAZ, 2016). As GES e KPC são enzimas codificadas por plasmídios: A família GES agora inclui 27 variantes. Todas as enzimas GES são originalmente consideradas ESBL, mas como resultado de substituições de aminoácidos dentro do sítio ativo, apenas algumas variantes delas possuem atividade carbapenemase; GES-2, GES-4, GES-5, GES-6, GES-11, GES-14 e GES-18. Embora elas sejam muito raras, a GES-4, -5 e -6 foram identificadas em enterobactérias (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; NORDMANN, POIREL, 2014). As enzimas GES são beta-lactamases com fraca propriedade hidrolítica contra drogas carbapenêmicas e ela foi nomeada após sua origem, Guiana extended spectrum (GES-1), seguida por suas variantes GES-1, GES-2, GES-4 e GES-5. O tipo GES-1, devido à sua baixa atividade carbapenemase é frequentemente considerado como ESBL. Este subtipo de carbapenemase classe A tem sido relatado principalmente em *Pseudomonas aeruginosa* (POIREL, 2001; DUBOIS, 2002; CASTANHEIRA, 2004), mas também em enterobactérias (JEONG, 2005; DESHPANDE, 2006). Recentemente as enzimas tipo GES tem também sido achadas em associação com *Acinetobacter baumannii* (BONNIN, ROTIMI, et al, 2012). As enzimas Klebsiella pneumonia carbapenemases (KPC) são atualmente as enzimas mais clinicamente significantes dentre as carbapenemases classe A.

Enterobactérias produtoras de KPC mostram alta resistência a penicilinas e cefalosporinas, mas apenas baixa a moderada resistência a carbapenêmicos. Existem atualmente 24 variantes de KPC (KPC-1 a KPC-24). As duas mais frequentes variantes são KPC-2 e KPC-3 (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; DESOUKI (1), 2016). As enzimas KPC tem sido detectadas primariamente em *K. pneumoniae*, mas também em *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *S. marcescens*, *Enterobacter* spp e *Pseudomonas* spp (CHAVDA, 2016; DESOUKI (1), 2016). As enterobactérias produtoras de KPC usualmente expressam outras beta-lactamases mediadas por plasmídios (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014). As carbapenemases tipo KPC não são limitadas à *Klebsiella* spp, mas tem sido descritos vários casos de KPC ocorrendo em *Pseudomonas* spp. e membros de enterobactérias (VILLEGAS, 2007; BENNETT, 2009; LEE, BURGESS, 2012). Essas KPCs diferem de outras carbapenemases em duas maneiras: elas tem um mecanismo de resistência suportado por plasmídios, e associado com elementos genéticos móveis especializados, os transposons (HIRSCH, TAM, 2010; NOOR UL, RIAZ, 2016). Também diferente das outras, as carbapenemases classe A são inibidas por inibidores de beta-lactamases como ácido clavulânico e tazobactam. Além disso ela é usualmente associada com beta-lactamases ampC e ESBL, fazendo a necessidade de diagnóstico crucial (MUNOZ-PRICE, 2013). Todas as enzimas KPC, exceto a KPC-2 são atribuídas ao gene *blaKPC* que é conferido por plasmídio, enquanto *blaKPC-2* tem sido associado com *Pseudomonas* spp. Os outros genes KPC são de preferência associados com elementos móveis (NOOR UL, RIAZ, 2016).

- 1.8.2. **Classe B** são Metallo-beta-lactamases (MBL) incluindo Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase (VIM), Imipenemase (IMP), German Imipenemase (GIM), New Delhi Metallo-beta-lactamase (NDM), São Paulo Metallo-beta-lactamase (SPM) e Seoul Imipenemase (SIM). Elas são consideradas a principal determinante de resistência nas enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (LOGAN, BONOMO, 2016). O mecanismo de atividade dessas enzimas dependem da

presença de íons zinco, assim as MBLs são inibidas pelo quelante de zinco EDTA. Geralmente, as MBL podem ser divididas em duas categorias pela presença de genes de resistência: MBL cromossômicas e MBL transferíveis (WALSH, 2005). MBL codificados cromossomicamente são aqueles que foram inicialmente isolados de patógenos oportunistas ambientais. Esses MBLs podem ser co-regulados com algumas outras serinas beta-lactamases. Já as MBL transferíveis são disseminadas por todo o mundo pela presença de maquinaria genética especial para fins de transferência (WALSH, 2005). Três subclasses (B1, B2 e B3) foram identificadas baseadas na preferência de substrato e estrutura protéica, das quais B1 é a mais importante clinicamente (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; DESOUKI (1), 2016). Com base da sequência de alinhamento as metallo-beta-lactamases classe B podem ser divididas em três subclasses adicionais: B1, B2 e B3. Essas subclasses são entre si pelo grau de similaridade. A subclasse 1 tem 23% de similaridade, a subclasse 2 tem 11%, enquanto a subclasse 3 tem apenas nove resíduos conservados (BEBRONE, 2007). Outra diferença entre essas subclasses é o achado de que as subclasses B1 e B3 tem dois íons zinco presentes no sítio ativo, enquanto as enzimas da subclasse B2 tem apenas um íon zinco (CORNAGLIA, 2011). Essas enzimas são resistentes a todas as drogas, incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, mas são suscetíveis ao monobactam (aztreonam) e EDTA (NORDMANN, POIREL, 2002; NOOR UL, RIAZ, 2016). A classe é assim denominada devido a conter íons metais Zinco em seu sítio ativo. Esses íons zinco são essenciais para o recrutamento de moléculas de água que são necessárias para o alvo hidrolisante da droga (RAI, MANCHANDA, 2011; NOOR UL, RIAZ, 2016). Elas apresentam-se em enterobactérias e não fermentadores e tem um amplo espectro de atividade contra carbapenêmicos, cefalosporinas de espectro estendido e penicilinas (DAHAB, IBRAHIM, 2017). A Verona integron-encoded metallo-beta-lactamases (VIM): atualmente, 46 variantes tem sido descritas. Esse tipo de enzima tem se tornado uma das mais prevalentes MBLs mediadas por plasmídios no mundo todo. As enzimas VIM são primariamente produzidas por *P. Aeruginosa* seguida por *E. coli*, *K. pneumoniae* e em

uma menor extensão, *E. cloacae* dentro da família Enterobacteriaceae (NORDMANN, DORTET et al, 2012). O gene *blaVIM* é encontrado primariamente nos íntegrans classe I como gene *cassette* (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; DESOUKI (1), 2016). A classe VIM mostra 30% de similaridade com os genes IMP, possuindo o mesmo mecanismo hidrolítico. Como grupos de gene IMP, o *blaVIM* é também associado com genes *cassettes* residindo (*aacA4*) no íntegron classe 1 (NORDMANN, POIREL, 2002). Onze diferentes variantes *blaVIM* foram reportadas até agora em espécies bacterianas de diferentes gêneros incluindo *Klebsiella* (BAHAR, 2004), *Pseudomonas* (POURNARAS, 2003), *Enterobacter* (OTEO, 2010) e *A. baumannii* (JONES, 2004). A New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM): NDM é uma das carbapenemases mais importantes clinicamente. Desde sua detecção, as MBL tipo NDM tem se tornado o mais prevalente gene MBL circulando em todo o mundo (LOGAN, BONOMO, 2016). Ela tem se disseminado rapidamente, primariamente em enterobactérias (particularmente *E. coli* e *K. pneumoniae*) e em uma menor extensão em *Acinetobacter* spp (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; DESOUKI (1), 2016). Dezesesseis diferentes variantes de enzimas NDM foram descritas. As estruturas genéticas identificadas em torno dos genes *blaNDM* nas enterobactérias estão primariamente associadas com a sequência de inserção IS*Saba125* em um lado do gene e o gene *bleMDL* (*bleomycin resistant encoding gene*) na outra extremidade (POIREL, 2011; MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; GAMAL, 2016). A New Delhi metallo-beta-lactamase (YONG, TOLEMAN, 2009) tem grande importância (JOHNSON, WOODFORD, 2013). Até agora diferentes variantes do tipo NDM tem sido reportada incluindo NDM-2, -3, -7. NDM-2 foi descrita em 2011 com diferença de um único aminoácido; a seguir foram descritas variantes de outros tipos (KAASE, 2011). O gene responsável pela disseminação do NDM-1 é *blaNDM-1* e reside em plasmídios de 180Kb em *Klebsiella pneumoniae* e de 140kb em *Escherichia coli*. Os isolados de NDM-1 são resistentes a todos os tipos de drogas exceto colistina. Depois da descoberta, *K. pneumoniae* e *E. coli* produzindo NDM-1 tem sido amplamente relatadas

em todo o globo (JOHNSON, WOODFORD, 2013). A Imipenemase metallo-beta-lactamase (IMP): elas foram identificadas em uma série de bacilos gram-negativos clinicamente importantes, tais como as enterobactérias, *Pseudomonas* e *Acinetobacter*. Atualmente 53 variantes de IMP já foram identificadas (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; NORDMANN, POIREL, 2014; DESOUKI (1), 2016). O tipo IMP de MBL hidrolisa uma ampla variedade de substratos, incluindo todos os beta-lactâmicos de espectro estendido e carbapenêmicos, mas são susceptíveis aos monobactams. Esse tipo de enzima não é inibida pelo ácido clavulânico, tazobactam ou sulbactam, em vez disso ela é uma enzima dependente de zinco binuclear e expõe inibição exclusiva pelo EDTA. Enzimas tipo IMP são divididas em três grandes subgrupos baseado na similaridade de aminoácidos e diferença no perfil de substrato. O *blaIMP-1* tem sido achado em *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* (KUROKAWA,1999; NOOR UL, RIAZ, 2016), *Acinetobacter baumannii* (CORNAGLIA, 1999) e membros de enterobactérias (NOOR UL, RIAZ, 2016).

- 1.8.3. **Classe D** pertencem a família da Oxacilinase (OXA), pois são enzimas hidrolisadoras de oxacilina e estão comumente presentes em espécies de *Acinetobacter* e ocasionalmente em enterobactérias e *Pseudomonas species* (QUEENAN, BUSH, 2007; DAHAB, IBRAHIM, 2017). As oxacilinasas são categorizadas em enzimas de espectro estendido e estreito com base no padrão de resistência delas contra novas drogas beta-lactâmicas (ANTUNES, 2014). As carbapenemases classe D são comumente encontradas em *Acinetobacter* e *Pseudomonas espécies* (WALTHER-RAMUSSEN, HOIBY, 2006; NOOR UL, RIAZ, 2016). O *Acinetobacter* e outros bacilos gram-negativos não fermentadores de lactose contem genes intrínsecos para carbapenemases classe D que são usualmente tipo OXA. Existe uma grande heterogeneidade genética entre diferentes grupos de carbapenemase OXA (POIREL, NAAS et al, 2010). Todas as enzimas desse subgrupo tipo OXA estão presentes em *Acinetobacter* exceto OXA-48 e todas são clinicamente muito importantes (ANTUNES, 2014). Elas

são serina beta-lactamases e são codificadas por plasmídios. A família das enzimas OXA compreendem inúmeras enzimas dentre as quais 37 são carbapenemases e nove são ESBL. As enzimas OXA atuam contra penicilinas, cefalosporinas de primeira e segunda geração e imipenem. Contudo elas não hidrolisam muito facilmente as cefalosporinas de espectro estendido (WALTHER-RAMUSSEN, HOIBY, 2006; NOOR UL, RIAZ, 2016). Algumas das enzimas OXA são beta-lactamases de espectro limitado, outras são ESBL e poucas são carbapenemases. OXA mostra uma fraca atividade carbapenemase que não confere alto nível de resistência aos carbapenêmicos, a menos que elas sejam associadas com outros fatores, como defeitos de permeabilidade (MARTÍNEZ-MARTINEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014; NORDMANN, POIREL, 2014). Atualmente deve existir mais de 400 OXAs descritas (DESOUKI 1), 2016).

1.9. Disseminação das carbapenemases através da transferência horizontal de genes

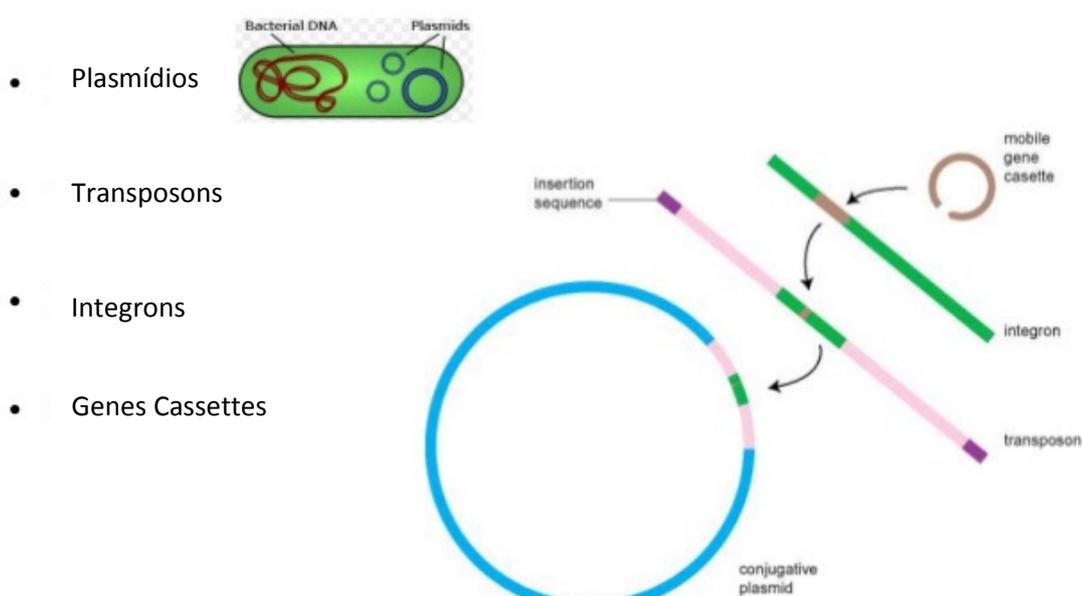


FIGURA 4. Elementos genéticos móveis: Plasmídios, Transposons, Integrons e Gene cassette. Adaptado de HAIDER. ABRAR. 2016

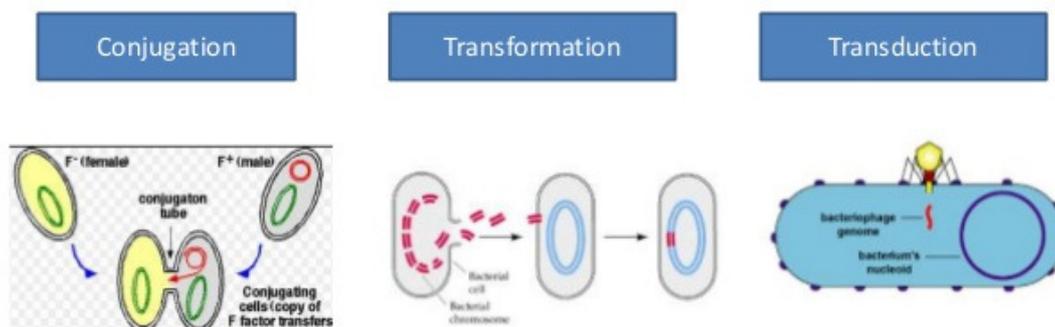


FIGURA 5. Transferência horizontal de determinantes de resistência: conjugação, transformação e transdução. Adaptado de Genética Bacteriana, 2012.

A resistência antimicrobiana adquirida pela bactéria também depende da transferência horizontal de genes, mediada por conjugação, transdução e transformação envolvendo plasmídeos, transposons e outros elementos móveis do DNA (LEVY, MARSHALL, 2004). A transferência de determinantes genéticos de resistência bacteriana dentro do mesmo gênero de bactéria é um fenômeno comum, mas a transferência inter-gêneros de genes é também abundante nas bactérias gram-positivas e gram-negativas (HAIDER, ABRAR, 2016).

Os genes codificadores das carbapenemases são associados com elementos genéticos móveis, particularmente os plasmídios, sequências de inserção e transposons. Esses elementos genéticos móveis servem como carreadores para a transmissão de genes adquirindo resistência através da transferência horizontal de genes. Integrons são a maquinaria genética capaz de integrar e inserir os genes *cassettes* codificando resistência contra múltiplos antimicrobianos. Os genes *cassettes* são os grupos de genes de resistência precedidos por ligação ao sítio do ribossomo com um sítio recombinante, conhecido como elemento 59-base (59-be), presente no gene integrado

(STOKES, HALL, 1989). Os genes *cassettes* para resistência antimicrobiana nos integrons conferem à bactéria resistência ao tratamento por múltiplas classes de antimicrobianos, dificultando o uso dos mesmos como opção de tratamento (HAIDER, ABRAR, 2016).

Os plasmídeos são identificados pelas suas origens de replicação e genes de resistência antibiótica. As células bacterianas podem carrear um número variável de plasmídeos contendo os genes representativos de sua composição genética total. Similarmente os transposons também conhecidos como DNA móveis podem carrear genes de resistência antibiótica e podem carrear o DNA cromossômico e plasmídeo do recipiente celular (ALEKSHUN, LEVY, 2007). Os integrons são outros determinantes genéticos de resistência antimicrobiana que consistem de múltiplos agregados de genes, conhecidos como genes *cassettes*. Conseqüentemente, os integrons tornam-se permanentemente recombinados dentro do DNA genômico alvo (MAZEL, 2006; HAIDER, ABRAR, 2016). Os integrons são o maior sistema de expressão para os genes de resistência antibiótica com regulação positiva na maioria das bactérias receptoras gram-negativas (WHITE, 2001; HAIDER, ABRAR, 2016). Os integrons como elementos genéticos móveis foram classificados em cinco diferentes grupos (GILLINGS, 2014).

As ilhas de resistência genômica são definidas como os sítios ou sequências de DNA que contém os genes de resistência antimicrobiana. Esses sítios contêm genes de resistência adquiridos horizontalmente. As sequências de inserção e transposons são elementos móveis do DNA também conhecidos como elementos transponíveis ou permutáveis. As sequências de inserção variam em tamanho de 0,5kb a 2kb e tem um importante papel na transferência de genes de resistência bacteriana (MAHILLON, CHANDLER, 1998; HAIDER, ABRAR, 2016). As sequências de inserção são responsáveis por transmitir genes de resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii*. Geralmente os transposons variam em tamanho de 3 a 40kb contendo vários genes. Existem dois tipos de transposons conhecidos como composto e complexo transposons (WOODFORD, JOHNSON, 2004). A estrutura molecular dos complexos transposons é diferente de outros elementos transponíveis incluindo sequências de inserção e transposons compostos. Os transposons compostos tem as

sequências de inserção em ambas as extremidades e genes de resistência no meio.

Os carbapenêmicos ligam-se com proteínas de membrana externa (ANDERSON, 2007) de bactérias gram-negativas e entram no espaço periplasmático para inativar as proteínas de ligação das penicilinas (PLP) (HASHIZUME, 1984). As PLPs são enzimas transpeptidases, que realizam função de ligação cruzada de peptídios e síntese de peptidoglicanos levando a formação da parede celular bacteriana (MEROUEH, 2006). As mutações de ponto ou produção de novos tipos de PLP levam à resistência a carbapenêmicos em bactérias gram-positivas (KATAYAMA, 2004). Já nas bactérias gram-negativas, o desenvolvimento desta resistência está na dependência de beta-lactamases, bombas de efluxo, perda de PME ou porinas e mutações em genes codificando as PLPs (NORDMANN, 2011).

Os bacilos gram-negativos pode se tornar resistentes aos carbapenêmicos por vários mecanismos, incluindo: 1. reduzida permeabilidade da membrana externa resultante da perda da porina (tais como perda da porina OprD na *P. aeruginosa*); 2. ativação de bombas de efluxo multi-drogas em resposta à exposição antibiótica; 3. combinação com a produção de beta-lactamases tipo ESBL ou AmpC; 4. produção de enzimas que hidrolisam os carbapenêmicos (carbapenemases) (HOXHA, 2016; DESOUKI (1), 2016). A resistência aos carbapenêmicos nas enterobactérias é primariamente mediada por beta-lactamases. Ambas ESBL e AmpC mostram pobre atividade hidrolítica contra carbapenêmicos, mas quando associadas à perda ou modificação das porinas ou mesmo outro mecanismo de baixo nível de resistência, elas, particularmente a AmpC, podem resultar em resistência aos carbapenêmicos de importância clínica. Por outro lado as carbapenemases podem eficientemente hidrolisar os carbapenêmicos (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, GONZALEZ-LOPEZ, 2014).

Todos os elementos transponíveis causam mutações insercionais, deleções, alterações genômicas e transferem as ilhas de resistência genômica conferindo resistência aos carbapenêmicos (MUSSI, 2005). Além disso, a pressão seletiva dos antimicrobianos no ambiente e situações clínicas particulares tem aumentado muito o número de variantes. A resistência adquirida de genes devido a outras variantes transmite resistência a múltiplas drogas ao

mesmo tempo. As carbapenemases mediadas por plasmídios, são muito versáteis e, associadas com elementos genéticos bacterianos móveis, apresentam um cenário de alto risco de endemicidade na comunidade e disseminação para todo o mundo (HAIDER, ABRAR, 2016).

1.10. Base genética da atividade carbapenemase

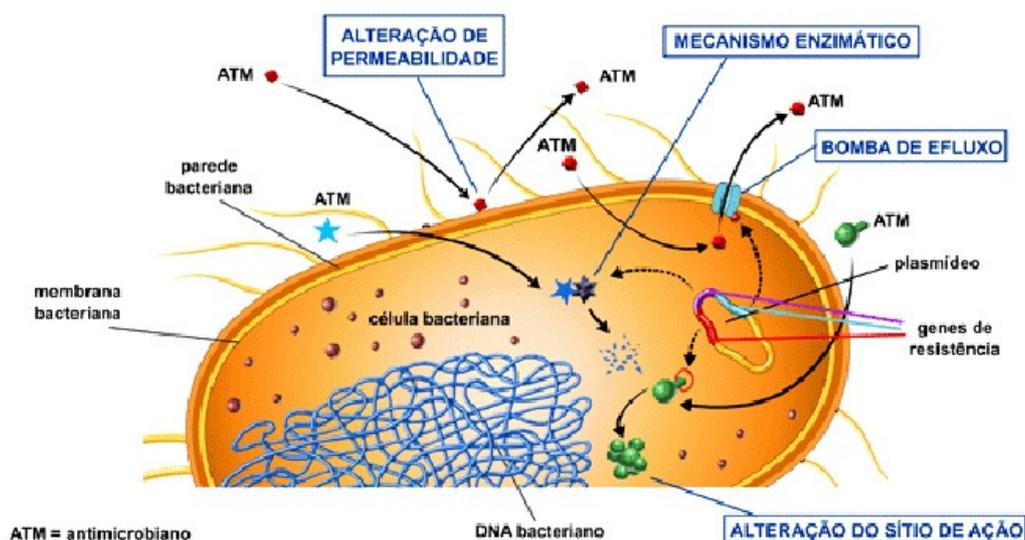


FIGURA 6. Mecanismos de resistência bacteriana. Adaptado de MARTINEZ-MARTINEZ, 1999.

1.10.1. Genética envolvendo a perda das Proteínas de Membrana Externa (PME)

As proteínas da membrana externa, também conhecidas como porinas, induzem a formação de canais na membrana bicamada lipídica na forma de poros através dos quais ocorre o transporte de biomoléculas e substâncias hidrofílicas. As porinas ajudam as células bacterianas a ligar-se com outras células e tem capacidade de ligação também com antibióticos ou compostos antimicrobianos. A expressão das porinas varia de acordo com fatores externos como a exposição à antibióticos (VILA, 2007). As porinas são classificadas em

quatro grupos: a) porinas substrato específicos; b) porinas gerais ou não específicas; c) porinas de efluxo; e d) porinas fechadas (MARTINEZ-MARTÍNEZ, 2008). As porinas são envolvidas no desenvolvimento de resistência da bactéria e variam em sua afinidade por carbapenêmicos (RIERA, 2011). As porinas OprD são envolvidas na ligação de carbapenêmicos dentro da célula bacteriana através do transporte pela formação de poros na membrana bicamada lipídica (FARRA, 2008). Mutações no gene da OprD e sua regulação negativa são responsáveis pela diminuição da expressão e afinidade à ligação com carbapenêmicos (PERRON, 2004).

As porinas facilitam o transporte de moléculas até ou mais que 1500Da e estão envolvidas no transporte de aminoácidos, antibióticos e outras biomoléculas por difusão através da bicamada lipídica dentro das células (TAMBER, HANCOCK, 2006). Existem mais de 19 porinas pertencendo à classe OprD PME que foram identificadas em *P. aeruginosa* e apenas a OprD facilita o transporte de carbapenêmicos através da membrana celular de células bacterianas (HUANG, 1992; HAIDER, ABRAR, 2016).

Existe muito pouca informação sobre as propriedades bioquímicas das proteínas da membrana externa de *A. baumannii* porque apenas umas poucas PMEs foram analisadas (MARTÍ, 2006). A membrana celular externa de *A. baumannii* é menos permeável que outros microorganismos gram-negativos devido a um número pequeno de porinas ou PMEs (OBARA, NAKAE, 1991). As membranas celulares na *E. coli* são mais permeáveis a drogas antimicrobianas que *A. baumannii* devido ao grande número e elevada expressão de PMEs e acredita-se que sua reduzida expressão ou regulação seja associada com o desenvolvimento de resistência bacteriana às drogas, incluindo carbapenêmicos (HAIDER, ABRAR, 2016).

A regulação para baixo e redução das PMEs em número está associada com a resistência antimicrobiana no *A. baumannii* (MUSSI, 2005).

Existem outras proteínas nos organismos gram-negativos, incluindo enterobactérias. A CarO (29KDa) tem alta afinidade de ligação com imipenem, mas a análise por espectrometria revela que na CarO encontrada em *A. baumannii* faltam receptores para ligação com imipenem levando à existência de cepas imipenem-resistentes (SIROY, 2005). As cepas resistentes ao

carbapenêmicos de *Salmonella typhimurium* apresentam a regulação inibitória ou supressão da PME-W (HONG, 2006).

1.10.2. **Expressão genética das bombas de efluxo**

O sistema de fluxo nas bactérias é constituído por múltiplas proteínas agregadas conhecidas como transportadoras de efluxo que realizam a função de transportar as substâncias tóxicas, tais como agentes antimicrobianos, para fora das células. Esses sistema de efluxo são encontrados em células vivas de todos os organismos e sua regulação excitatória com aumento no seu número ocasiona resistência das células bacterianas aos antibióticos incluindo carbapenêmicos e alguns tóxicos ambientais (PAPP-WALLACE, 2011).

A resistência antimicrobiana contra carbapenêmicos foi relatada em *A. baumannii*, *E. coli* e *P. aeruginosa* e está associada à regulação excitatória dos sistemas de efluxo (GIAMARELLOU, 2008; HAIDER, ABRAR, 2016). Existem diferentes superfamílias de porinas de efluxo e sistemas incluindo a superfamília *cassette* ligando ATP (ABC), superfamília dos transportadores metabólicos ou drogas (DMT), superfamília dos facilitadores maiores (MFS), superfamília dos compostos de exclusão tóxicos e multi-drogas (MATE), superfamília da divisão da modulação de resistência (RND) e a pequena superfamília de resistência multi-drogas (SMR) (POOLE, 2002).

A emissão de carbapenêmicos de *P. aeruginosa* é dependente das bombas de efluxo pertencentes à superfamília RND (PAPP-WALLACE, 2011). Esses sistemas de efluxo consistem de porinas da membrana externa, a proteína ligante, a membrana citoplasmática e uma bomba na membrana citoplasmática (SYMMONS, 2009; HAIDER, ABRAR, 2016)

1.10.3. **Supressão genética das Proteínas de Ligação as Penicilinas (PLP)**

Todas as células bacterianas tem um arranjo particular de proteínas ligantes da penicilina (PLP), que são enzimas catalisadoras de reações bioquímicas específicas. As PLP são classificadas como proteínas de alto peso molecular (APM) e baixo peso molecular (BPM). Ambas as classes de PLPs são

adicionalmente subdivididas em APM e BPM subclasses A, B e C. Essas proteínas ou enzimas catalisam as reações bioquímicas da síntese da parede celular bacteriana por realizar a transpeptidação e reação cruzada das cadeias de peptideoglicanos (SAUVAGE, 2008). As drogas beta-lactâmicas incluindo carbapenêmicos, especificamente ligam-se às PLP e inibem o processo de síntese da parede celular por prejudicar o processo de transpeptidação e ligação cruzada de peptideoglicanos (LIAO, HANCOCK, 1997; HAIDER, ABRAR, 2016). A resistência antimicrobiana se desenvolve nas bactérias devido a mutações e expressão reduzida ou regulação negativa de genes codificando as PLPs. As cepas resistentes aos carbapenêmicos de *Bacillus fragilis*, *Enterococcus faecium*, *E. Coli*, *Haemophilus influenza*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus* e *S. pneumoniae* foram descritas com substituições de aminoácidos nos genes codificando as PLPs e novos genes de PLPs (FARRA, 2008; KOGA, 2009).

1.10.4. Produção de enzimas que hidrolisam os carbapenêmicos (carbapenemases)

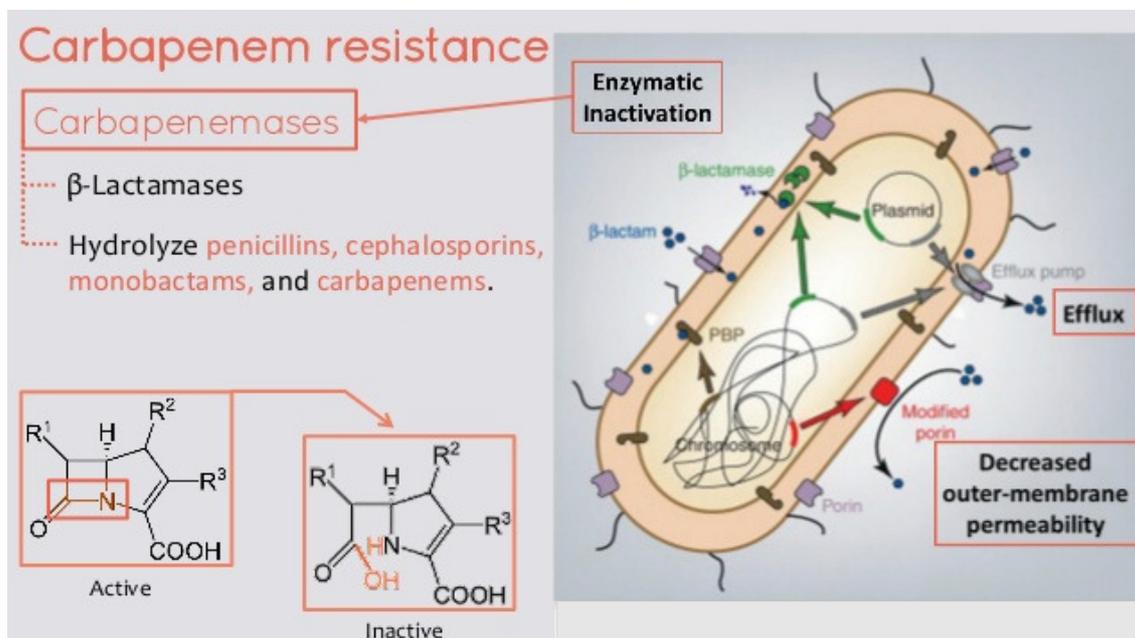


FIGURA 7. Mecanismo de ação das carbapenemases. Adaptado de Trends in Molecular Medicine, 2012

1.11. Interação dos mecanismos de resistência aos carbapenêmicos

A expressão de beta-lactamases nas bactérias resistentes aos carbapenêmicos não é o único fator envolvido na resistência aos mesmos. A resistência antimicrobiana surge em alguns casos, tais como infecções por *E. coli*, devido à expressão combinada de beta-lactamases com a regulação negativa das proteínas de membrana externa (MAINARDI, 1997; HAIDER, ABRAR, 2016). As cepas de *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes ao meropenem e imipenem foram relatadas em populações turcas com a atividade da carbapenemase OXA-48 e supressão das proteínas de membrana externa (GULMEZ, 2008).

A interação entre mecanismos de resistência antimicrobiana é também encontrada em *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos. O sistema de efluxo e beta-lactamase AmpC são regulados positivamente enquanto a atividade das proteínas de membrana externa OprD é suprimida no aztreonam, ertapenem e meropenem nas cepas resistentes de *P. aeruginosa*. Cepas de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem e meropenem tem a atividade OpmD diminuída (QUALE, 2006).

A associação entre a produção de carbapenemases, expressão de porinas e proteínas de ligação à penicilina (PLP) está envolvida na resistência aos carbapenêmicos no *A. baumannii*, contra imipenem e meropenem (HAIDER, ABRAR, 2016)

1.12. Diagnóstico laboratorial da produção de carbapenemases

O pronto e eficiente diagnóstico de vítimas infectadas ou portadores colonizados deve ser considerado como um passo mandatório para programas de controle de infecção na tentativa de prevenir a disseminação desses grupos bacterianos com multi-droga resistentes (BARTOLINI, 2014).

Detecção da EPC: o principal passo na limitação da disseminação da EPC é uma acurada e rápida detecção dos produtores de carbapenemases. Este é um passo inicial necessário para o manuseio apropriado de pacientes durante a prevenção de infecção e tentativas de controle. A detecção de carbapenemases nas enterobactérias consiste em uma abordagem em dois passos: um processo

de *screening* usando os carbapenêmicos e meios selecionados em casos de portadores colonizados seguido por um teste confirmatório para detectar a presença de carbapenemase em cepas que testam não suscetíveis aos carbapenêmicos (DORTET, 2014, MATSUMURA, 2016).

O *Screening* para pacientes colonizados: As amostras recomendadas para o *screening* de EPC em pacientes colonizados são os *swabs* fecal e retal. Todos os pacientes em risco devem submeter-se ao *screening*. O *screening* para os não suscetíveis (NS) ao indicador carbapenem: as enterobactérias isoladas mostram que até uma pequena redução na suscetibilidade aos carbapenêmicos deve ser examinada adicionalmente para a produção de carbapenemases. O ponto de corte do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para os carbapenêmicos foi revisado em 2010 (DESOUKI, 2016 (2)).

As enzimas carbapenemases podem ser detectadas usando diferentes métodos, que incluem: Teste sinergia imipenem (EDTA); Teste do ácido borônico; Teste Hodge Modificado (MHT); Teste disco combinação meropenem; Teste carbonil cianido m-clorofenil hidrazona (CCCP); detecção pelo uso de meios cromogênicos comercialmente disponíveis tais como ágar Brilliance CRE, CHRO-Magar KPC (CHROMagar; BBL) e "SUPERCARBA"; Teste carbapenemase Nordmann-Poirel (Carba NP); Teste BOGAERTS - YUNES - GLUPCYNSKI (BYG-CARBA); Tecnologia MALDI TOF MS; Teste Acelerado de Diagnóstico, Inc; Reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa tempo real (rt RT-PCR); Sequenciamento de próxima geração (NGS).

1.12.1. **Testes fenotípicos:** em países em desenvolvimento, a abordagem de detecção fenotípica ou técnicas fenotípicas, são usadas como uma prática laboratorial diária para a identificação de resistência antibiótica especialmente em agentes isolados de infecções nosocomiais. São os métodos mais comumente usados para estudar a atividade *in vitro* de enzimas carbapenemases. Os principais testes fenotípicos convencionais são:

- a) Teste sinergia imipenem (EDTA): acid Ethylene Di amine Tetra acetic acid (EDTA) é um ácido carboxílico com múltiplos aminoácidos que tem habilidade para ligar com zinco ou outros íons metais e como resultado inativar as beta-lactamases. Portanto essa técnica fenotípica é feita para

- isolar as cepas patogênicas resistentes aos carbapenêmicos (LEE, 2003).
- b) Teste do ácido borônico: esse teste utiliza o efeito inibitório do ácido borônico ou seus derivados tais como o ácido 3-aminofenilborônico (APBA) e ácido fenilborônico (PBA) para a detecção da produção de KPC. Este teste fenotípico é recomendado para a detecção de KPC porque ele é de fácil execução e interpretação (HUSSAIN, RIAZ, 2016).
- c) Teste Hodge Modificado (MHT): este teste modificado foi usado para estudar a produção de carbapenemase em *Acinetobacter* e espécies de *Pseudomonas*. A substituição de *Staphylococcus aureus* sensíveis à penicilina com cepas de *E. coli* (ATCC 25922) e uso de disco 10-U de penicilina com disco 10-Ig de imipenem foi a maior modificação no teste prévio de Hodge. Além disso a adição de metais tais como o sulfato de zinco (ZnSO₄) ao disco de imipenem ou dentro MH Agar melhorou a sensibilidade do teste de Hodge modificado e foi reportada por Lee et al (HUSSAIN, RIAZ, 2016). A maior desvantagem associada com o ensaio MHT é o tempo prolongado, um tempo de 24 a 48 horas é necessário para o aparecimento do primeiro resultado logo após o isolamento da cepa suspeita de produção de carbapenemase e outra desvantagem é a incapacidade de diferenciar entre diferentes grupos de carbapenemases (MBL ou KPC). Além disso, o questionamento sobre a complicação na interpretação desse teste fornece comparativamente taxas mais altas de resultados falsos-positivos e falso-negativos em alguns isolados clínicos, portanto, o CLSI recomendou o MHT como ferramenta confirmatória para os supostos produtores de carbapenemases (HUSSAIN, RIAZ, 2016).
- d) Teste disco combinação meropenem: Nesse teste EDTA e ácido borônico, em uma combinação são aplicados em uma placa de cultura única (MELETIS, 2010). Esse teste tem a capacidade de discriminar diferentes isolados bacterianos associados com carbapenemases tais como os produtores de KPC, produtores de dupla carbapenemase, produtores de MBL e bactérias sensíveis aos carbapenêmicos (PAPAGIANNITSIS, 2010).
- e) Teste carbonil cianido m-clorofenil hidrazona (CCCP): o inibidor da bomba de efluxo (carbonil cianido m-clorofenil hidrazona) é usado para

determinar resistência a carbapenêmicos em diferentes isolados clínicos. Esse inibidor é adicionado ao MH-ágar ao passo do meio da preparação. O maior princípio deste teste é detectar a superexpressão de bombas de efluxo que contribui para o desenvolvimento de resistência ao carbapenêmico (POURNARAS, 2005).

- f) Detecção pelo uso de meios cromogênicos: nesse teste fenotípico dois meios seletivos comercialmente disponíveis tais como ágar Brilliance CRE e CHRO-Magar KPC (CHROMagar; BBL) são usados para reconhecimento de diferentes tipos de patógenos bacterianos produtores de carbapenemase. A coloração das colônias bacterianas são usadas para a diferenciação das espécies bacterianas (HUSSAIN, RIAZ, 2016). Recentemente, um novo meio de *screening*, superior a todos os outros meios cromogênicos disponíveis foi desenvolvido. O meio conseguiu detectar todas as variantes de EPC, incluindo os produtores de OXA-48 (NORDMANN, 2012). Este meio “SUPERCARBA” é baseado na suplementação no ágar Drigalski com ertapenem, sulfato de zinco e cloxacilina (HRABAK, 2014).
- g) Teste carbapenemase Nordmann-Poirel (Carba NP): Dentre as diferentes técnicas de detecção fenotípica, Carba NP é a mais rápida, sendo o teste fenotípico comumente usado para a detecção de resistência ao carbapenêmico. Esse teste pode perfeitamente isolar bactéria produtora de carbapenemase de cepa carbapenemase resistente devido à presença de mecanismos mediados não carbapenemase de resistência. Esses mecanismos envolvem os mecanismos de resistência combinados (defeitos na permeabilidade da membrana celular externa que contribui para a superprodução de beta-lactamases de espectro estendido ou cefalosporinase) ou de cepas suscetíveis aos carbapenêmicos mas produzindo um amplo espectro de beta-lactamases sem atividade de carbapenemase (ESBL), plasmídios e cefalosporinases codificadas por cromossomos (HUSSAIN, RIAZ, 2016). Carba NP é baseado no fenômeno de mudança do pH, usando vermelho-fenol como um indicador que aparece pela presença concomitante da hidrólise de imipenem. Isso produz resultados em menos de 120 minutos. Os resultados são possíveis de serem interpretados na duração de tempo inferior a duas horas, o que

ajuda na implementação de medidas de contenção precoce. O método Carba NP tem numerosos benefícios. Ele é econômico, rápido, reprodutível e tem alta sensibilidade e especificidade. Ele exclui a necessidade de realização de outras práticas para o reconhecimento de cepas produtoras de carbapenemases mais demoradas e com menor sensibilidade e especificidade. A implementação do pode melhorar a metodologia de detecção de carbapenemase em pacientes colonizados e infectados. (HUSSAIN, RIAZ, 2016).

- h) Teste BOGAERTS - YUNES - GLUPCYNSKI (BYG-CARBA): esse teste trabalha num princípio similar ao do teste Carba NP, mas para a hidrólise de imipenem ele usa uma técnica eletroquímica. BYG Carba é teste eletroquímico usado para a pronta identificação de bactérias resistentes aos carbapenêmicos. Através dessa técnica é medida a variação na condutividade de polianilina verificada por um eletrodo em camadas com um polímero eletrossensível. Esse eletrodo é sensível a alterações no pH e de reações redox acontecendo na hidrólise enzimática do imipenem (BOGAERTS, 2016).
- i) Tecnologia MALDI TOF MS: é usada em vários laboratórios clínicos para a detecção de bactérias resistente aos carbapenêmicos pela detecção da atividade das carbapenemases. Essa ferramenta faz detecção quantitativa de carbapenêmico e seus produtos de degradação no organismo incubado em questão, e demora de quatro a seis horas. Isso ocorre pela hidrólise de carbapenêmico, um anel beta-lactâmico que leva a um aumento nos valores que podem ser detectados da quantidade de carbapenêmico inato no MALDI TOF MS (BANERJEE, HUMPHRIES, 2016). Os prolongados períodos de incubação são associados com prognósticos falso-negativos provavelmente devido a decomposição de produtos de degradação, que não são detectados no teste. E para a carbapenemase com fraca atividade hidrolítica do carbapenêmico, tais como OXA-48, incubação prolongada (> 24 horas) pode ser mandatária para que uma alteração significativa no espectro carbapenêmico seja percebida (MIRANDE, 2015). A detecção de carbapenemase pelo MALDI-TOF MS não é uma escolha sustentável na maior parte das situações clínicas. Apesar do fato que, comercialmente no momento não existem

testes fenotípicos ou espécimes diretos disponíveis, alguns estão em desenvolvimento (VAN BELKUM, DUNNE, 2013).

- j) Métodos acelerados: A testagem fenotípica direta é feita para avaliar a susceptibilidade da bactéria nos meios de cultura positivos. O Teste Acelerado de Diagnóstico, Inc. é utilizado em ensaios clínicos. Nesse método a microscopia digital de bactérias isoladas vivas encontradas em meios de cultura sanguínea são usados para identificação bacteriana por sondas de hibridização *in-situ* fluorescentes e da dose de susceptibilidade (pela observação do crescimento da bactéria ou inibição na existência de antimicrobianos). Essas técnicas poderiam permitir rápida detecção de ambos, enterobactérias resistentes e não-resistentes aos carbapenêmicos, logo depois de seis horas de sinalização de cultura sanguínea positiva (BANERJEE, HUMPHRIES, 2016).

1.12.2. **Testes moleculares:** são usados na detecção do gene da carbapenemase para estudar o mecanismo de resistência. O tempo de resposta curto, o diagnóstico específico e acurado de genes carbapenemases, e a habilidade para detectar a resistência diretamente de isolados clínicos sem a necessidade da cultura fazem do teste molecular a melhor ferramenta quando comparado aos convencionais ou métodos de detecção fenotípica (HUSSAIN, RIAZ, 2016). Para a detecção genética de ERC, as técnicas baseadas na hibridização ou amplificação do ácido nucléico são usadas para a detecção de genes responsáveis por conferir resistência. Por essa razão, a familiaridade de *primers* definidos (nucleotídios amplificados) e sondas (oligonucleotídios de dupla fita) é obrigatória na demanda para identificar o alvo genético de interesse. A natureza da resistência é um fator potencial nessa técnica. A PCR, uma técnica molecular básica e simples, é realizada localizando o gene associado com a resistência e sua expressão. Os genes que codificam enzimas inativadoras de antibióticos são um dos exemplos de PCR (DIENE, ROLAIN, 2013).

- a) Reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa tempo real (rt RT-PCR): é aplicada naqueles casos onde a resistência está diretamente associada com o nível de expressão de genes (regulação positiva ou

negativa). Esta técnica não apenas detecta a presença de genes, mas também a expressão do RNAm dos genes. Os resultados finais são associados com o nível de expressão de cepas de controle do mesmo gene. Com essa técnica, a expressão de bombas de efluxo específicas e porinas podem melhor estudadas. Nos últimos anos, o sequenciamento de produtos de PCR está permitindo sua comparação com as sequências de genes previamente reconhecidas que são acessíveis em um banco de dados genético (FOURNIER, 2007).

- b) Next Generation Sequencing (NGS): é uma nova tecnologia que pode rapidamente ler grandes quantidades de sequências de DNA. Após o lançamento dos primeiros instrumentos NGS em 2005, essa tecnologia tem continuamente evoluído para tornar-se mais acurada, rápida, fácil e mais custo-efetiva. Recentes sistemas NGS podem determinar a sequência de mais de 100 genomas bacterianos completos durante uma única leitura. Os sistemas NGS oferecem dados suficientes para a avaliação de genes-alvo e o grau de semelhança genética entre os cepas. As vantagens do NGS para a detecção de genes de resistência incluem as seguintes: 1. Genes alvos pré definidos não são requeridos e novos elementos podem ser descobertos; 2. NGS provê uma compreensão das características do gene incluindo genes de resistência antimicrobiana, parentesco clonal, tipos de replicação por plasmídeos, genes de virulência e elementos genéticos móveis. O NGS está se tornando custo-efetivo e consumindo menos tempo que as técnicas de sequenciamento padrão. A maior desvantagem desse sequenciamento do genoma inteiro está na análise de dados. Bioinformática e ambientes de computadores de alta performance são necessários para processar e analisar uma grande quantidade tão grande de dados. *Softwares* fáceis de usar e sistemas públicos de dados na *web* já estão disponíveis. Assim, a disponibilidade de sistemas NGS custo-efetivos com o uso de bioinformática mais rápida e favorável tem o potencial para substituir outros métodos moleculares no futuro próximo para a identificação de genes carbapenemases (DESOUKI, 2016 (2)).

1.13. Limitações

O desenvolvimento de ferramentas diagnósticas rápidas para as carbapenemases tem potencial para elevar a vigilância bacteriana, detecção e terapia de tratamento para enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, que são uma crescente ameaça à saúde comunitária, com escolhas terapêuticas restritas e alta mortalidade (HUSSAIN, RIAZ, 2016).

Numerosos prós e contras foram associados no uso de qualquer método de detecção fenotípica ou molecular para investigação do mecanismo de confrontação em bactérias gram-negativas. Os métodos fenotípicos demandam cultura bacteriana pura de um espécime clínico, portanto necessitam de 24 a 48 horas para obtenção do resultado final e a detecção de baixo nível de resistência é uma dificuldade, o que pode ocasionar problemas durante a interpretação dos resultados. Por outro lado, as técnicas moleculares ou genéticas podem ser feitas diretamente de amostras clínicas que reduzem o tempo de procedimento de modo significativo (HUSSAIN, RIAZ, 2016) e nos casos de detecção de baixo nível de resistência os métodos moleculares baseados no ácido nucléico são uma escolha para a definição das chances de qualquer contribuição de mecanismos de resistência já aceitos. Além disso as tecnologias de detecção genética fornecem uma solução definitiva para a questão da ocorrência de qualquer fator contribuindo para resistência específica em uma cepa sob investigação, já com os testes fenotípicos não é possível conseguir isso, mas apenas a estatística básica sobre os mecanismos de resistência envolvidos (HUSSAIN, RIAZ, 2016). Ensaio moleculares contudo também mostram algumas limitações: 1. Existe possibilidade de *screening* de alguns mecanismos de resistência conhecidos exclusivamente com um gene em um tempo de abordagem (exceto utilização de ensaios de PCR múltiplos) e 2. Estes métodos são muito caros e o custo de seus *screenings* aumenta com o aumento da quantidade de determinantes de resistência (HUANG, 2012).

Contudo, nenhuma plataforma molecular existe ainda para detectar todos os possíveis genes que conferem resistência aos carbapenêmicos. Estudos futuros são necessários para o uso de novos testes metodológicos para a rápida determinação de resistência aos carbapenêmicos em cepas bacterianas disseminadas pelo mundo, por meio de abordagens com ácido nucléico ou não

nucléico (HUSSAIN, RIAZ, 2016). A definição clínica e custo-efetiva do pronto diagnóstico para a identificação de resistência aos carbapenêmicos irá provavelmente depender da prevalência nativa de ERC e das áreas envolvidas. O desenvolvimento de estudos em doenças infecciosas e a prática mútua e equilibrada dos métodos diagnósticos acessíveis parecem ser a resposta ideal para a detecção de resistência em isolados clínicos no laboratório de microbiologia de um modo custo-efetivo (BONNIN, NAAS, 2012).

1.14. Cenário atual da terapia carbapenêmica

As beta-lactamases produzidas por bactérias gram-negativas são específicas contra quase todos os tipos de drogas beta-lactâmicas incluindo carbapenêmicos e cefalosporinas. Para o tratamento de infecções multi-drogas resistentes pode ser necessária a administração de drogas de último recurso como colistina, fosfomicina, gentamicina e tigeciclina (MIYAKIS, 2011). O tratamento de pacientes torna-se problemático quando o tratamento com colistina e fosfomicina causa nefrotoxicidade (MORRILL, 2015a). A tigeciclina foi aprovada com primeira linha de defesa contra bactérias resistentes aos carbapenêmicos mas devido à sua rápida difusão de veias leva a um inefetivo controle do problema de infecção (KANJ, KANAFANI, 2011).

Existem alternativas para essas drogas, que incluem administração oral de co-amoxiclav e pivmecillinam para o tratamento de infecções ESBL positivas, mas os resultados não tem sido promissores (FALAGAS, 2010). Recomenda-se que pacientes submetidos à terapia com colistina usem gentamicina por causa de estudos mostrando altos níveis de resistência à colistina (KANJ, KANAFANI, 2011). A combinação de terapia envolvendo o uso de outra droga antimicrobiana com carbapenêmicos pode ser uma opção de tratamento promissora. Existem vários novos agentes antimicrobianos em estudo através de ensaios clínicos, incluindo ervaciclina e alkylidenepenam sulfonas, que afetam a atividade de carbapenemases (BRUNKHORST, 2012).

1.15. Prevenção da resistência aos carbapenêmicos

É necessário que a transmissão de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) seja completamente prevenida porque poucos antibióticos e drogas antimicrobianas são disponíveis para tratar esse tipo de infecção (LOWE, 2012). A prevenção pode ser realizada através do uso de antibióticos sob prescrição médica com a dose apropriada e o tempo completo do curso de tratamento (MELETIS, 2016). A disseminação de ERC também pode ocorrer pelo uso de dispositivos operacionais usados para cirurgia e cateterização, portanto as técnicas assépticas adequadas devem ser utilizadas em todos os procedimentos (SIEGEL, RHINEHART, 2007). Os procedimentos associados a testes laboratoriais devem ser regularmente monitorados pela avaliação baseada na higiene das mãos, segurança pessoal e manuseio dos resíduos (CIOBOTARO, 2011). O relato de novos casos de infecções bacterianas resistentes aos carbapenêmicos devem ser avaliados por sistemas automatizados e informatizados de modo que as taxas de prevalência sejam prontamente avaliadas. O seguimento dos casos de pacientes previamente infectados não deve ser misturado com novos casos durante as epidemias (CARLING, 2010). O diagnóstico apropriado é recomendado para minimizar o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em patógenos pelo oportuno tratamento usando antibióticos efetivos (ANDERSON, 2007).

Para alcançar reduções sustentáveis nas infecções associadas aos cuidados de saúde nas UTIs, o suporte, comprometimento e engajamento de todos os trabalhadores nos cuidados de saúde, tanto clínicos como não clínicos, são essenciais (DEPARTMENT OF HEALTH, 2006). O pensamento que nenhuma ação única por si só irá garantir resultados efetivos e a aderência às práticas de prevenção e controle de infecção são as melhores alternativas para reduzir as infecções associadas aos cuidados de saúde (DEPARTMENT OF HEALTH, 2006). Medidas universalmente padronizadas incluem a formação de grupos de *experts* para discutir segurança do paciente e prevenção e controle de infecção e formulação de estratégias baseadas em risco com intuito de efetiva redução das infecções, incluindo higiene das mãos, uso de equipamentos de proteção pessoal, isolamento do paciente, cuidados de equipamentos e limpeza dos ambientes e políticas de vigilância relacionadas aos dispositivos invasivos e

antimicrobianos (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2010; CDC, 2016).

2. JUSTIFICATIVA:

A epidemia de bactérias multirresistentes tem sido foco de preocupação e considerada um desafio no Brasil e no mundo, e o principal alvo da discussão é o quanto não apenas a infecção, mas também a colonização dos pacientes hospitalizados, estão associadas a uma maior gravidade e pior prognóstico do quadro clínico dos pacientes críticos.

As infecções hospitalares são a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes internados. A UTI é responsável por quase 50% das infecções hospitalares. A epidemia de bactérias multirresistentes constitui um foco de preocupação e um desafio no Brasil e no mundo causando aumento tempo de hospitalização e custos. Alguns estudos associam a colonização por KPC como um fator de aumento de morbimortalidade em pacientes internados. Portanto, a identificação do perfil epidemiológico e clínico desses pacientes, com ênfase nos fatores de risco e a determinação do quanto não somente a infecção, mas também a colonização estará associada a uma maior gravidade e pior prognóstico de pacientes críticos, possibilitará a implementação de medidas de prevenção mais específicas.

A crescente preocupação com resistência multidroga é uma constante em todo o mundo, principalmente pela observação que a descoberta de novos antimicrobianos se faz de forma mais lenta que o surgimento de bactérias multidroga resistentes, fatores esses que conferem ao tema uma importante relevância em saúde pública pela elevada incidência e letalidade, principalmente em locais como o Hospital de Urgência de Teresina, onde o uso pouco racional e indiscriminado de antimicrobianos, constitui um terreno favorável a esse cenário.

3. OBJETIVOS:

3.1. GERAL:

- a. Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes clínicos colonizados por KPC em um centro de referência;

3.2. ESPECÍFICOS:

- a. Calcular a incidência da colonização e infecção por KPC entre os pacientes do estudo;
- b. Identificar as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes colonizados e infectados por KPC;
- c. Avaliar fatores associados ao óbito intra-hospitalar de pacientes colonizados por KPC;
- d. Analisar fatores associados a infecção por KPC nos pacientes colonizados;
- e. Descrever a letalidade geral entre os pacientes infectados e colonizados por KPC.

4. MATERIAL E MÉTODOS:

4.1. Tipo de estudo:

Observacional transversal descritivo.

4.2. Local

A pesquisa foi realizada nas quatro UTIs do Hospital de Urgência de Teresina (HUT), centro terciário e referência para Trauma do Município de Teresina, hospital de residências médicas, como cirurgia geral, anestesiologia, medicina intensiva e nefrologia, dentre outras especialidades.

Teresina é a capital e o município mais populoso do estado brasileiro do Piauí. Localiza-se a 343 km do litoral e possui uma população estimada em 861 442 habitantes, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2018. Está conurbada com a cidade maranhense de Timon, formando, assim, a Região Integrada de Desenvolvimento da Grande Teresina, que aglomera cerca de 1.194.911 habitantes, sendo a segunda RIDE mais populosa de todo o Brasil, atrás apenas de Brasília. Teresina é a 21ª maior cidade do Brasil e a 17ª maior capital de estado, sendo a 7ª capital mais populosa e a 7ª capital mais rica do Nordeste. Historicamente, Teresina desenvolveu-se por meio do Rio Parnaíba, através da navegação fluvial. É um município em fase de crescimento galopante e, atualmente, possui uma área de 1.673 km². É uma das mais prósperas cidades brasileiras, destacando-se atualmente no setor de prestação de serviços, comércio intenso, rede de ensino avançada, eventos culturais e esportivos, congressos, indústria têxtil, com uma justiça trabalhista célere, e um grande complexo e moderno centro médico que atrai pacientes de vários estados. Teresina é a terceira capital com melhor qualidade de vida do Norte-Nordeste segundo o Índice FIRJAN de Desenvolvimento Municipal.

O Estado do Piauí é uma das 27 unidades federativas do Brasil. Localiza-se no noroeste da Região Nordeste. Limita-se com cinco estados: Ceará e Pernambuco a leste, Bahia a sul e sudeste, Tocantins a

sudoeste e Maranhão a oeste. Delimitado pelo Oceano Atlântico ao norte, o Piauí tem o menor litoral do Brasil, com 66 km. Sua área é de 251 577,738 km² e tem uma população de 3 264 531 habitantes. A capital e cidade mais populosa do estado é Teresina. Está dividido em 4 mesorregiões e 15 microrregiões, divididos em 224 municípios. Os municípios com população superior a oitenta mil habitantes são Teresina, Parnaíba e Picos. Tem um relevo moderado e a regularidade da topografia é superior a 53% inferiores aos 300m. Parnaíba, Poti, Canindé, Piauí e São Nicolau são os rios mais importantes e todos eles pertencem à bacia do rio Parnaíba. Possui clima tropical e semiárido.

Nas UTIs existe a presença do plantonista distribuídos por escalas, que discutem todos os casos com um diarista nos turnos da manhã e tarde. O total de leitos de UTI corresponde a 32 leitos com taxa de ocupação de 100%. O Hospital de Urgência de Teresina, por apresentar o único serviço de urgência e emergência pública do Município de Teresina e Estado do Piauí, atende não somente os casos de trauma, mas também outras patologias (por exemplo, acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio, colecistite aguda, pancreatite aguda, etc), e em virtude do centro médico complexo e moderno, possui como público alvo além dos pacientes da Grande Teresina e interior do Estado do Piauí, atende também um grande número de pacientes provenientes de estados circunvizinhos, como Maranhão, Pará e Tocantins.

4.3. População:

Todos os pacientes admitidos nas UTIs do Hospital de Urgência de Teresina no período de maio de 2018 a agosto de 2018.

4.3.1. Critérios de inclusão:

Pacientes colonizados por KPC, com idade mínima de 18 anos completos, internados na UTI do Hospital de Urgência de Teresina no período de maio a agosto de 2018.

4.3.2. Critérios de exclusão:

Pacientes cujos responsáveis direto que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

4.4. Coleta de dados:

Existem sítios corporais onde os patógenos potenciais são carregados, como o trato digestivo e as lesões de pele. Geralmente, o conjunto de amostras de vigilância consistem de *swabs* retal e/ou de orofaringe à admissão do paciente na UTI e semanalmente após a admissão. Elas não são úteis para o diagnóstico de infecções dos órgãos internos, quando amostras diagnósticas são requeridas com esse objetivo, mas são ferramentas importantes para o diagnóstico da colonização por microrganismos potencialmente patogênicos o que é muito comum em pacientes criticamente doentes.

Conforme protocolo assistencial interno da CCIH do HUT, os pacientes admitidos em unidades de elevado risco para colonização por bactéria produtora de KPC como a unidade de tratamento intensivo (UTI), incluindo também os pacientes nela admitidos vindos de outras instituições e aqueles que tiveram contactantes com amostra clínica ou rastreio positivo, foram submetidos à coleta por *swab* retal na admissão na unidade para avaliação de colonização por bactéria produtora de KPC. Os *swabs* retais foram coletados por um enfermeiro treinado. Todos os contatos permanecerem em isolamento até o resultado do *swab*.

A coleta periódica foi realizada na admissão e semanalmente. Conforme protocolo assistencial, todos os exames microbiológicos que detectam uma enterobactéria resistente a carbapenêmicos geram uma notificação nos prontuários, sugerindo precauções de contato e isolamento do paciente conforme o microorganismo identificado. Um laboratório externo analisou todas as amostras de enterobactérias com resistência a qualquer um dos carbapenêmicos identificadas por antibiograma. Esses dados são utilizados pela CCIH para monitoramento do número de pacientes colonizados e instituição de

medidas de isolamento, assim como acompanhamento clínico com vista à consultoria em relação à terapêutica.

Os pacientes foram selecionados a partir do resultado positivo para um *swab* com Enterobactérias produtoras de KPC com demonstração de colonização pela mesma, conforme rotina preconizada da coleta de amostras de vigilância pelo protocolo previamente elaborado pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH). Foram considerados colonizados os pacientes assintomáticos portadores de bactérias produtoras de KPC identificadas pelo exame de *swab* retal positivo durante o período de internação, porém sem sinais clínicos de infecção ou resposta inflamatória do hospedeiro. Para a classificação como paciente infectado foi necessário um diagnóstico clínico microbiologicamente confirmado de inflamação local e/ ou generalizada, onde isso incluía além dos sinais clínicos, a presença de leucócitos, $> 10^5$ UFC/ml de patógenos em amostras diagnósticas obtidas de um órgão interno, ou o isolamento de microrganismo do sangue, líquido cefalorraquidiano ou líquido pleural. Foram selecionados para o estudo todos os pacientes internados em UTI e com colonização por KPC confirmada.

Foi realizada análise do prontuário e coletadas informações complementares sobre esses pacientes durante o período de internação, com o preenchimento de ficha específica elaborada pelo pesquisador (Apêndice B), tais como: 1. Sociodemográficas: sexo e idade; 2. Clínicas: diagnóstico à admissão; comorbidades; desfechos clínicos relevantes durante internação, escore APACHE II e 3. Epidemiológicas: tempo de uso de dispositivos invasivos (cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/ nasoentérica, ventilação mecânica), necessidade de terapia de substituição renal, nutrição parenteral total, cirurgia, uso de antibioticoterapia prévia (por pelo menos 48 horas), infecções hospitalares por outras bactérias que acometeram os pacientes após a colonização por produtores de KPC com o agente etiológico isolado; tempo de internação, tempo de positividade do *swab* (tempo do início da internação na UTI até a positividade do *swab* retal para KPC) e mortalidade;

4.5. **Riscos:**

O procedimento invasivo consiste na realização de um swab retal (introdução de um “cotonete”), superficialmente, para avaliação do crescimento dessa bactéria, com risco adicional mínimo para o paciente. A coleta do swab, via retal, pode ocasionar constrangimentos ao paciente, além da importância do sigilo que deverá ser mantido. O risco de constrangimento pode ser minimizado pela tentativa de maior privacidade do leito durante a coleta com o isolamento físico. O risco maior reside na não detecção da KPC, o que pode ocorrer com frequência, causando eventual tratamento inadequado, com consequente aumento das chances de morte do paciente.

4.6. **Benefícios:**

Estabelecer o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes colonizados com a consequente identificação de fatores de risco associados à infecção por KPC e mortalidade, permitirá o desenvolvimento de estratégias para melhorar assistência dos pacientes, proporcionando tratamento precoce e adequado com aumento das probabilidades de sobrevivência.

4.7. **Questões éticas:**

Esta pesquisa foi realizada de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Getúlio Vargas (HGV), através da Plataforma Brasil, sob CAAE 84163418.2.0000.5613 e aprovada com parecer nº 2.652.680. Todos os envolvidos foram minuciosamente esclarecidos sobre a pesquisa e só participaram os que concordaram (ou familiares por eles responsáveis) e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Apêndice B), informando os objetivos e questões inerentes ao estudo, de forma que o participante tem todos os seus direitos resguardados.

4.8. **Análise dos dados:**

Os dados do estudo foram inseridos em bancos de dados em planilha do Microsoft Excel e processados no programa IBM® SPSS®, da companhia *Statistical Product and Service Solutions*, versão 23.0, sendo calculadas estatísticas descritivas, como médias, medianas, desvio padrão, mínimos e máximos para as variáveis quantitativas, e frequências para as qualitativas, além de indicadores epidemiológicos como incidência e letalidade.

As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste de Kolmogorov-Smirnoff para testar hipótese de normalidade. Para as variáveis quantitativas não paramétricas (ex. idade, tempo de internação, ventilação mecânica, tempo de posituação do swab), com hipótese de normalidade rejeitada, foi utilizado o teste de Mann Whitney. Nas demais variáveis quantitativas paramétricas foi utilizado o teste T Student para duas amostras independentes. Em ambas as situações foi considerado nível de significância de 0,05. Foi realizada análise de sobrevivência e função de risco através da curva de Kaplan-Meier. Para as variáveis qualitativas foi utilizado o teste Qui-Quadrado de Paerson.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados 54 pacientes colonizados. Nenhum paciente estava colonizado por KPC à admissão e o diagnóstico de colonização foi realizado ao longo do período de internação. Nos pacientes colonizados o *swab* retal identificou 32 pacientes com o isolamento de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC, 10 pacientes com crescimento de *Enterobacter cloacae* produtor de KPC, 05 pacientes apresentaram *Escherichia coli* produtora de KPC e em 02 pacientes observado *citrobacter freundii* produtor de KPC. Cinco pacientes do grupo desenvolveram doença invasiva (infecção) por KPC durante o estudo. Dentre aqueles infectados, 03 pacientes desenvolveram pneumonia, 01 paciente apresentou infecção de corrente sanguínea e 01 paciente evoluiu com infecção do trato urinário. A infecção de corrente sanguínea foi causada por *Enterobacter cloacae* produtor de KPC, assim como uma das pneumonias e a *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC foi identificada como patógeno causador de uma infecção urinária e duas pneumonias. Foram internados na UTI um total de 308 pacientes durante o período do estudo.

Inicialmente foi avaliada a incidência da colonização e infecção por KPC, posteriormente foi realizada a análise das características epidemiológicas, demonstração dos fatores associados a óbito intrahospitalar dos colonizados, além da determinação de fatores relacionados ao desenvolvimento de infecção no pacientes colonizados através da comparação dos grupos quanto às variáveis clínicas e também foi descrita a letalidade em ambos os grupos.

5.1. Cálculo da incidência da colonização e infecção por KPC entre os pacientes do estudo

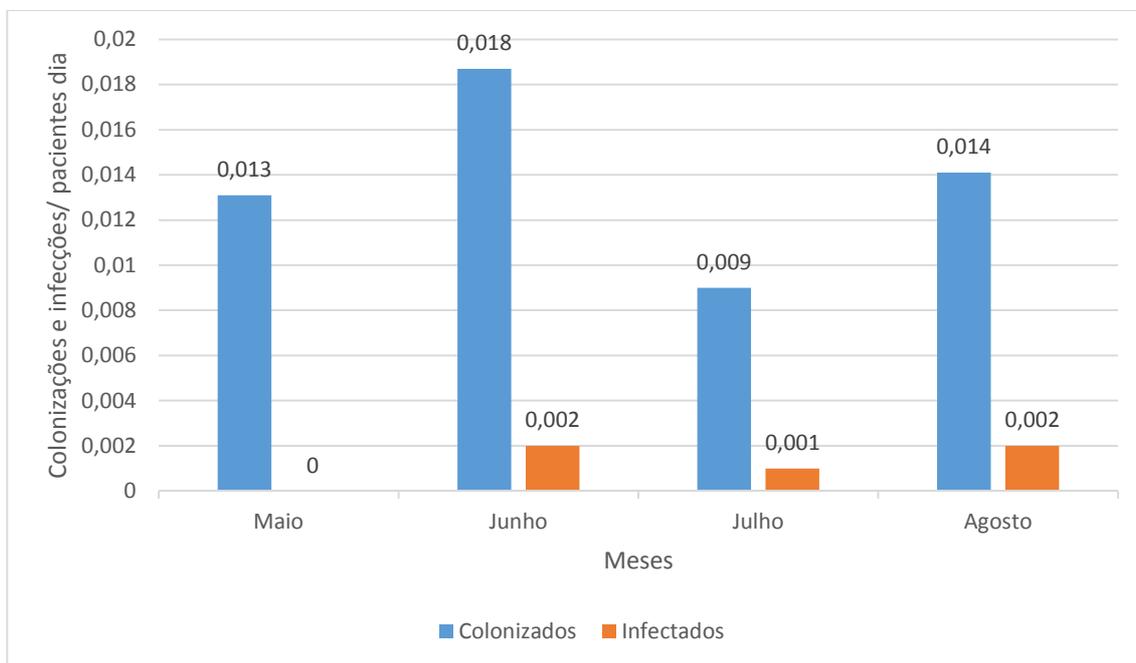


FIGURA 8: Incidência cumulativa da colonização e infecção por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase nos pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A incidência cumulativa da colonização e infecção foi revelada pela proporção de pessoas que se tornaram colonizadas e infectadas durante o período de tempo do estudo, portanto demonstra o risco do indivíduo ser colonizado ou infectado durante um período específico no tempo. Os valores de incidência cumulativa são expressos em número de colonizações ou infecções por paciente/ dia. O número de pacientes dia corresponde a um total de 992 e 960 pacientes/ dia nos meses de 31 e 30 dias, respectivamente. Foi avaliada a incidência cumulativa nos quatro meses do estudo com uma média de 0,013 colonizações/ paciente dia e 0,0012 infecções/ paciente dia.

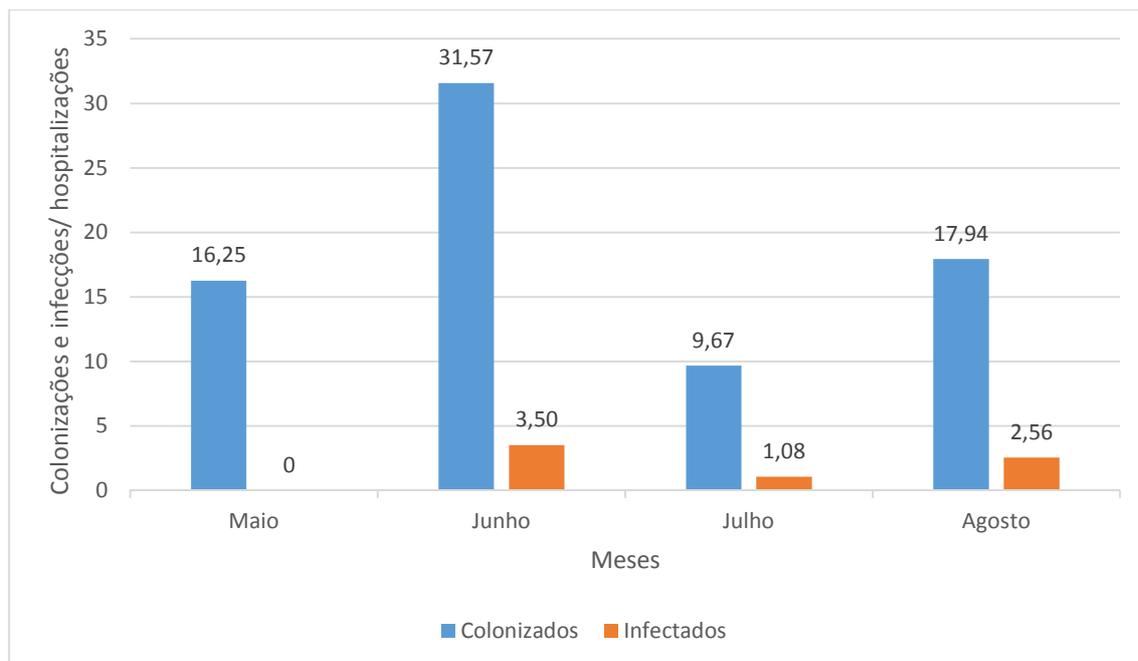


FIGURA 9: Incidência bruta da colonização e infecção por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase nos pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores da incidência bruta da colonização e infecção por KPC são expressos em número de colonizações e infecções por 100 hospitalizações. Foi mensurada a incidência bruta nos quatro meses do estudo com uma média de 17,53 colonizações por 100 pacientes hospitalizados e 1,62 infecções por 100 pacientes hospitalizados. O percentual de infecções por enterobactérias produtoras de KPC entre os colonizados foi de 9,26%.

Papadimitriou, 2015, coletando swabs retais à admissão e semanalmente observaram que 12% dos pacientes apresentavam colonização por KPC em uma amostra de 481 pacientes. Um estudo de coorte observacional retrospectivo espanhol realizado durante 18 meses descreveu dentre os pacientes com KPC a presença de colonização em 47,2% (LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2017). Um estudo observacional prospectivo com 226 pacientes em UTI realizado durante um período de 25 meses na Grécia revelou que 72,6% dos pacientes na UTI estavam colonizados com KPC (PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, 2013). Outro

estudo revela aproximadamente 12,8% dos pacientes colonizados em uma UTI (PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, 2012). LIN, 2013, observou que naqueles pacientes com maior permanência na UTI aproximadamente 30,4% deles apresentavam colonização por KPC em contraste com apenas 3,3% naqueles com baixa permanência na UTI.

A infecção por KPC é descrita com uma grande variabilidade. Em um centro com UTI cardíaca pós operatória de pacientes submetidos a cirurgia cardíaca aberta, a infecção por KPC foi observada em 6% dos pacientes (SALZANO, 2016). Num grupo de pacientes com KPC a presença de infecção foi evidenciada em 52,8% dos pacientes em uma coorte espanhola (LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2017).

5.2. Identificação das características clínicas e epidemiológicas dos pacientes colonizados e infectados por KPC.

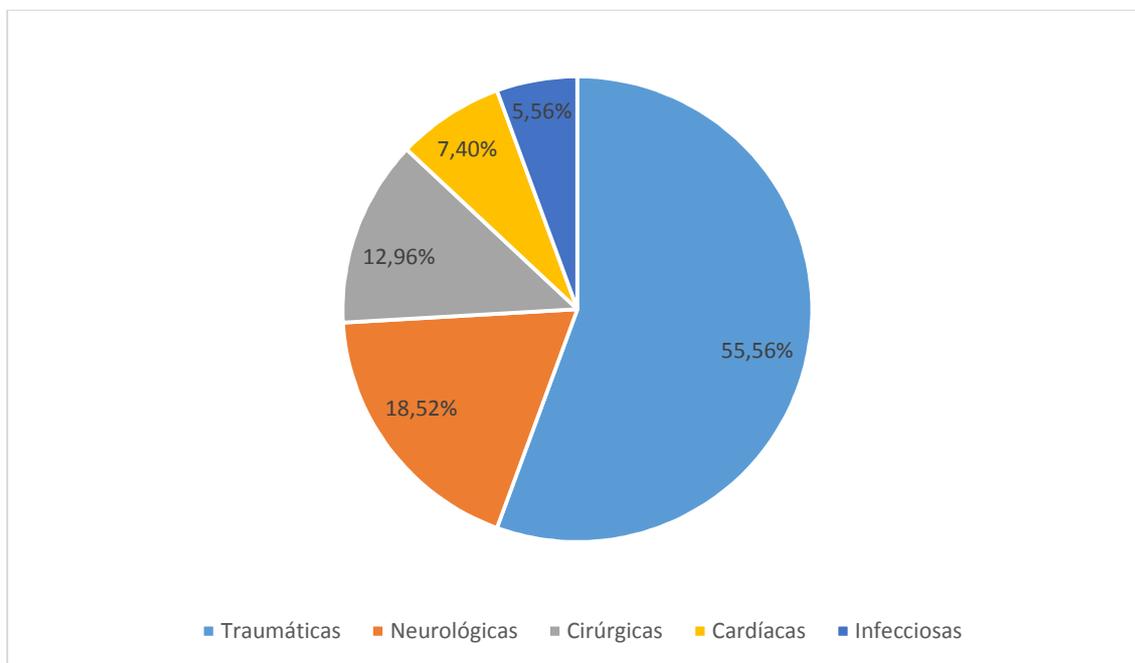


FIGURA 10 – Diagnóstico da internação por grupos nos pacientes colonizados enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Na distribuição da amostra quanto ao diagnóstico por grupos, dividimos em 5 grupos: traumáticos; neurológicos, cirúrgicos, cardíacos e infecciosos. Além das causas traumáticas e sua prevalência supracitada, a causa neurológica foi descrito em 10 pacientes (18,52%), os quadros cirúrgicos complicados, principalmente abdominais revelados em 12,96% dos pacientes, com causas cardíacas e infecciosas, respondendo por 7,40% e 5,56%, respectivamente.

TABELA 1 – Diagnóstico da internação nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Diagnóstico	Nº	%
TCE	19	35,15 %
TRM	2	3,68 %
Politrauma + fratura fêmur e bacia	2	3,68 %
TCE + TRM	1	1,84 %
FAB + hemotórax + lesão jejuno	1	1,84 %
FAF + lesão veia cava	1	1,84 %
FAB + lesão delgado e côlon	1	1,84 %
FAB + empiema	1	1,84 %
FAF + lesão duodenal lesão vascular	1	1,84 %
AVC h	6	11,09 %
ACV i	3	5,92 %
Pancreatite	2	3,68 %
SCA	2	3,68 %
Infecção respiratória	1	1,84 %
Artrite séptica joelho	1	1,84 %
Abscesso dentário	1	1,84 %
Apendicite/ Peritonite	1	1,84 %
Tentativa de auto- extermínio	1	1,84 %
ICC + choque cardiogênico	1	1,84 %
Diverticulite/ peritonite	1	1,84 %
Fournier	1	1,84 %
Colecistite + Fístula biliar	1	1,84 %
EAP hipertensivo	1	1,84 %
Status de mal convulsivo	1	1,84 %
Úlcera péptica perfurada/ peritonite	1	1,84 %
Total	54	100,00

TCE: Traumatismo crânio encefálico; TRM: Traumatismo raquimedular; AVC h: Acidente vascular cerebral hemorrágico; SCA: Síndrome coronariana aguda; AVC i: Acidente vascular cerebral isquêmico; FAB: Ferimento por arma branca; ICC: Insuficiência cardíaca congestiva; FAF: Ferimento por arma de fogo; EAP: Edema agudo de pulmão. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Com relação as causas de internação à admissão no hospital, é observado que o trauma é a causa mais comum de internação do paciente na UTI do HUT. O trauma esteve presente como o diagnóstico da admissão em 29 pacientes (55,56%), enquanto a causa não traumática foi evidente em 44,44% dos pacientes. O hospital onde o estudo foi realizado é referência para trauma no Estado do Piauí, constituindo o TCE o diagnóstico mais prevalente (35,15%). Apesar da alta prevalência de casos traumáticos há uma ampla variedade de quadros clínicos ou cirúrgicos descritos na amostragem atribuídos ao fato do HUT ser o único hospital público de nível terciário do Estado do Piauí e município de Teresina com serviço de emergência, para onde são encaminhados/drenados os pacientes graves provenientes de outros serviços ou do domicílio.

ZEMBOWER, 2017, publicou um estudo americano de coorte retrospectivo, realizado no estado de Illinois com um grupo de 218 pacientes observados durante 5 anos, em que 39% dos pacientes colonizados por KPC, apresentaram como diagnóstico traumatismo craniano e raquimedular e 31% dos pacientes apresentaram isolados múltiplos para KPC, ou seja, KPC isolada em mais de um swab, e nesse último grupo foi maior a probabilidade de pacientes jovens, negros, com causas traumáticas, principalmente ferimentos por arma de fogo.

Quanto a distribuição dos pacientes colonizados por KPC por gênero observamos um discreto predomínio do sexo masculino (53,7%) correspondendo a 29 pacientes, enquanto no sexo feminino observamos uma frequência de 46,3%, um total de 25 pacientes. Quanto a distribuição por idade os valores são expressos como média \pm desvio padrão e mediana. A média de idade foi de 35 (\pm 19) anos, variando de 18 (idade mínima) a 82 anos (idade máxima) e a mediana de 24 anos.

O local onde a pesquisa foi desenvolvida é um hospital de trauma com grande incidência de acidentes de trânsito (principalmente motociclístico), o que pode proporcionar uma tendência a um predomínio no sexo masculino. Há um predomínio de uma população jovem, vítima de lesões traumáticas, e em nosso estudo foi descrito uma média de idade mais baixa que a maioria dos estudos publicados.

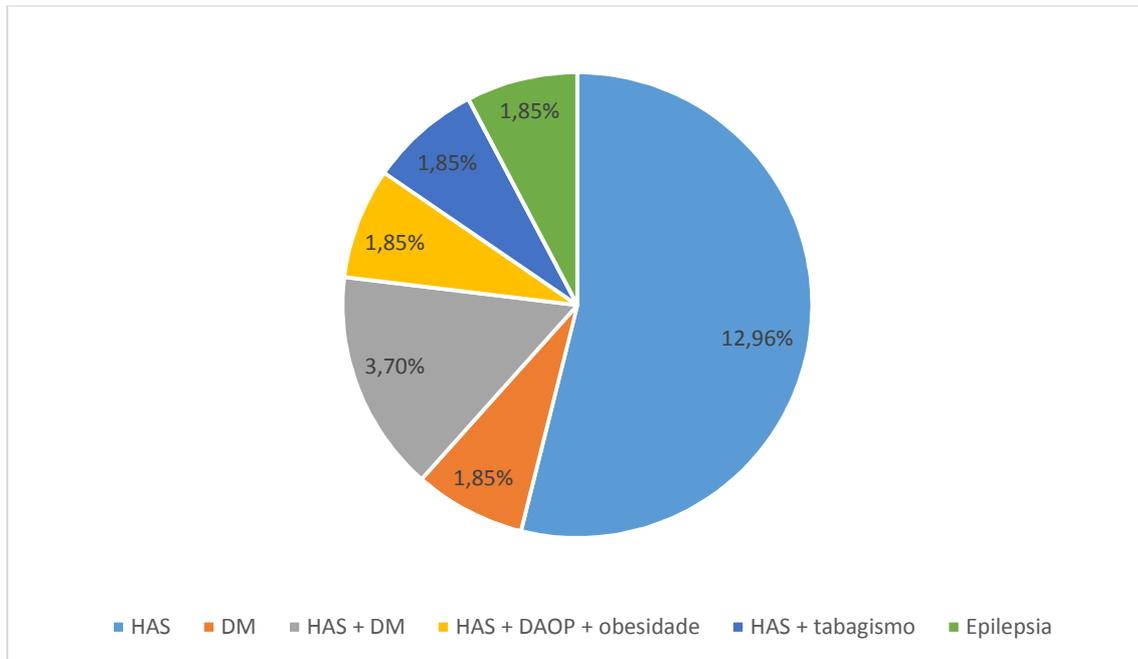


FIGURA 11 – Presença de comorbidades nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; HAS + DM: Hipertensão arterial sistêmica + diabetes mellitus; HAS + DAOP + obesidade: Hipertensão arterial sistêmica + doença arterial oclusiva periférica + obesidade; HAS + tabagismo: hipertensão arterial sistêmica + tabagismo. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Com relação as comorbidades apresentadas pelos pacientes durante internação e hipertensão arterial sistêmica foi a mais prevalente ocorrendo em 11 pacientes (20,36%) e diabetes mellitus em 3 pacientes (5,55%). Na amostra um total de 13 pacientes apresentaram comorbidades (24,07%).

TABELA 2. Tempo de uso de dispositivos invasivos e necessidade de terapia de substituição renal nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Média±DP	Mediana	Nº	%
CVC (dias)		30 ± 9	30		
SVD (dias)		32 ± 10	32		
SNG/ SNE (dias)		33 ± 10	32		
VM invasiva (dias)		29 ± 10	28		
Terapia de substituição renal	não			26	48,15
	sim			28	51,85
	total			54	100

CVC: catéter venoso central, SVD: sonda vesical de demora; SNG/ SNE: sonda nasogástrica/ sonda nasoentérica; VM: ventilação mecânica. Fonte: Arquivo SAME - Hospital de Urgência de Teresina (HUT)

Os valores de tempo de uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/ nasoentérica, ventilação mecânica invasiva são expressos como média ± desvio padrão e mediana, em dias. Observamos uma população um tanto homogênea quanto ao uso de dispositivos invasivos, ou seja a maioria dos pacientes permanece mais de 85% do tempo de internação em uso de múltiplos e simultâneos dispositivos, o que proporciona aumento do risco de infecções hospitalares de modo geral. A hemodiálise se fez presente em 51,85% dos pacientes durante o período estudado.

TABELA 3. Tempo de internação na Unidade de Terapia Intensiva e tempo de positividade do *swab* nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018.

	Média (\pm DP)	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
Tempo de internação na UTI (dias)	33,78 \pm 9,90	33	15	56
Tempo de positividade do swab (dias)	22,76 \pm 6,63	22	10	43

Fonte: Arquivo SAME - Hospital de Urgência de Teresina (HUT)

Os valores de tempo de positividade do swab e tempo de internação são expressos como média \pm desvio padrão e mediana. O tempo de internação corresponde ao período em que o paciente esteve internado na UTI e o tempo de positividade do swab ao tempo compreendido entre a admissão na UTI até a data em que o swab foi positivo para KPC. A análise estatística revelou uma correlação de + 0,769 entre tempo de internação em UTI e tempo de positividade do *swab* indicando que quanto maior o tempo de internação na UTI maior o tempo de positividade do *swab*.

TABELA 4 – Regressão linear múltipla nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), com variável dependente tempo de positividade do *swab* e variáveis independentes tempo de internação na UTI, número de dias em uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora e sonda nasogástrica/nasoentérica. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Tempo de positividade do swab		
	t	Valor de p
Tempo de internação	1,128	0,082
CVC	0,194	0,645
SVD	-0,932	0,025*
SNG/ SNE	0,394	0,418

*Significância estatística ($p < 0,05$). CVC: catéter venoso central, SVD: sonda vesical de demora; SNG/ SNE: sonda nasogástrica/ sonda nasoentérica. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A Tabela 4 mostra regressão linear múltipla na amostra com variável dependente tempo de positividade do *swab* e variáveis independentes o tempo de internação, o número de dias em uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora e sonda nasogástrica/ nasoentérica. Como o tempo de positividade do *swab* não segue curva normal foi feita a transformação logarítmica para torná-lo normal. Dentre estas variáveis, a única que mostrou associação com o tempo de positividade do *swab* na amostra foi o número de dias em uso de sonda vesical de demora. O valor negativo (-0,932) indica que quanto maior foi o número de dias em uso de sonda vesical de demora, menor foi o tempo de positividade do *swab*.

TABELA 5 – Complicações não infecciosas nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018

Complicações não infecciosas	Nº	%
Ausência	35	64,81
TVP	4	7,41
HDA	5	9,26
TVP+HDA	1	1,85
Pneumotórax	3	5,56
TVP+TEP	3	5,56
SCA	1	1,85
AVEH	1	1,85
PCR	1	1,85
Total	54	100,00

TVP: Trombose venosa profunda; HDA: Hemorragia digestiva alta; TEP: Tromboembolismo pulmonar; SCA: Síndrome coronariana aguda; AVCH: Acidente vascular encefálico hemorrágico; PCR: Parada cardiorrespiratória. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

As complicações não infecciosas estiveram presentes em 19 pacientes (35,19%), enquanto 35 pacientes (64,81%) não apresentaram complicações.

Considerando-se os desfechos clínicos após colonização evidenciamos uma baixa frequência de eventos não infecciosos, quando comparadas à incidência mais elevada de complicações infecciosas, que afetou 81,8% da amostra.

TABELA 6 – Incidência de infecções após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Incidência de infecções após colonização	Nº	%
Nenhuma	10	18,52 %
1	20	37,04 %
2	9	16,67 %
3	8	14,81 %
4	4	7,41 %
5	3	5,55 %
Total	54	100,00

Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A incidência de infecções após colonização foi expressa numa variabilidade de zero a cinco episódios de infecções, como número absoluto e relativos dos pacientes que as apresentaram. Observa-se a elevada frequência de eventos infecciosos pós colonização por KPC. 81,48% dos pacientes colonizados evoluíram com pelo menos um episódio infeccioso pós colonização, enquanto apenas 18,52% dos pacientes não a apresentaram.

O tempo de positividade do *swab* corresponde em média a dois terços do tempo de internação na UTI. Há uma elevada concentração de infecções, principalmente após colonização e o que preocupa é o perfil de resistência dos germes causadores dessas infecções, geralmente multidroga resistentes.

O número elevado de infecções é justificado porque os fatores de risco para a infecção por KPC são os mesmos associados a infecções hospitalares, tais como: uso de antimicrobianos de amplo espectro, longa permanência hospitalar, internação em UTI, internação em outros estabelecimentos de longa permanência e a realização de procedimentos invasivos (BORGES, 2015).

TABELA 7 – Sítio das infecções após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Sítio das infecções após colonização	Nº	%
Infecções respiratórias	56	60,21 %
Infecções de corrente sanguínea	16	17,20 %
Infecções urinárias	12	12,90 %
Infecções intra-abdominais	5	5,37 %
Infecções SNC	2	2,16 %
Infecções pele	2	2,16 %
Total	93	100,00

Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

O sítio das infecções após colonização foi expresso como número absoluto e relativos dos pacientes que as apresentaram. Foi observado elevada prevalência de infecções do trato respiratório inferior (60,21%) em pacientes com tempo prolongado de ventilação mecânica, correspondendo a quase 2/3 do total de infecções, assim como infecções de corrente sanguínea (17,20%) com o uso e longa permanência do cateter venoso central. As infecções urinárias (12,90%) também foram frequentes e associadas a alta prevalência do uso de sonda vesical de demora. As infecções intra-abdominais foram observadas naqueles pacientes que tiveram como diagnóstico quadros abdominais geralmente cirúrgicos com complicações, em alguns casos com necessidade de peritoneostomia. Os casos de infecção do sistema nervoso central foram ventriculite em pacientes que fizeram uso de derivação ventricular externa (DVE) por período prolongado. As infecções de pele tiveram os microorganismos isolados por biópsia em um caso de celulite extensa e outro de fasciíte.

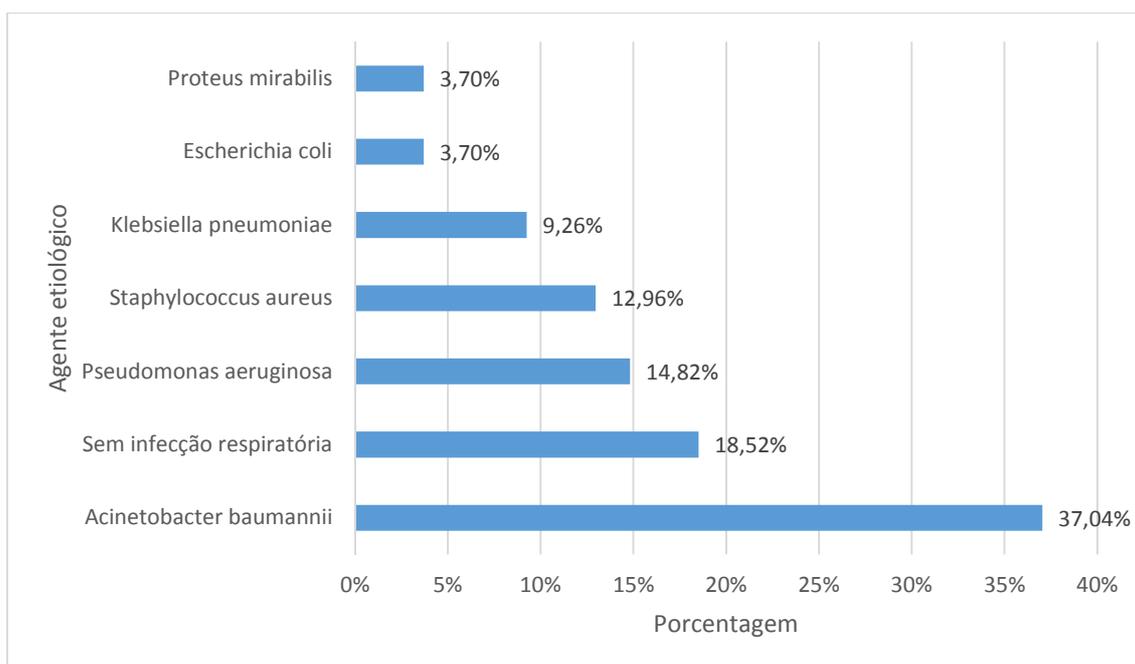


FIGURA 12. **Primeira infecção respiratória após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).**

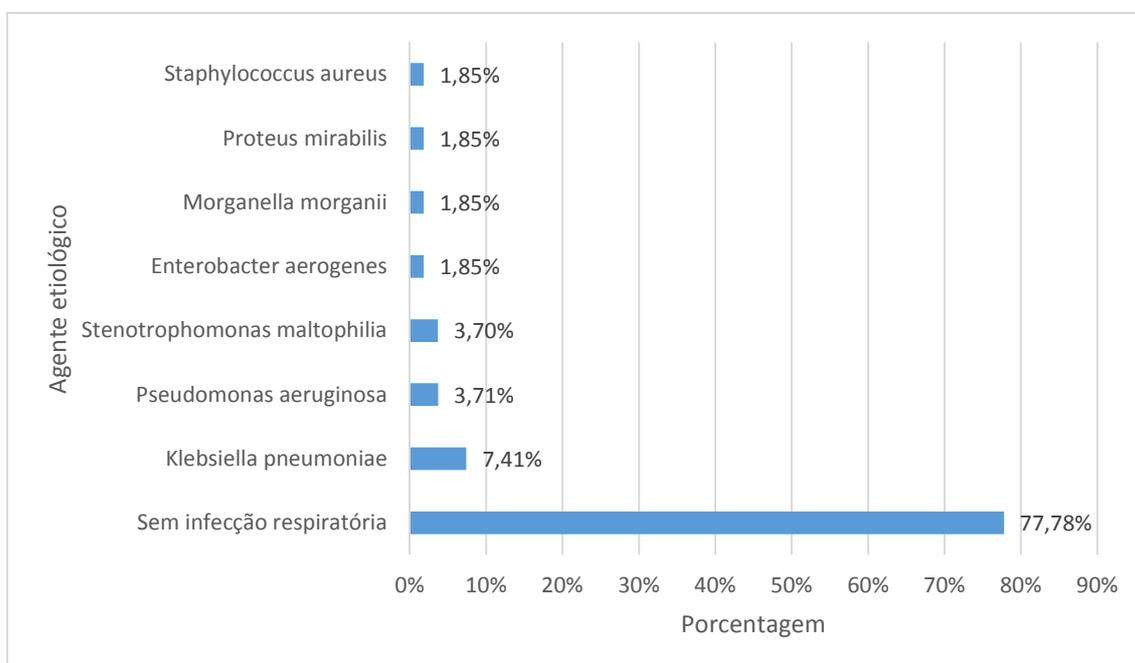


FIGURA 13. **Segunda infecção respiratória após colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).**

A infecção respiratória foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Foi observado elevada prevalência de infecções respiratórias após a colonização. Apenas 18,52% dos pacientes não apresentaram infecção respiratória e naqueles que a apresentaram a prevalência foi de 81,48%. 22,22% dos pacientes apresentaram dois episódios de infecções respiratórias. Do total de infecções evidenciadas após a colonização, a infecção respiratória foi responsável por 60,21% do total e entre os pacientes da amostra houve 56 episódios de infecção do trato respiratório após a colonização.

Esse resultado está diretamente associado ao elevado tempo em uso de ventilação mecânica. Observou-se que em 86% do tempo de permanência na UTI os pacientes estavam em uso de ventilação mecânica. Vale a pena enfatizar a elevada prevalência das enterobactérias e o perfil de sensibilidade desses germes multidroga resistentes causadores de infecção após a colonização.

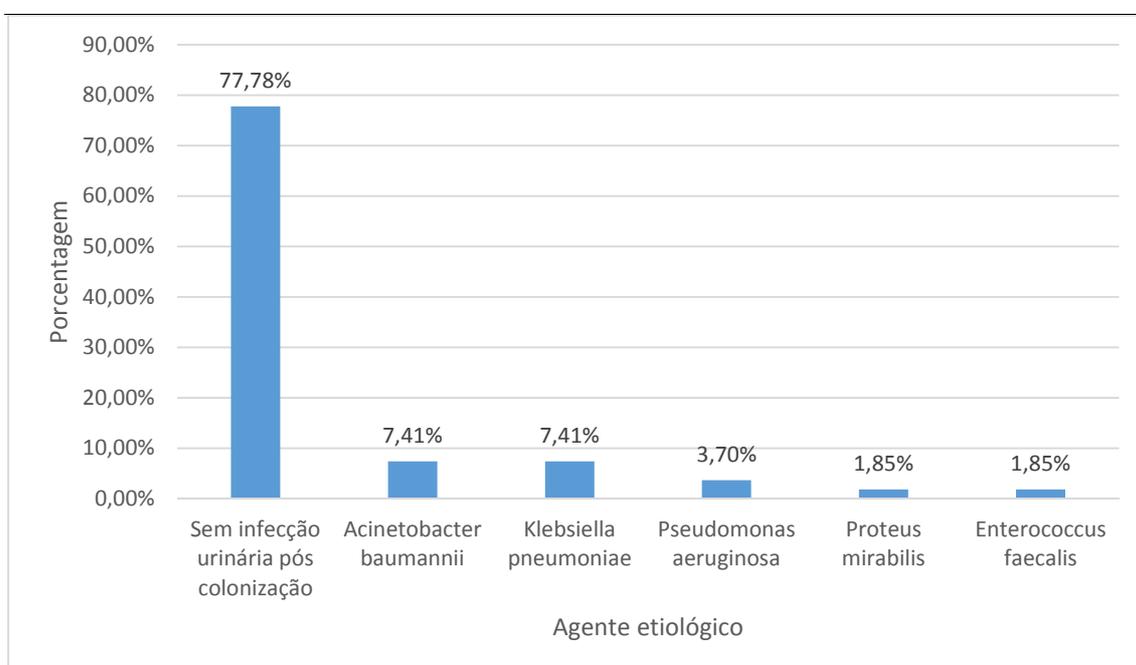


FIGURA 14. Infecção urinária pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A infecção urinária foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Houve prevalência de infecções urinárias após a colonização de 22,22% dos pacientes. Do total de infecções evidenciadas após a colonização a infecção urinária foi responsável por 12,90% do total. Esse resultado está diretamente associado ao elevado tempo em uso de sonda vesical de demora; observou-se que em 95% do tempo de permanência na UTI os pacientes da amostra estavam em uso de sonda vesical de demora. Foi observado uma maior prevalência de enterobactérias com um perfil de sensibilidade de germes multidroga resistentes.

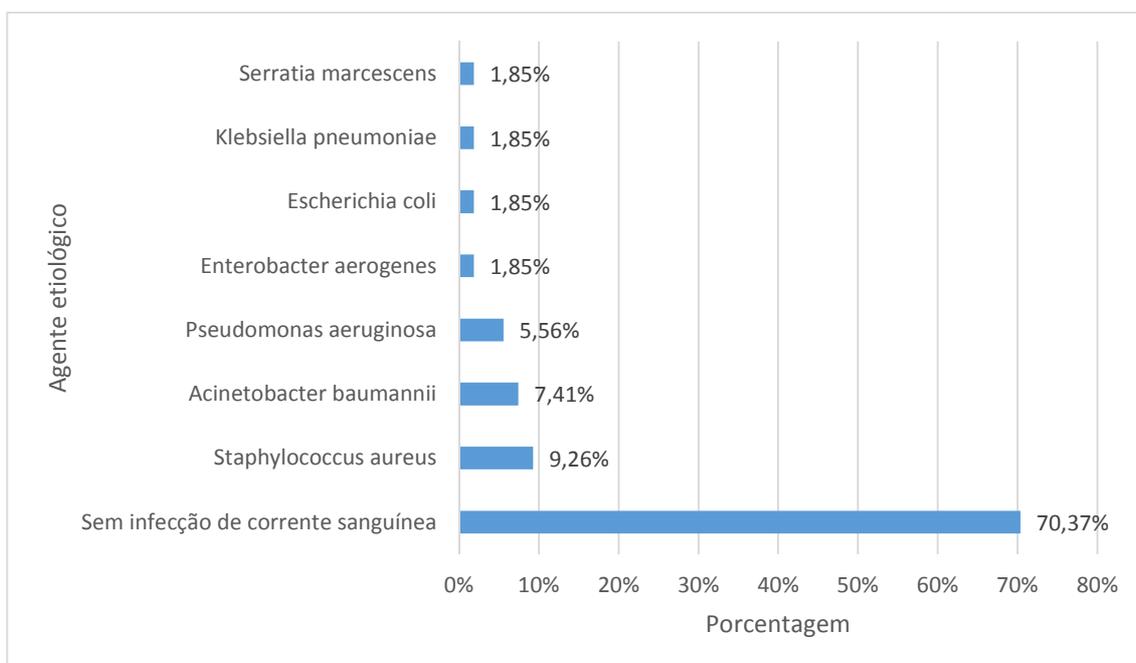


FIGURA 15. **Infecção de corrente sanguínea pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).**

A infecção de corrente sanguínea foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Houve prevalência de infecções de corrente sanguínea após a colonização de 29,63% nos pacientes. Do total de infecções evidenciadas após a colonização, a infecção de corrente sanguínea foi responsável por 17,20% do total. Esse resultado pode ser associado ao elevado tempo em uso de cateter venoso central. Em 89% do tempo de permanência na UTI os pacientes da amostra estavam em uso de cateter venoso central. Foi observado uma maior prevalência de enterobactérias e *Staphylococcus* com um perfil de sensibilidade de germes multidroga resistentes.

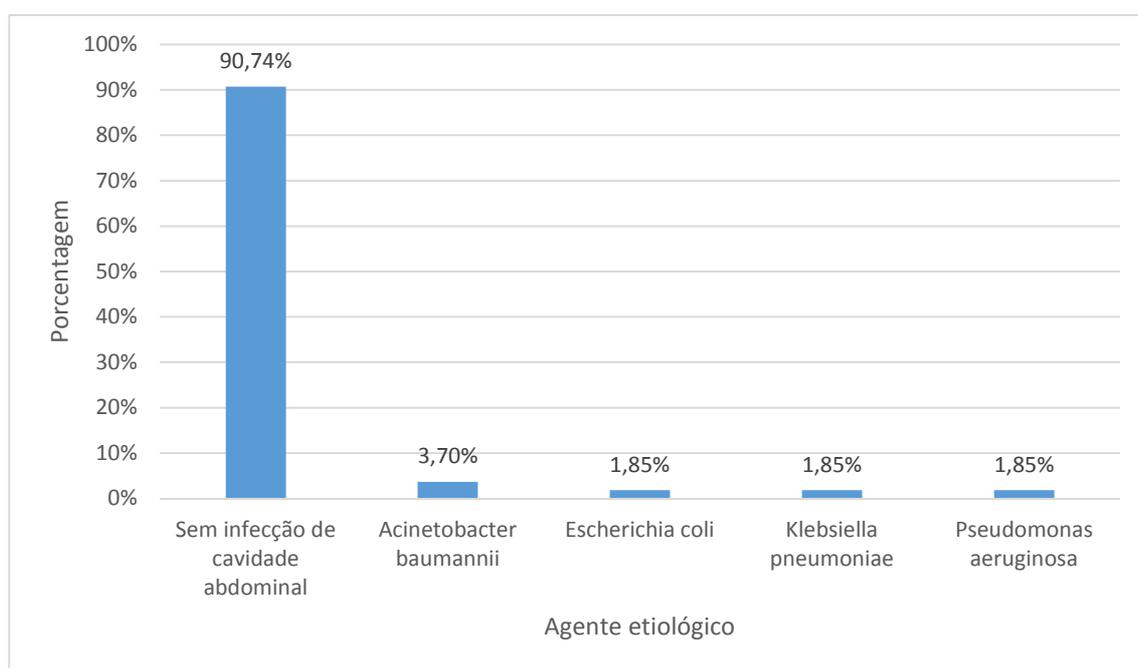


FIGURA 16. **Infecção de cavidade abdominal pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).** Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A infecção de cavidade abdominal foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Houve presença de infecções de cavidade abdominal após a colonização em 9,26% dos pacientes. Do total de infecções evidenciadas após a colonização, a infecção de cavidade abdominal foi responsável por 5,37%. Todos os pacientes com esta complicação já apresentavam quadros abdominais na admissão na

UTI, e em sua totalidade necessitaram de peritoneostomia. Foi observado um predomínio de enterobactérias com um perfil de sensibilidade de germes multi-droga resistentes.

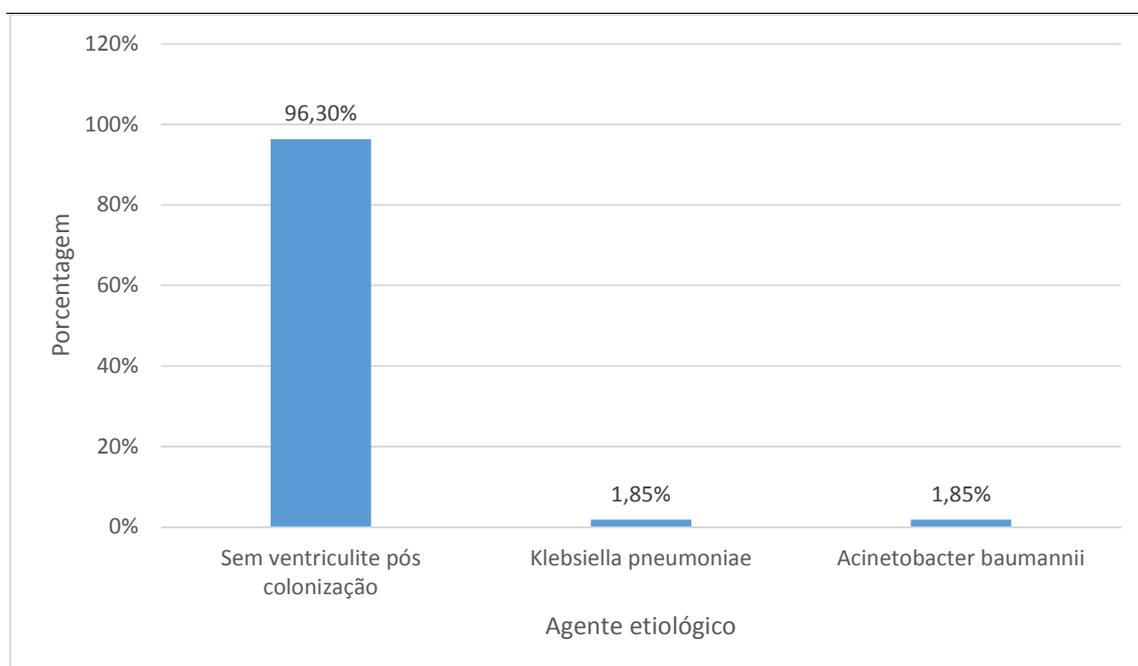


FIGURA 17. Ventriculite pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A ventriculite foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Houve presença de infecções do sistema nervoso central (ventriculite) após a colonização em 3,70% dos pacientes. Do total de infecções evidenciadas após a colonização, a ventriculite foi responsável por 2,16%. Ambos os pacientes com essa complicação evoluíram para a infecção secundariamente ao uso prolongado de derivação externa. Foi evidenciado bactérias com um perfil de sensibilidade de germes multi-droga resistentes como causa da ventriculite na amostra.

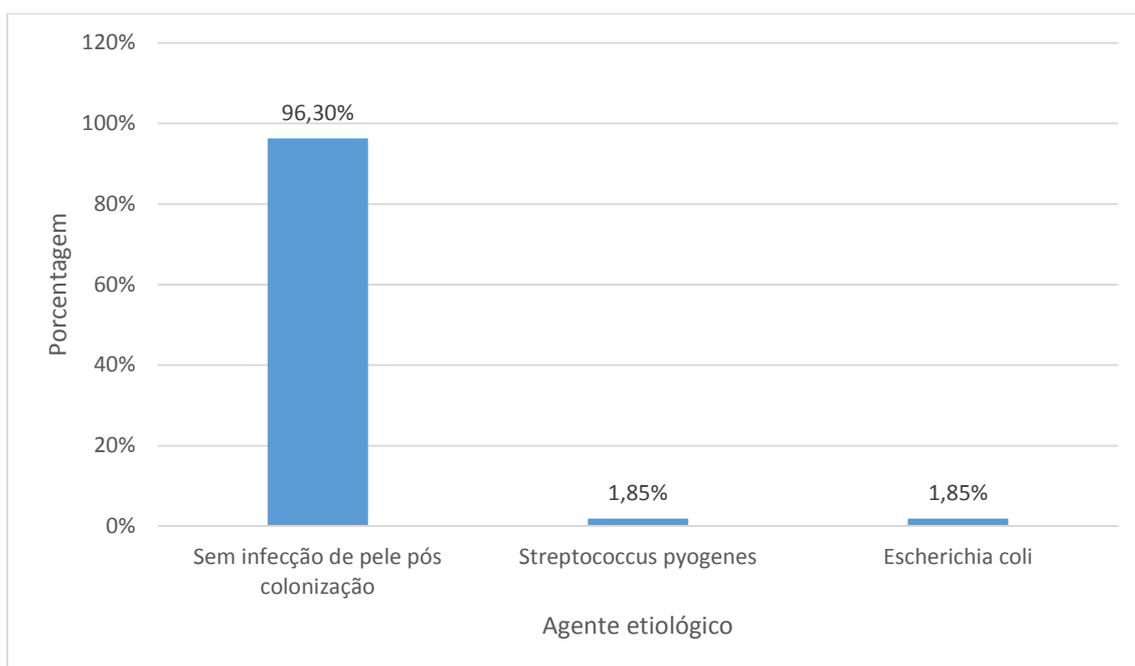


FIGURA 18. Infecção de pele pós colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A infecção de pele foi expressa conforme o agente etiológico causal, como número relativo dos pacientes da amostra.

Houve presença de infecções de pele após a colonização em 3,70% dos pacientes. Do total de infecções evidenciadas após a colonização a infecção cutânea foi responsável por 2,16%.

TABELA 8 – Uso de antimicrobianos pré colonização nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Antimicrobiano	Nº (pacientes que utilizaram)	%
Antifúngico	7	12,96
Penicilina + inibidor de betalactamase	39	72,22
Cefalosporina de 3ª ou 4ª geração	20	37,04
Carbapenêmico	33	61,11
Aminoglicosídeo	11	20,37
Quinolona	19	35,19
Polimixina B	24	44,44
Metronidazol	9	16,67
Glicopeptídeo	30	55,56
Linezolida	5	9,26
Total	54	100,00

Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

O uso dos antimicrobianos são expressos como número absoluto e relativos dos pacientes que os utilizaram. Todos os pacientes da amostra utilizaram antimicrobianos. Foi identificada elevada utilização de antimicrobianos de amplo espectro antes da colonização. A utilização de penicilina + inibidor de beta-lactamase chegou a 72%, próximo a esse valor houve grande utilização de carbapenêmicos (61%), seguida por glicopeptídeo (56%) e polimixina B (44%).

O uso de antimicrobianos em UTI, principalmente aqueles de amplo espectro, está sendo cada vez mais disseminado e muitas vezes pouco racional o que facilita a seleção e disseminação de cepas resistentes a múltiplas drogas.

No estudo de Borges, 2015, foi identificada uma alta utilização de antibióticos de amplo espectro antes da colonização por KPC. A utilização de

penicilinas associadas com inibidores de beta-lactamases chegou a 80% e próximo a esse valor foi observado uma importante utilização de carbapenêmicos (60%), vancomicina (57,3%) e polimixina B (34,7%).

5.3. Avaliação dos fatores associados ao óbito intra-hospitalar de pacientes colonizados por KPC

TABELA 9. Associação entre o gênero e a faixa etária e o desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/2018

		Desfecho com óbito				Valor de p
		não		sim		
		Nº	%	Nº	%	
Gênero	feminino	12	48,00	13	52,00	0,202
	masculino	9	31,03	20	68,97	
Faixa etária	≥ 35 anos	6	26,09	17	73,91	0,096
	< 35 anos	15	48,39	16	51,61	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME - Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores expressam as características sócio-demográficas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Não foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável gênero e faixa etária (teste qui-quadrado de Pearson). Apesar da idade não ter associação significativa com colonização na amostra, houve risco de óbito maior nos pacientes abaixo de 35 anos de idade.

TABELA 10. Associação entre infecções pós colonização, trauma e comorbidades e o desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).
Teresina – PI, maio - agosto/ 2018

		Desfecho com óbito				Valor de p
		não		sim		
		Nº	%	Nº	%	
Infecções	não	8	80,00	2	20,00	0,003*
	sim	13	29,55	31	70,45	
Trauma	não	9	36,00	16	64,00	0,686
	sim	12	41,38	17	58,62	
Comorbidade	não	15	36,59	26	63,41	0,537
	sim	6	46,15	7	53,85	

Teste qui-quadrado de Pearson, *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME - Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores expressam as características clínicas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável presença de infecções após a colonização por KPC, enquanto para as variáveis causas traumáticas de admissão e presença de comorbidades não foram observadas diferença significativa (teste qui-quadrado de Pearson).

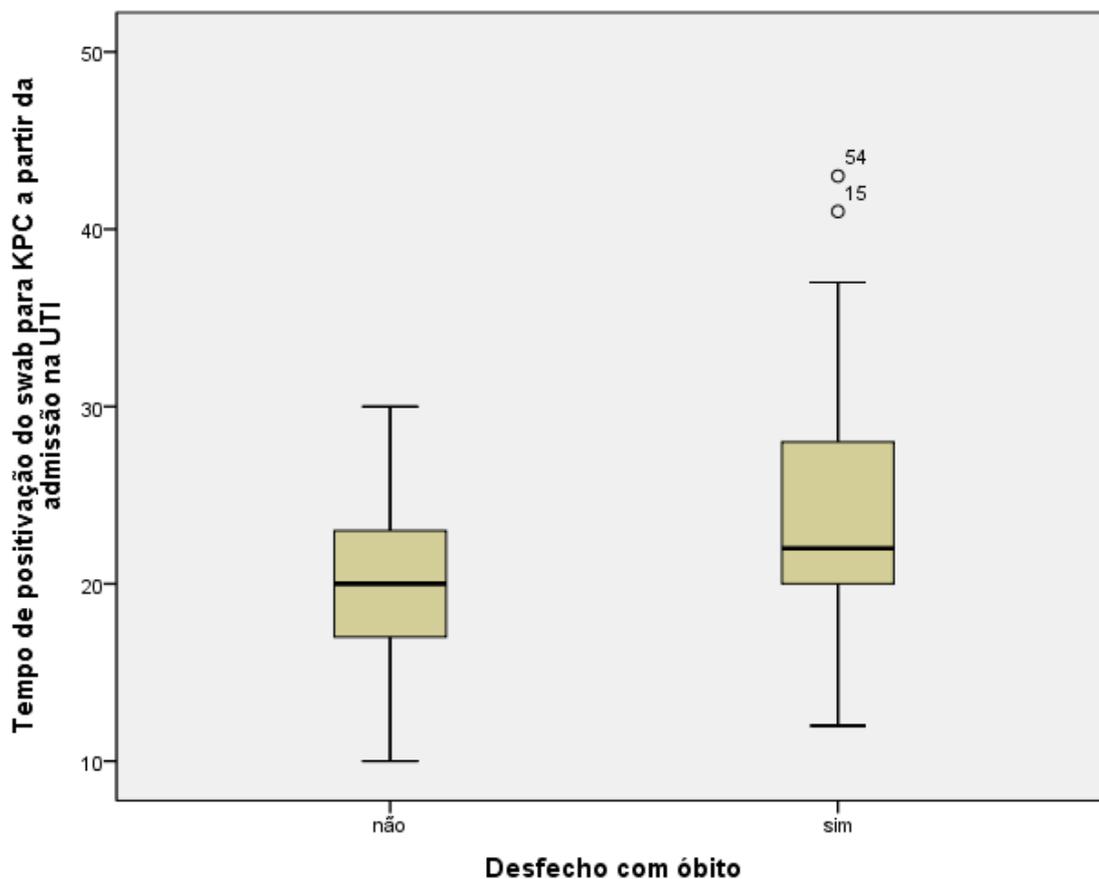


FIGURA 19. Tempo de posituação do swab em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva. Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Teste de Mann Whitney - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A figura mostra as medianas, os valores máximo e mínimo e a distribuição em quartis do tempo de posituação do swab nos pacientes em função da presença ou ausência do óbito. A linha central do retângulo corresponde a mediana, ou seja, o percentil 50. A linha inferior do retângulo corresponde ao percentil 25 e a linha superior ao percentil 75. O gráfico fornece uma idéia sobre a posição dos dados através da observação da mediana e nos dois grupos a mediana encontra-se com valores próximos. A dispersão dos dados pode ser representada pelo intervalo interquartilico, ou seja a diferença entre o primeiro e o terceiro quartil ou pela amplitude calculada pela diferença entre o valor máximo

e o valor mínimo. Embora a amplitude seja de mais fácil compreensão o intervalo interquartil é uma medida mais confiável para medir variabilidade uma vez que não sofre influência dos *outliers*. Observamos uma maior dispersão dos dados no grupo que teve desfecho com óbito em relação ao grupo de sobreviventes. A simetria dos dados foi avaliada pela posição da mediana no retângulo, ou seja nos dados simétricos a mediana está no centro do retângulo, como ocorre no grupo de sobreviventes, enquanto naqueles não sobreviventes foi observado a linha da mediana próxima do primeiro quartil e portanto os dados são assimétricos positivos. A mediana é a medida de tendência mais indicada quando os dados tem distribuição assimétrica, uma vez que a média é influenciada pelos valores extremos. As caudas fornecem o comprimento das caudas de distribuição e observamos caudas maiores no grupo dos pacientes que foram à óbito. Houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,032$; teste Mann Whitney).

Borges et al, observou em um estudo brasileiro que a mediana e a amplitude interquartil de tempo desde o início da internação até a positividade da cultura de vigilância (*swab*) foram de 18 (9-33) dias e os pacientes apresentaram um período de internação longo com mediana de 36 dias (24-56) (BORGES, 2015).

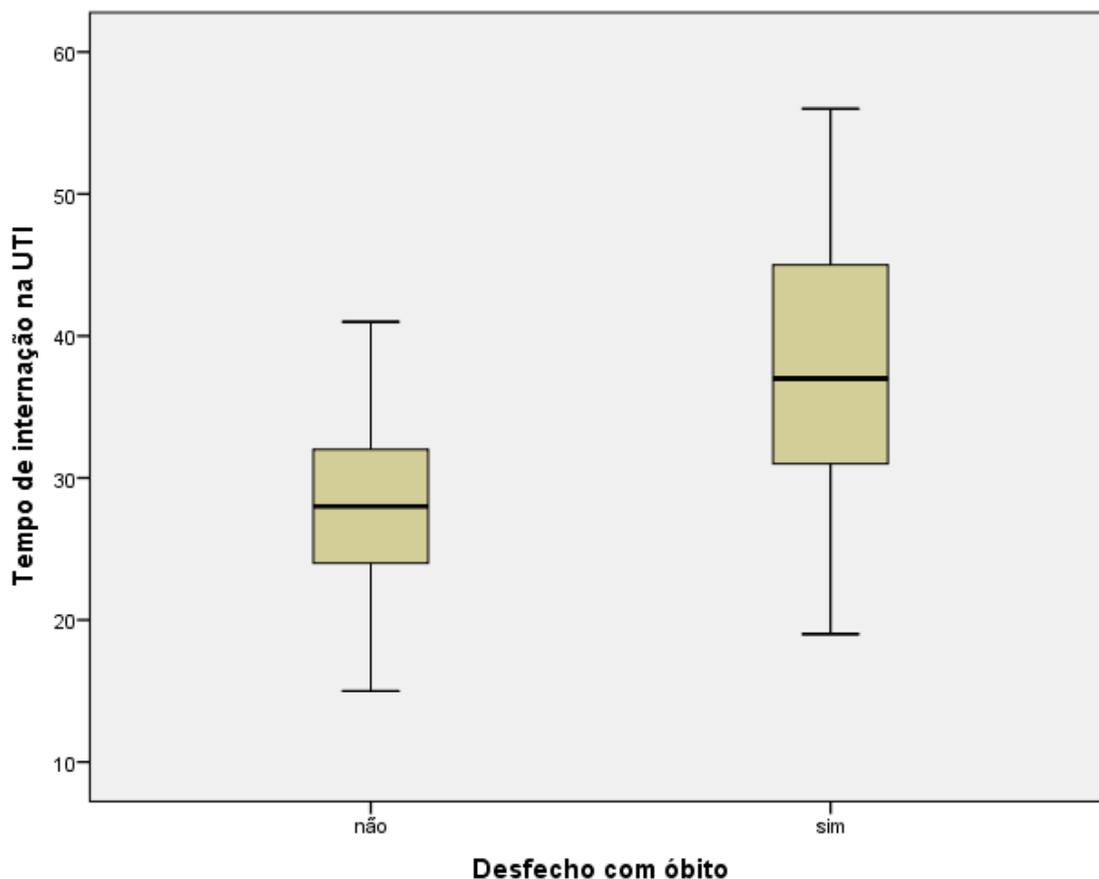


FIGURA 20. Tempo de internação na UTI em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teste de Mann Whitney - *Significância estatística ($p < 0,05$). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A figura mostra as medianas, os valores máximo e mínimo e a distribuição em quartis do tempo de internação na UTI dos pacientes em função da presença ou ausência do óbito.

Sobre a posição dos dados foi evidenciado que no grupo dos pacientes com desfecho para o óbito a mediana está maior que no grupo dos sobreviventes. Foi observado uma maior dispersão dos dados no grupo que teve desfecho com óbito em relação ao grupo de sobreviventes. No grupo de sobreviventes observamos uma simetria dos dados, enquanto naqueles que não sobreviveram verificamos que a linha da mediana está um pouco mais próxima do primeiro quartil e portanto os dados são assimétricos positivos. Observamos caudas maiores no grupo dos pacientes que foram à óbito. Não foi observado

outliers. Houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,001$; teste de Mann Whitney).

A infecção de corrente sanguínea causada por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos é fatal em 50% dos casos e o tempo de permanência na UTI está entre os fatores de risco mais comuns para mortalidade (VIALE, 2013).

TABELA 11. **Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis gênero, terapia de substituição renal, cirurgia não abdominal e cirurgia abdominal.** Teresina-PI, maio - agosto/2018

		Desfecho com óbito				valor de p
		não		sim		
		Nº	%	Nº	%	
Gênero	Feminino	12	57,14	13	33,39	0,202
	Masculino	9	42,86	20	60,61	
Terapia de substituição renal	Não	16	76,19	10	30,30	0,001*
	Sim	5	23,81	23	69,70	
Cirurgia não abdominal	Não	18	85,71	30	90,91	0,554
	Sim	3	14,29	3	9,09	
Cirurgia abdominal	Não	20	95,24	25	75,76	0,061
	Sim	1	4,76	8	24,24	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p<0,05$). Fonte: Arquivo SAME - Hospital de Urgência de Teresina (HUT)

Os valores expressam as características demográficas e clínicas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável necessidade de terapia de substituição renal, sem diferença significativa

entre as demais variáveis supracitadas de gênero e necessidade de cirurgia (teste qui-quadrado de Pearson).

Os pacientes que necessitaram de terapia dialítica evoluíram mais para o óbito que aqueles que não necessitaram. O mesmo não ocorreu para a necessidade de cirurgia. O fato de pertencer a um determinado gênero não esteve associado com maior mortalidade quando comparado os sobreviventes e não sobreviventes.

A disfunção renal foi um fator de risco independente para morte de pacientes colonizados com KPC (JIAO, 2015). A necessidade de diálise durante a internação na UTI foi preditor independente de mortalidade nos pacientes colonizados por KPC em um estudo brasileiro realizado em Porto Alegre (BORGES, 2015). Freire (2015) descreveu em sua amostra que os fatores de risco associados à mortalidade em 30 dias em pacientes infectados por KPC foram o escore SOFA, a necessidade de UTI e a presença de insuficiência renal aguda. Choque e diálise foram fatores de risco independentes para morte em pacientes infectados por KPC (MAIO CARRILHO, 2016).

A doença abdominal subjacente com fístula gastrointestinal foi preditor independente de mortalidade em 30 dias de pacientes colonizados com KPC (LI, 2018). As variáveis associadas com colonização por KPC foram: colonização por enterococo resistente à vancomicina, uso de cateter venoso central e doença gastrointestinal (CRONIN, 2017).

TABELA 12 – **Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/nasoentérica, ventilação mecânica invasiva e o escore prognóstico APACHE II. Teresina-PI, maio - agosto/2018.**

	Desfecho		(valor de p)
	com óbito		
	não	sim	
APACHE II (média)	20	25	0,001*
CVC (média)	24	34	0,001*
SVD (média)	25	36	0,001*
SNG/ SNE (média)	26	37	0,001*

Teste T Student para amostras independentes, *Significância estatística (p<0,05).

CVC: catéter venoso central, SVD: sonda vesical de demora; SNG/ SNE: sonda nasogástrica/sonda nasoentérica; Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores expressam as características clínicas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a todas as variáveis supracitadas, como média do escore APACHE II, média do número de dias em uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora e sonda nasogástrica/nasoentérica (teste t-Student para amostras independentes).

Quanto maior o número de dias com cateter venoso central, sonda vesical de demora e sonda nasogástrica/ nasoentérica, maior foi o desfecho com óbito na amostra. No presente estudo verificamos uma alta prevalência de uso de cateter venoso central (89%), sonda vesical de demora (95%) e sonda nasogástrica/ nasoentérica (97%) nos pacientes colonizados por KPC.

A resistência ao imipenem devido a blaKPC-2 dentre isolados de *Enterobacter* tem ocorrido e afetado particularmente pacientes com múltiplos dispositivos invasivos e tem sido associado com aumento da mortalidade (MARCHAIM, 2008).

O escore APACHE II foi superior a outros modelos investigados como preditor correto do *status* de sobrevivência em 83% dos estudos (GIROMETTI, 2014). O escore APACHE II > 15 foi preditor independente de mortalidade em 30 dias nos pacientes colonizados com KPC (LI, 2018).

TABELA 13 – **Preditores de mortalidade nos pacientes colonizados enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em relação às variáveis idade e uso de ventilação mecânica invasiva.** Teresina-PI, maio - agosto/2018.

	Desfecho com		(valor de p)
	óbito		
	não	sim	
Idade (média)	31	38	0,138
VM invasiva (média)	22	34	0,001*

Teste U de Mann-Whitney para amostras independentes - *Significância estatística ($p < 0,05$). VM: ventilação mecânica. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores expressam as características demográficas e clínicas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável média do número de dias em uso de ventilação mecânica invasiva, diferença essa que não foi evidente para a idade média (teste U de Mann-Whitney para amostras independentes).

Observamos na nossa amostra um predomínio de pacientes jovens com média de idade de 35 anos e observamos uma alta prevalência no uso de ventilação mecânica invasiva (86%). Enfatizamos que quanto maior o número de dias em ventilação mecânica maior foi o desfecho com óbito. Vale destacar que apesar da idade não evidenciar diferença significativa, houve um risco de óbito maior nos pacientes abaixo de 35 anos de idade.

Com relação à idade, sugere-se predomínio de colonização por KPC em idades mais avançadas, que foi um fator de risco independente para morte na amostra de um estudo chinês (JIAO, 2015). A idade maior que 60 anos foram fatores de risco independentes para morte em pacientes infectados por KPC em outra série (MAIO CARRILHO, 2016). Em nova série de casos, os fatores de risco para mortalidade em pacientes infectados por KPC foram idade, escore APACHE II na admissão e tratamento antimicrobiano inadequado (ZARKOTOU, 2011). Papadimitriou, 2014 observou que a idade e choque séptico foram independentemente associados com mortalidade nos pacientes infectados por KPC.

Considerando outros fatores de risco para colonização, foi verificado uma alta prevalência de uso de ventilação mecânica (81,3%) nos pacientes colonizados por KPC e associação da ventilação mecânica com mortalidade intrahospitalar (BORGES, 2015).

TABELA 14 – Uso de antimicrobianos e relação com desfecho clínico (óbito) nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018.

Antimicrobiano		Desfecho				(valor de P)
		com		óbito		
		não		sim		
		Nº	%	Nº	%	
Terapia antifúngica	não	21	100,00	26	78,79	0,024**
	sim	-	-	7	21,21	
Penicilina + inibidor de betalactamase	não	3	14,29	12	36,36	0,077
	sim	18	85,71	21	63,64	
Cefalosporina de 3ª ou 4ª geração	não	16	76,19	18	54,55	0,108
	sim	5	23,81	15	45,45	
Carbapenêmico	não	13	61,90	8	24,24	0,006*
	sim	8	38,10	25	75,76	
Aminoglicosídeo	não	19	90,48	24	72,73	0,114
	sim	2	9,52	9	27,27	
Quinolona	não	16	76,19	19	57,58	0,163
	sim	5	23,81	14	42,42	
Polimixina B	não	17	80,95	13	39,39	0,003*
	sim	4	19,05	20	60,61	
Metronidazol	não	21	100,00	24	72,73	0,009**
	sim	-	-	9	27,27	
Glicopeptídeo	não	13	61,90	11	33,33	0,039*
	sim	8	38,10	22	66,67	
Linezolida	não	20	95,24	29	87,88	0,363
	sim	1	4,76	4	12,12	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$); **N igual a zero em um dos parâmetros avaliados. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores expressam as características clínicas do grupo de pacientes que não apresentou o óbito como desfecho e o grupo que o apresentou. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável terapia antifúngica, carbapenêmico, polimixina B, metronidazol e glicopeptídeo, diferença essa que não foi evidente para penicilina + inibidor de beta-lactamase, cefalosporina de 3ª ou 4ª geração, aminoglicosídeo, quinolona e linezolida (teste qui-quadrado de Pearson).

Todas as drogas supracitadas são usadas para germes hospitalares e algumas delas para germes multi-droga resistentes. A terapia antifúngica é reservada principalmente para pacientes mais graves que não respondem às terapêuticas prévias (o que pode significar pacientes com mais probabilidade de evoluir com óbito), ou é instituída baseado resultados em culturas, mas observa-se que o isolamento de fungos nas amostras é menos comum (TAVARES, 2011).

O uso de penicilina + inibidor de beta-lactamase não mostrou relação significativa com mortalidade, mas vale ressaltar que esse grupo de medicamentos na maioria das vezes junto com as cefalosporinas de terceira ou quarta geração são a terapêutica inicial adotada na UTI. Quanto as cefalosporinas de quarta geração seu uso pode causar comprometimento neurológico (principalmente rebaixamento do nível de consciência). Desta forma seu uso apresentaria contraindicação relativa em UTI onde a maioria dos pacientes já apresenta comprometimento neurológico (TAVARES, 2011).

O uso de carbapenêmicos mostrou relação significativa com a mortalidade. Eles constituem uma terapêutica utilizada em caso de falha de esquemas medicamentosos anteriores e, portanto, seu uso indica em geral pacientes mais graves que não estão respondendo a terapêuticas previamente adotadas com doença de mais difícil controle (TAVARES, 2011).

As quinolonas (ex. ciprofloxacino) ocasionalmente são usadas para tratamento de infecções por *P. aeruginosa* em UTI quando sensíveis, na tentativa de postergar o uso de carbapenêmicos. Porém, pela sua penetração não adequada no pulmão, seu uso fica mais restrito ou necessita de doses mais altas, em um ambiente onde quase 70% das infecções são do trato respiratório inferior (TAVARES, 2011).

O uso de polimixina B também foi associado com mortalidade de modo significativo. Esta droga geralmente é usada como última alternativa para tratamento de patógenos multi-droga resistentes, na maior parte das vezes em associação com aminoglicosídeos ou carbapenêmicos. Ou seja, também são mais usadas em pacientes mais graves com maior probabilidade de evolução para óbito, além da medicação apresentar um grande potencial de toxicidade, principalmente renal (TAVARES, 2011).

O metronidazol foi relacionado com mortalidade na amostra, mas de modo semelhante à terapêutica antifúngica poucos pacientes o usaram e somente no grupo dos não sobreviventes. Dentre estes pacientes apenas um utilizou a medicação por abscesso cerebral, os demais usaram por quadro grave abdominal (na maioria das vezes necessitando também de múltiplas cirurgias) (TAVARES, 2011).

O uso de glicopeptídeo (vancomicina) também foi relacionado à mortalidade. Esta droga é indicada para tratamento de infecções por germes gram-positivos (MRSA), o que já fornece indícios da gravidade do quadro clínico com infecção por germes multi-drogas resistentes e portanto maior probabilidade de evolução para o óbito. Devido à baixa penetração no pulmão do glicopeptídeo é necessário o acompanhamento do nível sérico do mesmo (TAVARES, 2011).

A linezolida tem seu uso mais restrito para tratamento de infecções por MRSA pelo custo mais elevado e, geralmente, é usada para tratamento de infecções do trato respiratório inferior (TAVARES, 2011).

No estudo de Papadimitriou (2014) foi observado que a resistência à colistina, gentamicina ou tigeciclina foi independentemente associado com mortalidade nos pacientes infectados por KPC. A terapia com colistina prévia teve uma associação com o desenvolvimento de infecção por KPC resistente a colistina e naqueles isolados resistentes a colistina houve um aumento maior que 3 vezes na mortalidade em 30 dias (GIACOBBE, 2015). Viale, 2013, ressalta que o atraso na administração da terapêutica apropriada, está entre os fatores de risco mais comum para mortalidade em pacientes com infecção de corrente sanguínea por KPC, enquanto o controle do foco de infecção e a terapêutica antimicrobiana precoce está associado com sobrevida. Tumbarello, 2015, observou que a terapia antimicrobiana empírica inadequada e isolados

resistentes a colistina foram preditores independentes de mortalidade em 14 dias e além disso a terapia combinando pelo menos duas drogas com atividade “in vitro” contra o patógeno isolado foi associada com mortalidade mais baixa, principalmente naqueles com infecção de corrente sanguínea, infecções pulmonares ou presença de choque séptico no início da infecção e as combinações que incluíam meropenem foram associadas com taxa de sobrevivência significativamente mais altas quando o KPC isolado tinha um MIC < 8mg/dl. A terapia com colistina prévia está associada com o desenvolvimento de *K. pneumoniae* KPC resistente a colistina (GIACOBBE, 2015). Uma taxa de mortalidade significativamente mais alta foi observada nos pacientes tratados com monoterapia (TUMBARELLO, 2012). Girometti, 2014, sugere que a terapia empírica inadequada foi associada com uma taxa 2 vezes mais alta de mortalidade.

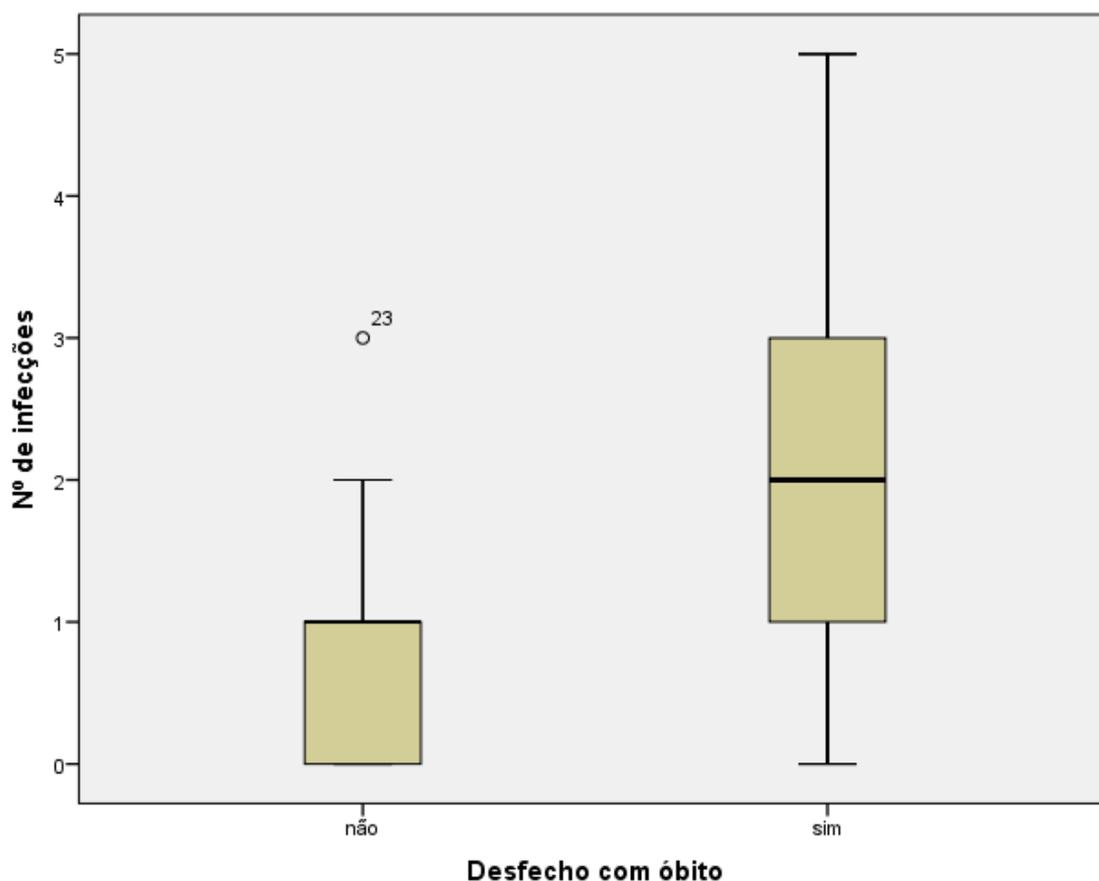


FIGURA 21. Número de infecções após colonização em função do desfecho para o óbito nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade Terapia Intensiva (UTI). Teresina-PI, maio - agosto/2018. Teste de Mann Whitney - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A figura mostra as medianas, os valores máximo e mínimo e a distribuição em quartis do número de infecções apresentadas após a colonização em função da presença ou ausência do óbito.

Sobre a posição dos dados foi evidenciado que no grupo dos pacientes com desfecho para o óbito a mediana está maior que no grupo dos sobreviventes. Foi observado uma maior dispersão dos dados no grupo que teve desfecho com óbito em relação ao grupo de sobreviventes. No grupo de sobreviventes observamos uma assimetria dos dados, pois a linha da mediana está na linha correspondente ao percentil 75 ou terceiro quartil e portanto os dados são assimétricos negativos, enquanto naqueles que não sobreviveram

observamos uma simetria dos dados, pois a mediana corresponde ao percentil 50. Observamos caudas maiores no grupo dos pacientes que foram à óbito. Foi observado *outlier* no grupo dos sobreviventes. Houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,001$; teste de Mann Whitney).

Conforme descrito anteriormente, os pacientes do estudo apresentaram poucas complicações não infecciosas, o que foi evidenciado em 35,19% dos pacientes, enquanto as complicações infecciosas acometeram 81,48% dos indivíduos do estudo. Diante da figura acima onde observamos correlação da presença e número de infecções com o desfecho para o óbito e em virtude da alta mortalidade dos pacientes, concluímos que a maior causa de óbito nesses pacientes foram infecções e principalmente àquelas não causadas por enterobactérias produtoras de carbapenemase.

5.4. Análise dos fatores associados a infecção por KPC nos pacientes colonizados

TABELA 15. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), segundo dados demográficos. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
Gênero	feminino	3	22	0,519
	masculino	2	27	
Faixa etária (anos)	18-34	1	30	0,115
	35-51	3	8	
	52-68	1	8	
	69-85	-	3	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores de idade são expressos por quatro intervalos equivalentes em anos, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e pacientes colonizados por KPC. Não foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável gênero e faixa etária (teste qui-quadrado de Pearson).

A maior parte dos estudos não revela diferença com significância estatística entre os gêneros, porém, alguns poucos estudos a observaram. Num centro de queimados a pesquisa de bactérias gram-negativas multi-drogas resistentes em *swabs* retais revelou que nas duas populações do estudo, o sexo feminino apresentou significância estatística para a colonização por KPC (BALJIN, 2016). Em uma UTI neonatal italiana foi descrita uma associação do gênero masculino como fator de risco de colonização por KPC (GIUFFRÈ, 2013). O sexo masculino foi um fator de risco maior para a colonização por KPC durante a internação na UTI (PAPADIMITRIOU, 2013). Em um grupo de 553 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca aberta, onde 6% dos pacientes apresentaram infecção por KPC, o gênero feminino foi associado com o desenvolvimento de infecção por KPC (SALSANO, 2016). O gênero feminino foi considerado uma

variável independente associado com infecção por KPC em um estudo espanhol (LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2017).

Com relação à idade, Baljin, 2016 observou uma diferença significativa na idade com predomínio de mais jovens em um centro de queimados. Em uma outra série de casos, pacientes mais jovens com trauma maior foram positivamente associados com colonização por KPC (MAMMINA, 2013).

TABELA 16. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao tempo de positivação do swab e tempo de internação na UTI. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
Tempo de internação	15-25	-	12	0,001*
	26-36	-	24	
	37-47	1	11	
	48-58	4	2	
Tempo de positivação de swab	10-18	1	12	0,004*
	19-27	1	30	
	28-36	1	6	
	37-45	2	1	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT)

Os valores de tempo de internação na UTI e tempo de positivação do swab foram expressos em quatro intervalos equivalentes em dias, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e pacientes colonizados por KPC. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a variável tempo de internação na UTI e tempo de positivação do swab (teste qui-quadrado de Pearson).

Dispositivos invasivos e duração da hospitalização foram fatores de risco associados à resistência aos carbapenêmicos em um estudo (BUDAK, 2014). A estadia na UTI, assim como o tempo de permanência na mesma foi considerado um fator de risco para a colonização por KPC em um estudo grego com 405 pacientes (PAPADIMITROU, 2012). A duração da permanência na UTI foi

considerado um fator de risco independente para colonização por enterobactérias produtoras de KPC (LIN, 2013). O tempo de estadia superior a 28 dias foi considerado um fator de risco para colonização por KPC (CRONIN, 2017). Echavarría, 2017, em um estudo argentino, observou que a permanência na UTI foi significativamente mais alta, assim como o status funcional foi pior nos pacientes colonizados por KPC.

TABELA 17. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao tempo de uso de dispositivos invasivos na UTI. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
CVC	10-21	-	10	0,001*
	22-33	-	27	
	34-45	2	12	
	46-57	3	-	
SVD	10-21	-	8	0,001*
	22-33	-	27	
	34-45	1	14	
	46-57	4	-	
SNG/ SNE	12-23	-	11	0,001*
	24-35	-	24	
	36-47	1	12	
	48-59	4	2	
VM invasiva	11-22	-	13	0,001*
	23-34	-	25	
	35-46	1	7	
	47-58	4	1	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). CVC: catéter venoso central, SVD: sonda vesical de demora; SNG/ SNE: sonda nasogástrica; VM: ventilação mecânica. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT)

Os valores de tempo de uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/ entérica e ventilação mecânica são expressos em quatro intervalos equivalentes em dias, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e

pacientes colonizados por KPC. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto a todas as variáveis (uso de cateter venoso central, sonda vesical de demora, sonda nasogástrica/ entérica e ventilação mecânica (teste qui-quadrado de Pearson).

No estudo de Papadimitriou, 2014 os fatores de risco para infecção por KPC foram o número de cateteres invasivos inseridos após o terceiro dia e a traqueostomia. O uso de dispositivos invasivos, presença de transfusões, ESBL e resistência a multi-drogas foram fatores de risco associados à resistência aos carbapenêmicos em outro estudo (BUDAK 2014). A remoção dos dispositivos invasivos relacionados à infecção foi um fator protetor na série de Freire, 2015. Considerando outros fatores de risco para colonização, foi verificada uma alta prevalência de uso de cateter venoso central (93,3%), sonda vesical de demora (88,0%) e sonda nasogástrica/ nasoentérica (86,7%) nos pacientes colonizados por KPC (BORGES, 2015). As variáveis associadas com colonização por KPC foram: colonização por enterococo resistente à vancomicina, uso de cateter venoso central e procedimentos invasivos (CRONIN, 2017). No estudo de Echavarría, 2017, a variável mais associada com colonização foi o uso de sonda nasogástrica/ nasoentérica. A ventilação mecânica foi considerada fator de risco independente para a colonização por enterobactérias produtoras de KPC (LIN, 2013). Considerando outros fatores de risco para colonização, foi verificada uma alta prevalência de uso de ventilação mecânica (81,3%) nos pacientes colonizados por KPC (BORGES, 2015).

TABELA 18. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao escore APACHE II, necessidade de terapia de substituição renal e nutrição parenteral total. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
Escore APACHE II	13-18	-	11	0,205
	19-24	1	20	
	25-30	4	16	
	31-36	-	2	
Terapia de substituição renal	não	-	26	0,024*
	sim	5	23	
Nutrição parenteral total	não	2	41	0,021*
	sim	3	8	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina

Os valores do escore APACHE II são expressos em quatro intervalos equivalentes, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e pacientes colonizados por KPC. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto as seguintes variáveis: terapia de substituição renal e nutrição parenteral total, porém não foi observado diferença com significância para a variável escore APACHE II (teste qui-quadrado de Pearson).

O *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score* (APACHE II) foi associado de forma independente com a colonização por *K. pneumoniae* produtora de KPC (MOULOUDI, 2010).

A duração da nutrição parenteral total foi um fator de risco associado à resistência aos carbapenêmicos em outro estudo (BUDAK, 2014).

TABELA 19. Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao uso de antimicrobianos. Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
Terapia antifúngica	não	2	45	0,001*
	sim	3	4	
Penicilina + inibidor de betalactamase	não	3	12	0,091
	sim	2	37	
Cefalosporina de 3ª ou 4ª geração	não	4	30	0,408
	sim	1	19	
Carbapenêmico	não	-	21	0,061
	sim	5	28	
Aminoglicosídeo	não	2	41	0,021*
	sim	3	8	
Quinolona	não	1	34	0,028*
	sim	4	15	
Polimixina B	não	-	30	0,009*
	sim	5	19	
Metronidazol	não	2	43	0,006*
	sim	3	6	
Glicopeptídeo	não	-	24	0,036*
	sim	5	25	
Linezolida	não	5	44	0,453
	sim	-	5	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina – HUT

O uso de terapia antimicrobiana (antifúngico, penicilina + inibidor de beta-lactamase, cefalosporina de 3ª ou 4ª geração, carbapenêmico, aminoglicosídeo, quinolona, polimixina B, metronidazol, glicopeptídeo e linezolida) são expressos, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e pacientes colonizados por KPC. Foi observada diferença significativa entre os grupos quanto as seguintes variáveis: antifúngico, aminoglicosídeo, quinolona, polimixina B, metronidazol e glicopeptídeo, porém não foi observado diferença com significância para as variáveis penicilina + inibidor de beta-lactamase, cefalosporina de 3ª e 4ª geração, carbapenêmico e linezolida (teste qui-quadrado de Pearson).

No estudo de Papadimitriou (2014) a administração de aminoglicosídeo foi considerada um fator de risco para infecção por KPC. Gasink, 2009, observou que uso de fluorquinolona prévia e de cefalosporina com amplo espectro foram fatores de risco independentes para colonização por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC. A internação na UTI, doença pulmonar obstrutiva crônica, uso prévio de carbapenêmicos e de beta lactâmicos/ inibidor de beta-lactamase foram fatores de risco associados à colonização com KPC em outras séries de casos. Para pacientes de enfermaria a hospitalização prévia em UTI, o número de comorbidades e o número de antimicrobianos administrados foram fatores de risco para colonização com KPC (PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, 2012). Em um estudo grego, a colonização por KPC foi associada com o número de antibióticos administrados nos pacientes com permanência na UTI acima de 5 dias (PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, 2015). A exposição a antibióticos de amplo espectro também foi sugerido como um fator de risco significativo para colonização por KPC (CRONIN, 2017). A exposição aos glicopeptídeos, cefoperazona + sulbactam foram fatores de risco independentes para infecção/colonização por KPC, em um estudo chinês (JIAO, 2015).

TABELA 20. **Comparação entre pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), quanto ao desfecho com óbito.** Teresina-PI, maio - agosto/2018.

		Infecção	Colonização	valor de P
Desfecho com óbito	não	-	21	0,061
	sim	5	28	

Teste qui-quadrado de Pearson - *Significância estatística ($p < 0,05$). Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina – HUT

O desfecho com óbito é expresso, assim como a distribuição dos pacientes em números absolutos nas variáveis dos dois grupos: pacientes infectados e pacientes colonizados por KPC. Não foi observada diferença significativa entre os grupos (teste qui-quadrado de Pearson).

Um estudo revela que o isolamento de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC foi um preditor independente de morte em UTI e intra-hospitalar, mas não de morte atribuída a infecção (MOLOUDI, 2010).

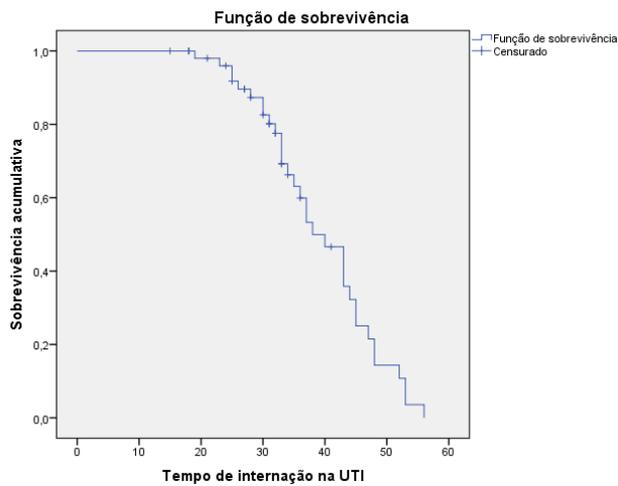


FIGURA 22 – Função de sobrevivência nos pacientes com infecção e colonização por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

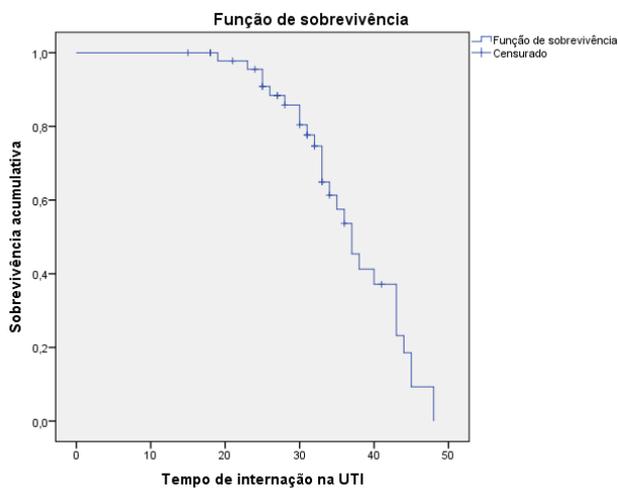


FIGURA 23 – Função de sobrevivência nos pacientes colonizados por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

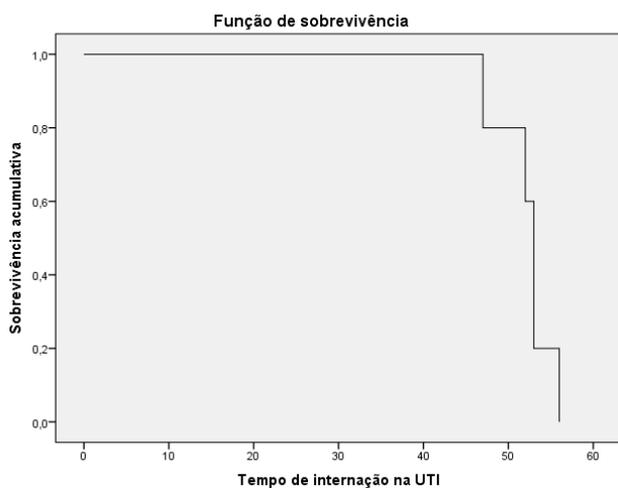


FIGURA 24 – Função de sobrevivência nos pacientes infectados por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A análise de sobrevivência será de importância clínica na avaliação do tempo de internação na UTI e a sobrevivência. O cálculo de sobrevivência é útil pois, quando o estudo termina, podemos não saber se um determinado participante está vivo ou morto, mas sabemos que ele ou ela estava vivo pelo menos até a última avaliação e além disso outros podem ser acompanhados por um período menor, porque eles entraram no estudo em uma fase posterior. Na análise de sobrevivência, os dados referentes aos participantes da amostra que não desenvolveram o evento até o final do estudo ou tiveram perda de acompanhamento são censurados: eles contribuem para a análise até o último momento em que os investigadores sabiam que os participantes ainda estavam vivos. A análise de sobrevivência utiliza probabilidade condicional; ou seja, a probabilidade de sobreviver até um determinado momento, dado que o sujeito estava vivo no início de um intervalo de tempo especificado. O método de Kaplan-Meier foi utilizado para estimar a probabilidade de sobrevivência em vários intervalos de tempo e para ilustrar graficamente a sobrevivência ao longo do tempo.

Durante o período analisado do estudo 61,11% dos pacientes evoluíram para o óbito (N = 33). As Figuras 22, 23 e 24 mostra a curva de sobrevivência da população estudada durante a internação hospitalar. Com relação à função de sobrevivência representada na curva de Kaplan-Meier correlacionando na abscissa o tempo de internação na UTI, e na ordenada a sobrevivência acumulativa, observou-se que à medida que o tempo de permanência na UTI aumenta, a possibilidade de sobrevivência diminui e à medida que a estadia na UTI aumenta, eleva-se a chance de óbito.

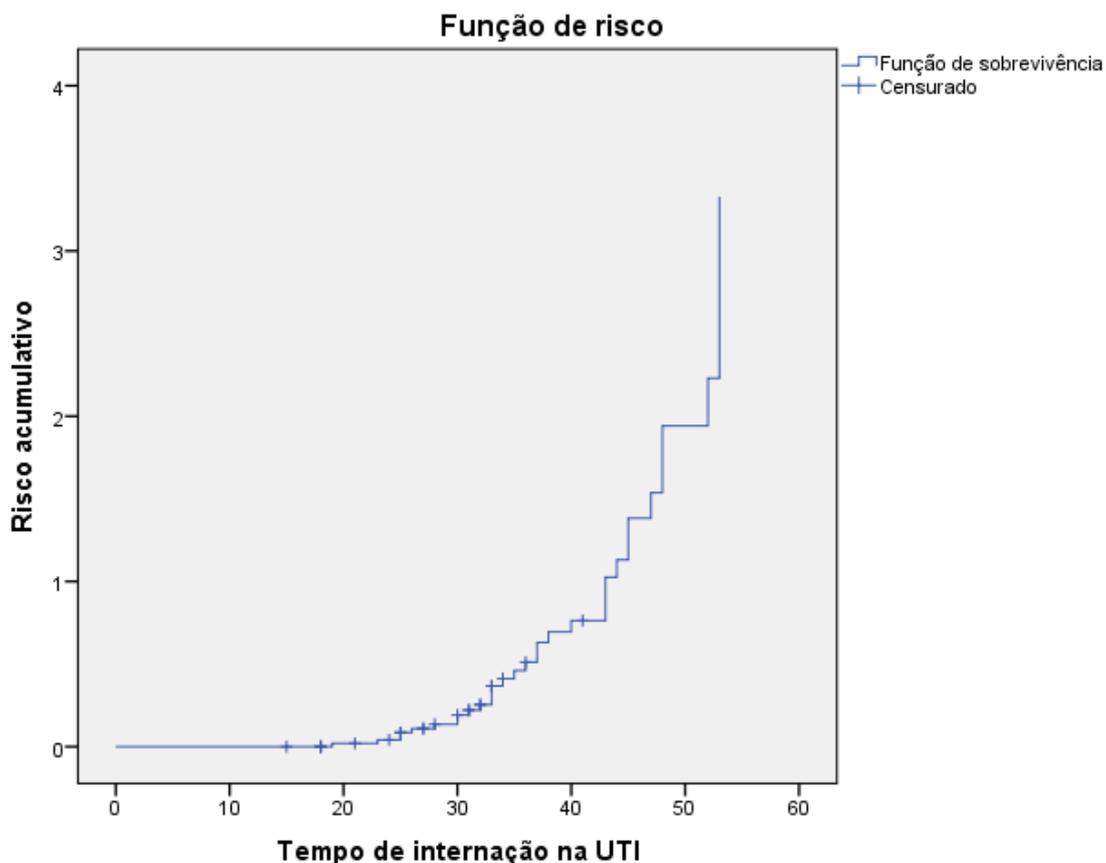


FIGURA 25 – Função de risco nos pacientes colonizados e infectados por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio - agosto/ 2018. Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

A função de risco proporciona uma medida da probabilidade de falha, ou seja do indivíduo não está vivo, como uma função de quantidade de tempo em que uma população tenha sobrevivido. O gráfico mostra uma tendência de falha ao longo do tempo. No caso acima a taxa de falha ao longo do tempo está aumentando, sugerindo que o risco crescente normalmente acontece nas fases mais avançadas do tempo de internação na UTI.

5.5. Descrição da letalidade geral entre os pacientes infectados e colonizados por KPC.

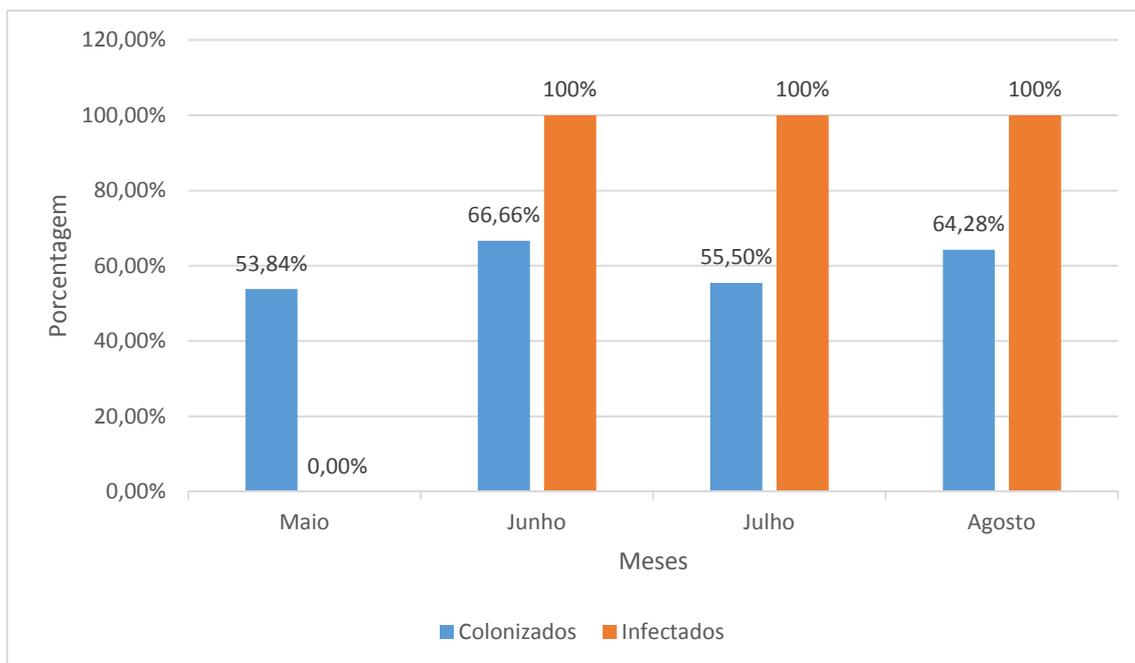


FIGURA 26: Taxa de letalidade entre os pacientes colonizados e infectados por enterobactérias produtoras de *Klebsiela pneumoniae* carbapenemase em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Teresina – PI, maio – agosto/ 2018. Fonte: Arquivo SAME – Hospital de Urgência de Teresina (HUT).

Os valores de letalidade nos pacientes colonizados são expressos como uma relação do número de óbitos para o número de pacientes colonizados. Foi avaliada a letalidade nos quatro meses do estudo com uma média de 61,11%.

No nosso estudo observamos uma letalidade geral de 61% e possivelmente o percentual elevado de uso de antibióticos, procedimentos invasivos, longo período de internação, aliados a um número elevado de pacientes com maior gravidade (APACHE > 15) contribuíram de forma significativa para a elevada mortalidade encontrada na amostra como um todo.

Um estudo brasileiro que avaliou pacientes colonizados por KPC durante 4 meses, observou que 56% desses pacientes evoluíram para o óbito (BORGES, 2015).

Os valores de letalidade nos pacientes infectados são expressos como uma relação do número de óbitos para o número de pacientes infectados. Foi avaliada a letalidade nos quatro meses do estudo com uma média de 100%.

Alguns estudos associam uma mortalidade em pacientes infectados entre 30 a 50% (CORREA, 2013). Papadimitriou et al observou uma mortalidade em 30 dias nos pacientes com infecção de corrente sanguínea por KPC de aproximadamente 43,4% (PAPADIMITRIOU-OLIGVERIS, 2014). Na avaliação de preditores de mortalidade em infecções de corrente sanguínea por KPC, Viale et al, observou uma letalidade em 50% dos casos (VIALE, 2013). Outro estudo para avaliação da importância da terapia combinada observou uma mortalidade global em 30 dias de 41,6% entre os infectados por KPC (TUMBARELLO, 2012). Em um estudo durante 4,5 anos as KPCs resistentes a colistina isoladas no sangue aumentaram em mais de 3 vezes e a mortalidade em 30 dias foi de 51% (GIACOBBE, 2015). Moloudi, 2010, revela que o isolamento de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC foi um preditor independente de morte em UTI e intra-hospitalar, mas não de morte atribuída a infecção.

6.0. CONCLUSÕES

Através da análise dos resultados do presente estudo podemos inferir que:

1. Houve um predomínio de pacientes do sexo masculino, jovens, com causas de internação relacionadas ao trauma e com poucas comorbidades;
2. Os pacientes colonizados e infectados por enterobactérias produtoras de KPC apresentam elevadas taxas de incidência cumulativa e bruta;
3. A terapia de substituição renal, índices prognósticos indicadores de gravidade, como o escore APACHE II, o tempo de internação na UTI, o tempo de positivação do *swab*, o uso de dispositivos invasivos (CVC, SVD, SNG/ SNE e ventilação mecânica), o uso de carbapenêmicos, polimixina B e glicopeptídeos e a ocorrência e o número de infecções foram preditores de mortalidade entre os pacientes colonizados por KPC;
4. O tempo de internação na UTI, o tempo de positivação do *swab* para KPC, o uso de dispositivos invasivos (CVC, SVD, SNG/ SNE e ventilação mecânica), a terapia de substituição renal, a nutrição parenteral total e o uso de aminoglicosídeos, quinolonas, polimixina e glicopeptídeos foram associados ao risco de infecção por KPC dentre os pacientes colonizados;
5. O isolamento de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase foi preditor independente de mortalidade na UTI, mas não de morte atribuída a infecção.
6. Os pacientes colonizados e infectados por KPC apresentam letalidade intra-hospitalar elevada.

7.0. PERSPECTIVAS

Na amostra analisada foi encontrado predomínio de pacientes jovens, com causas de internação relacionadas ao trauma. O uso de dispositivos invasivos (CVC, SVD, SNG/ SNE e ventilação mecânica), além da terapia de substituição renal e uso de antimicrobianos, principalmente carbapenêmico, polimixina B e glicopeptídeo e o tempo de internação na UTI, foram preditores de mortalidade entre os pacientes colonizados, assim como fatores de risco para o desenvolvimento de infecção por KPC entre os mesmos.

Esse estudo apresenta algumas limitações. Esta é uma amostra pequena e selecionada de pacientes na UTI colonizados por KPC em um hospital de nível terciário. Além disso, é um estudo retrospectivo com limitação na confiabilidade na coleta dos dados. Faz-se necessária a avaliação de uma população pareada (controles) para descobrir se a colonização por si só seria um marcador de risco realmente relevante para mortalidade em nossa instituição.

Para os estudos com o mesmo desenho que nos sucedam seria interessante um maior período de observação, para que seja alcançado um número maior de pacientes e assim avaliar com maior segurança os fatores de risco para mortalidade e infecção, pois o número inferior a cinco pode prejudicar a análise de alguns antimicrobianos como preditores de mortalidade, assim como um pequeno número de infectados pode interferir na avaliação dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de infecção nos pacientes colonizados.

Apesar do protocolo existente para coleta dos swabs, o mesmo não é feito e assim estamos diagnosticando no HUT somente os pacientes infectados por KPC, os quais correspondem a aproximadamente 9% dos pacientes colonizados, permanecendo mais de 90% dos pacientes colonizados desconhecidos apesar de potenciais para a disseminação de germes multirresistentes (KPC), interferindo na implementação de medidas de prevenção mais específicas.

8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS M. D., GOGLIN K., MOLYNEAUX N., HUJER K. M., LAVENDER H., JAMISON J. J., CAMPAGNARI A. A. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Bacteriology**, 190(24), 2008. p. 8053-8064.

ADLER A., NAVON-VENEZIA S., MORAN-GILAD J., MARCOS E., SCHWARTZ D., CARMELI Y. Laboratory and clinical evaluation of screening agar plates for detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from surveillance retail swabs. **Journal of Clinical Microbiology**, 49(6), 2011. p. 2239-2242.

AFZAL-SHAH M., WOODFORD N., LIVERMORE D. M. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(2), 2001. p. 583-588.

AIHIDRON J. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 29, 2008. p. 996-1011.

ALEKSHUN M. N., LEVY S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, 128(6), 2007. p. 1037-1050.

ALMIRAL J., LIAPIKOU A., FERRER M. et al. Lower Airway Infection. In: SAENE H. K. F. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 219-232.

ANDERSON K., LONSWAY D., RASHEED J., BIDDLE J., JENSEN B., MCDUGAL L., LIMBAGO B. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. **Journal of clinical microbiology**, 45(8), 2007. p. 2723-2725.

ANTUNES N. T., LAMOUREAUX T. L., TOTTH M., STEWART N. K., FRASE H., VAKULENKO S. B. Class D beta-lactamases: are they all carbapenemases? **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 58(4), 2014. p. 2119-2125.

ARAKAWA Y., MURAKAMI M., SUZUKI K. ITO H., WACHAROTAYANKUN R., OHSUKA S., OHTA M. A novel integron-like element carrying the metallo-beta-lactamase gene *bla_{IMP}*. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, 39(7), 1995. p. 1612-1615.

ARNOLD R. S., THOM K. A., SHARMA S., PHILLIPS M., JOHNSON J. K., MORGAN D. J. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing bacteria. **Southern Medical Journal**, 104(1), 2011. p. 40.

AUBERT D., NAAS T., NORDMANN P. IS1999 increases expression of the extended-spectrum beta-lactamase VEB-1 in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, 185(17), 2003. p. 5314-5319.

BAHAR G., MAZZARIOL A., KONCAN R., MERT A., FONTANA R., ROSSOLINI G. M. CORNAGLIA G. Detection of VIM-5 metallo-beta-lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 54(1), 2004. p. 282-283.

BALJIN B., BALDAN G., CHIMEDDORJ B., TULGAA K., GUNCHIN B., SANDAG T., PFEFFER K., MACKENZIE C. R., WENDEL A. F. Faecal Carriage of Gram-Negative Multidrug-Resistant Bacteria among Patients Hospitalized in Two Centres in Ulaanbaatar, Mongolia. **PLoS One**, 11(12), 2016 Dec: e0168146. doi: 10.1371/journal.pone.0168146.

BANERJEE R., HUMPHRIES R. Clinical and laboratory considerations for the rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **Virulence** (just-accepted), 2016, 00-00.

BARTOLINI A., FRASSON I. CAVALLARO A., RICHTER S. N., PALÙ G. Comparison of phenotypic methods for the detection of carbapenem non-susceptible Enterobacteriaceae. **Gut pathogens**, 6(1), 2014. p. 1.

BASSETTI M., PEGHIN M., PECORI D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **Current Opinion in Infectious Diseases**, 2016.

BEBRONE C. Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. **Biochemical pharmacology**, 74(12), 2007. p. 1686-1701.

BENNETT J. W., HERRERA M. L., LEWIS J. S., WICKES B. W., JORGENSEN J. H. KPC-2-producing *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas putida* confection in a liver transplant recipient. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 53(1), 2009. p. 292-294.

BERTINI A., POIREL L., BERNABER S., FORTINI D., VILLA L., NORDMANN P., CARATTOLI A. Multicopy blaOXA-58 gene as a source of high-level resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 51(7), 2007. p. 2324-2328.

BILAVSKY E., SCHWABBRE M. J., CARMELIY. How to stem the tide of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae?: proactive versus reactive strategies. **Current opinion in Infectious Diseases**, 23(4), 2010. p. 327-331.

BOGAERTS P., YUNUS S., MASSART M., HUANG T.-D., GLUPCZYNSKI Y. Evaluation of the BYG Carba test, a new electrochemical assay for rapid laboratory detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Journal of Clinical Microbiology**, 54(2), 2016. p. 349-358.

BONNIN R. A., NAAS T., POIREL L., NORDMANN P. Phenotypic, biochemical, and molecular techniques for detection of metallo-beta-lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of clinical Microbiology**, 50(4), 2012. p. 1419-1421.

BONNIN R. A., POIREL L., NORDMANN P. Abad-Type transposon structures in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 67(1), 2011. p. 234-236.

BONNIN R. A., ROTIMI V. O., AL HUBAIL M., GASIOROWSKI E., AL SWEIH N., NORDMANN P., POIREL L. Wide dissemination of GES-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in Kuwait. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 2012. AAC. 01384-01312.

BONOMO R. A., SZABO D. Mechanisms of multidrug-resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. **Clinical Infectious Diseases**, 43(Supplement_2), 2006. S49-S56.

BORA A., SANJANA R., JHA B. K., MAHASETH S. N., POKHAREL K. Incidence of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in central Nepal. **BMC research notes**, 7(1), 2014. p. 1.

BORGES F. K., MORAES T. A., DREBES C. V., SILVA A. L., CASSOL R., FALCI D. R. Characteristics of patients colonized by KPC-producing Enterobacteriaceae in a tertiary hospital from Porto Alegre, Brazil. **Clin Biomed Res**, 35(1), 2015. p. 20-26.

BOSSCHA K., VAN VROONHOVEN J. M. V., VAN DER WERKEN C. Surgical management of severe secondary peritonitis. **Br J Surg** 86, 1999. p. 1371-1377.

BOUCHER H. W., TALBOT G. H., BRADLEY J. S., EDWARDS J. E., GILBERT D., RICE L. B., BARLETT J. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 48(1), 2009. p. 1-12.

BOU G., OLIVER A., MARTÍNEZ-BELTRÁN J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in *Acinetobacter baumannii* clinical strain. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 44(6), 2000. p. 1556-1561.

BRADFORD P. A., URBAN C., MARIANO N., PROJAN S. J., RAHAL J. J., BUSH K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the boss of an outer membrane protein. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 41(3), 1997. p. 563-569.

BRINAS L., LANTERO M., ZARAZAGA M et al. Outbreak of SHV-5 beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in neonatal-pediatric intensive care unit in Spain. **Microb Drug Res** 10, 2004. p. 354-358.

BRUNKHORST F. M., OPPERT M., MARX G., BLOOS F., LUDEWIG K., PUTENSEN C., WEYLAND A. Effect of empirical treatment with moxifloxacin and meropenem vs meropenem on sepsis-related organ dysfunction in patients with severe sepsis: a randomized trial. **Jama**, 307 (22), 2012. p. 2390-2399.

BUDAK S., ONCUL O., AKTAS Z., ACAR A., OZYURT M., TURHAN V., ERDEM H., GORENEK L. The determination of carbapenem resistance in *Escherichia coli* and *Pneumoniae* isolates related to nosocomial infections and the evaluation of risk factors. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, 45(1), 2014 Jan. p. 113-22.

BUSH K. Alarming beta-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **Current Opinion in Microbiology**, 13(5), 2010. p. 558-564.

BUSH K., JACOBY G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 54(3), 2010. p. 969-976.

BYARUGABA D. Antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. **International journal of antimicrobial agents** 24, 2004. p. 105-110.

CANTON R. Role of clinical microbiology laboratory in prevention of carbapenemase producing Enterobacteriaceae (CPE), 2015.

CASTANHEIRA M., DESHPANDE L. M., COSTELLO A., DAVIES T. A., JONES R. N. Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009-11 in 14 European and Mediterranean countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 69(7), 2014. p. 1804-1814.

CDC. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Healthcare Settings. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/>, 2016.

CHASTRE J., FAGON J. Y. Ventilator-associated pneumonia. **Am J Respir Crit Care Med** 165, 2002. p. 867-903.

CHAVDA K. D., CHEN L., JACOBS M. R. ET AL. Molecular diversity and plasmid analysis of KPC-producing *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2016.

CHITNIS A. S., CARUTHERS P. S., RAO A. K., LAMB J., LURVEY R., De ROCHARS V. B., GUH A. Y. Outbreak of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae at a long-term acute care hospital: sustained reductions in transmission through active surveillance and targeted interventions. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, 33(10), 2012. p. 984-992.

COOPER M. Prevention of infection in special wards and departments-critical care units. In: FRAISE A. P., BRADLEY C. **Ayliffe's control of healthcare-associated infection**, 5th end. Hodder Arnold, Kent, 2009.

COOPERSMITH C. M., STROMBERG P. E., DAVIS C. G. et al. Sepsis from *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and reduces gut epithelial cell cycle arrest. **Crit Care Med** 39, 2003. p. 1630-1637.

CORNAGLIA G., GIAMARELLOU H., ROSSOLINI G. M. Metallo-beta-lactamases: a last fronteira for beta-lactams? **The Lancet infectious diseases**, 11(5), 2011. p. 381-393.

CORNAGLIA G., RICCIO M., MAZZARIOL A., LAURETTI L., FONTANA R., ROSSOLINI G. Appearance of IMP-1 metallo-beta-lactamase in Europe. **The Lancet**, 353 (9156), 1999. p. 899-900.

CORREA L., MARTINO M. D., SIQUEIRA I., PASTERNAK J., GALES A. C., SILVA C. V, et al. A hospital-based matched case-control study to identify clinical outcome ns risk factors associated with carbapenem-resistant *Klebsiela pneumoniae* infection. **BMC Infect Dis**, 13(1), 2013. P. 80.

CRONIN K. M., POE LORENZO Y. S., OLENSKI M. E., BLOCH A. E., VISVANATHAN K., WATERS M. J., BRUISING K. L. Risk factors for KPC-producing Enterobacteriaceae acquisition and infection in a healthcare setting with possible local transmission: a case-control study. **J Hosp Infect**, 96(2), 2017 jun. p. 111-115. doi: 10.1016/j.jhin.2017.02.010.

D'AGATA E. M. C., VENKATARAMAN L., DE GIROLAMI P et al. Colonization with broad-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative bacilli in intensive care units during a non outbreak period: prevalence, risk factors, and rate of infection. **Crit Care Med** 27, 1999. p. 1090-1095.

DAHAB R. A.; IBRAHIM E. M. Introduction & Literature Review. In: **Carbapenem Resistant Gram-negative Bacilli: a real life threat**. First Edition. Beau Bassin, 2017. p. 6-7.

DAHAB R. A., IBRAHIM E. M. Racional and Objectives. In: **Carbapenem Resistant Gram-negative Bacilli: a real life threat**. First Edition. Beau Bassin, 2017. p. 1-13.

DAMJANOVIC V., CORBELLA X., VAN DER SPOEL J. I., SAENE H. K. F. Outbreaks of infection in intensive care units - usefulness of molecular techniques for outbreak analysis. In: SAENE H. K. F. **Infection control in the intensive care unit**. 2nd Edition. Springer, Milan, 2005. p. 247-296.

DAMJANOVIC V., TAYLOR N., WILLIETS T., et al. Outbreaks of Infection in the ICU: What`s up at the Beginning of the Twenty-First Century? In: SAENE H. K. F. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 189-202.

DÁREZZO S., CAPONE A., PETROSILLO N., VISCA P. Epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* related to European clonal types I and II in Rome (Italy). **Clinical Microbiology and Infection**, 15(4), 2009. p. 347-357.

DAVIES J., DAVIES D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 74, 2010. p. 417-433.

DEL FRANCO M., PAONE L., NOVATI R., GIACOMAZZI C. G., BAGATTINI M., GALOTTO C., ZARRILLI R. Molecular epidemiology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in Valle d'Áosta region, Italy, shows the emergence of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 101 (ST101 and ST 1789). **BMC Microbiology**, 15(1), 2015. p. 260.

DEPARTMENT OF HEALTH. Going further faster: implementing the saving lives delivery programme sustainable change for cleaner safer care. **Department of Health**, London, 2006.

DEPARTMENT OF HEALTH. **Infection prevention and control in adult critical care reducing the risk of infection through best practice**. Department of Health, London, 2006.

DESHPANDE L. M., JONES R. N., FRITSCH T. R., SADER H. S. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004). **Microbial Drug Resistance**, 12(4). p. 223-230.

DIANCOURT L., PASSET V., VERHOEF J., GRIMONT P. A., BRISSE S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, 43(8), 2005. p. 4178-4182.

DIENE S. M., ROLAIN J.-M. Investigation of antibiotic resistance in the genomic era of multidrug-resistant Gram-negative bacilli, especially Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, 11(3), 2013. p. 277-296.

DUBOIS V., POIREL L., MARIE C., ARPIN C., NORDMANN P., QUENTIN C. Molecular characterization of a novel class 1 integron containing blaGES-1 and a fused product of aac (3)-Ib/aac 6"-Ib"gene cassettes in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46(3), 2002. p. 638-645.

DESOUKI D. G (1). CPE: A Global Health Threat. In: **Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (CPE)**. First Edition. Cairo, Egypt, 2016. p. 7-16.

DESOUKI, D. G (2). CPE: A Challenge to Combat. In: **Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (CPE)**. First Edition. Cairo, Egypt, 2016. p. 27-42.

DESOUKI D. G (3). CPE: A Middle East Crisis. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (CPE). First Edition. Cairo, Egypt. 2016. p. 17-26.

DIJKSHOORN L., NEMEC A., SEIFERT H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12), 2007. p. 939-951.

DJAHMI N., DUNYACH-REMY C., PANTEL A et al. Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. **BioMed Research International**, 2014.

DORTET L., POIREL L., NORDMANN P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. **BioMed Research International**, 2014.

DRAWZ S. M., BABIC M., BETHEL C. R., TARACILA M., DISTLER A. M., ORI C., BONOMO R. A. Inhibition of the class C beta-lactamase from *Acinetobacter* spp.: insights into effective inhibitor design. **Biochemistry**, 49(2), 2009. p. 329-340.

ECHAVARRÍA G. L. GUEVARA NUÑEZ D., BERTONA E., DE PAULIS A. N., PREDARI S. C., BENCHETRIT G. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* colonization at a University Hospital. *Medicina (B. Aires)*, 77(2), 2017. p. 105-110.

ELLIOTT E., BRINK A. J., VAN GREUNE J., ELS Z., WOODFORD N., TURTON J., LIVERMORE D. M. In vivo development of ertapenem resistance in a patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum beta-lactamase. **Clinical Infectious Diseases**, 42(11), 2006. p. 95-98.

ENDIMIANI A., DOI Y., BETHEL C. R., TARACILA M., ADAMS-HADUCH J. M., O'KEEFE A., PAGE M. G. Enhancing resistance to cephalosporins in class C beta-lactamases: impact of Gly214Glu in CMY-1. **Biochemistry**, 49(5), 2010. p. 1014-1023.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL meeting report: expert consultation on healthcare associated infection prevention and control. ECDC Stockholm, 2010.

FALAGAS M. E., KASTORIS A. C., KAPASKELIS A. M., KARAGEORGOPOULOS D. E. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. **The Lancet Infectious Diseases**, 10(1), 2010. p. 43-50

FARRA A., ISLAM S. STRALFORS A., SORBERG M., WRETLIND B. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 31(5), 2008. p. 427-433.

FEIZABADI M., FATHOLLAHZADEH B., TAHERIKALANI M., RASOOLINEJAD M., SADEGHIFARD N., ALIGHOLI M., MOHAMMADI-YEGANE S. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among *Acinetobacter*

spp. isolated from patients at Tehran hospitals. **Jpn J Infect Dis**, 61(4), 2008. p. 274-278.

FELTIS B. A., WELLS C. L. Does microbial translocation play a role in critical illness? **Curr Opin Crit Care** 6, 2000. p. 117-122.

FERNÁNDEZ-CUENCA F., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ L., CONEJO M. C., AYALA J. A., PEREA E. J., PASCUAL A. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 51(3), 2003. p. 565-574.

FRAISE A. P., BRADLEY C. **Ayliffe's control of healthcare-associated infection**, 5th end. Hodder Arnold, Kent UK, 2009.

FREIRE M. P., PIERROTTI L. C., FILHO H. H., IBRAHIM K. Y., MAGRI A. S., BONAZZI P. R., HAJAR L., PEREIRA J., HOFF P. M., ABDALA E. Infection with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae* in cancer patients. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 34(2), 2015 Feb. p. 277-286. doi: 10.1007/s10096-014-2233-5.

FOURNIER, P.-E., DRANCOURT M., RAOULT D. Bacterial genome sequencing and its use in infectious diseases. **The Lancet Infectious Diseases**, 7(11), 2007. p. 711-723.

FOURNIER, P.-E., VALLENET D., BARBE V., AUDIC S., OGATA H., POIREL L., ABERGEL C. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **PLoS genetics**, 2(1), 2006, e7.

FUKATSU K., SAKAMOTO S., HARA E. et al. Gut ischemia-reperfusion affects gut mucosal immunity: a possible mechanism for infectious complications after severe surgical insults. **Crit Care Med** 34, 2005. p. 182-187.

FUSTÉ E., LÓPEZ-JIMÉNEZ L., SEGURA C., GAINZA E., VINUESA T., VIÑAS M. carbapenem-resistance mechanisms of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Medical Microbiology**, 62(9), 2013. p. 1317-1325.

GAMAL D., FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ M., SALEM D et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Egypt containing bla_{NDM-1} on IncR plasmids and its association with rmtF. *International Journal of Infectious Diseases*, 2016. 43. p. 17-20.

GARNER J. S., JARVIS W. R., EMORI T. G. et al. CDC definitions for nosocomial infections. **Am J Infect Control** 16, 1988. p. 128-140.

GASINK L. B., EDELSTEIN P. H., LAUTENBACH E., SYNNESTVEDT M., FISHMAN N. O. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 30(12), 2009 Dec. p. 1180-1185. doi: 10.1086/648451.

GIACOBBE D. R., DEL BONO V., TRECARICHI E. M., DE ROSA F. G., GIANNELLA M., BASSETTI M., BARTOLONI A., LOSITO A. R., CORCIONE S., BARTOLETTI M., MANTENGOLI E., SAFFIOTI C., PAGANI N., TEDESCHI S., SPANU T., ROSSOLINI G. M., MARCHESE A., AMBRETTI S., CAUDA R., VIALE P., VISCOLI C., TUMBARELLO M. Risk factors for bloodstream infections due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: results from a multicenter case-control-control study. **Clin Microbiol Infect**, 21(12), 2015 Dec. P. 1106.e1-8. doi: 10.1016/j.cmi.2015.08.001.

GIAMARELLOU H., ANTONIADOU A., KANELLAKOPOULOU K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? **International Journal of Antimicrobial Agents**, 32(2), 2008. p. 106-119.

GIAMARELLOU H., POULAKOU G. Multidrug-resistant gram-negative infections. **Drugs**, 69(14), 2009. p. 1879-1901.

GIANNOULI M., TOMASONE F., AGODI A., VAHABOGLU H., DAOUD Z., TRIASSI M., ZARRILLI R. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in intensive care units of multiple Mediterranean hospitals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 63(4), 2009. p. 828-830.

GILLINGS M. R. Integrons: past, present, and future. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 78(2), 2014. p. 257-277.

GIRMENIA C., SERRAO A, CANICHELLA M. Epidemiology of Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infections in Mediterranean Countries. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, 2016.

GIROMETTI N., LEWIS R. E., GIANNELLA M., AMBRETTI S., BARTOLETTI M., TEDESCHI S., TUMIETTO F., CRISTINI F., GAIBANI P., VIALE P. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: epidemiology and impact of inappropriate empirical therapy. **Medicine (Baltimore)**, 93 (17), 2014 Oct. p. 298-309. doi: 10.1097/MD.000000000000111.

GISKE C. G., BUARO L., SUNDSFJORD A., WRETLIND B. Alterations of porin, pumps, and penicillin-binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Drug Resistance**, 14(1), 2008. p. 23-30.

GIUFFRÈ M., BONURA C., GERACI D. M., SAPORITO L., CATALANO R., DI NOTO S., NOCIFORO F., CORSELLO G., MAMMINA C. Successful control of an outbreak of colonization by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing K. pneumoniae sequence type 258 in a neonatal intensive care unit, Italy. **J Hosp Infect**, 85(3), 2013 Nov. p. 233-236. doi: 10.1016/j.jhin.2013.08.004.

GRIBUN A., NITZAN Y., PECHATNIKOV L., HERSHKOVITS G., KATCOFF D. J. Molecular and structural characterization of the HMP-AB gene encoding a pore-forming protein from a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. **Current Microbiology**, 47(5), 2003. p. 434-443.

GULMEZ D., WOODFORD N., PALEPOU M.-F., MUSHTAQ S., METAN G., YAKUPOGULLARI Y., LIVERMORE D. M. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 31(6), 2008. p. 523-526.

GUPTA N., LIMBAGOB. M., PATEL J. B., KALLEN A. J. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. **Clinical Infectious Diseases**, 53(1), 2011. p. 60-67.

GUTIÉRREZ O., JUAN C., CERCENADO E., NAVARRO F., BOUZA E., COLL P., OLIVER A. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, 51(12), 2007. p. 4329-4335.

HAIDER M. H., ABRAR S. Genetics of Antimicrobial Resistente Against Carbapenems. In: **Carbapenemases: a Threat to the Globe**. 1st Edition. Pakistan. 2016. p. 52-80.

HASHIZUME T., ISHINO F., NAKAGAWA J.-L., TAMAKI S., MATSUHASHI M. Studies on the mechanism of action of imipenem (N-formimidoylthienamycin) in vitro: binding to the penicillin-binding-proteins (PBPs) in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and inhibition of enzyme activities due to the PBPs in *E. coli*. **The Journal of antibiotics**, 37(4), 1984. p. 394-400.

HAWKEY P. M., XIONG J., YE H., LI H. & M'ZALI F. H. Occurrence of a new metallo-beta-lactamase IMP-4 carried on a conjugative plasmid in *Citrobacter young* from the People's Republic of China. **FEMS microbiology letters**, 194 (1), 2001. p. 53-57).

HAWKEY P. Multidrug resistant Gram-negative bacteria: a product of globalization. **Journal of Hospital Infection**, 89(4), 2015. p. 241-247.

HÉRITIER C., POIREL L., AUBERT D., NORDMANN P. Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-40 of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 47(1), 2003. p. 268-273.

HIRSCH E. B., TAM V. H. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, 2010. dkq108.

HONG H., PATEL D. R., TAMM L. K., VAN DEN BERG B. The outer membrane protein OmpW forms an eight-stranded beta-barrel with a hydrophobic channel. **Journal of Biological Chemistry**, 281(11), 2006. p. 7568-7577.

HOSSAIN A., FERRARO M., PINO R. M., DEW R., MOLAND E. LOCKHART T., HANSON N. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 in an

Enterobacter sp. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 48(11), 2004. p. 4438-4440.

HOXHA A., KARKI T., GIAMBI C. et al. Attributable mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in a prospective matched cohort study in Italy, 2012-2013. **Journal of Hospital Infection** 92, 2016. p. 61-66.

HRABAK J., CHUDACKOVA E., PAPAGIANNITSIS C. C. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. **Clinical Microbiology and Infection**. .

HSUEH, P.-R., KO W.-C., WU J.-J., LU J.-J., WANG F.-D., WU H.-Y., TENG L.-J. Consensus statement on the adherence to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Antimicrobial Susceptibility Testing Guidelines (CLSI-2010 and CLSI-2010-update) for Enterobacteriaceae in clinical microbiology laboratories in Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, 43(5), 2010. p. 452-455.

HUANG X.-Z., CASH D. M., CHAHINE M. A., NIKOLICH M. P., CRAFT D. W. Development and validation of a multiplex TaqMan real-time PCR for rapid detection of genes encoding four types of class D carbapenemase in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Medical Microbiology**, 61(11), 2012. p. 1532-1537.

HUANG T. D., POIREL L., BOGAERTS P. Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 69(2), 2014. p. 445-450.

HUANG X.-Z., SIEHNEL R. J., FRANCIS B., RAWLING E., HANCOCK R. E. Analysis of two gene regions involved in the expression of the imipenem-specific, outer membrane porin protein OprD of *Pseudomonas aeruginosa*. **FEMS Microbiology letters**, 97(3), 1992. p. 267-273.

HUGHES J., COOKE R. P. Evidence- Based Infection Control in the Intensive Care Control. In: SAENE H. K. F. et al. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 145-157.

HUSSAIN S., RIAZ S. Phenotypic and Molecular Detection Techniques of Carbapenemases. In: **Carbapenemases: a Threat to the Globe**. 1st Edition. Pakistan. 2016. p. 30-47.

IACONO M., VILLA L., FORTINI D., BORDONI R., IMPERI F., BONNAL R. J., CASSONE A. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(7), 2008. p. 2616-2625.

JEONG S. H., BAE I. K., KIM D., HONG S. G., SONG J. S., LEE J. H., LEE S. H. First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* linjal isolates producing GES-5 and

SHV-12 extended-spectrum beta-lactamases in Korea. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 49(11), 2005. p. 4809-4810.

JIA D., BIN L., JIANMING C, et al. Molecular characterization and epidemiological study of NDM-1-producing extensively drug-resistant *Escherichia coli*. **Microbial Drug Resistance**, 2016.

JIAO Y., QIN Y., LIU J., LI Q., DONG Y., SHANG Y., HUANG Y., LIU R. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. **Pathog Glob Health**, 109(2), 2015 Mar. p. 68-74. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000004.

JOHNSON A. P., WOODFORD N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. **Journal of Medical Microbiology**, 62(4), 2013. p. 499-513.

JONES L. S., TOLEMAN M. A., WEEKS J. L., HOWE R. A., WALSH T. R., KUMARASAMY K. K. Plasmid carriage of blaNDM-1 in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 58(7), 2014. p. 4211-4213.

JONES R. N., DESHPANDE L., FRITSCH T. R., SADER H. S. Determination of epidemic clonality among multidrug-resistant strains of *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* in the MYSTIC Programme (USA, 1999-2003). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 49(3), 2004. p. 211-216.

KAASE M., NORDMANN P., WICHELHAUS T. A., GATERMANN S. G., BONNIN R. A., POIREL L. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2011. dkr135.

KANJ S. S., KANAFANI Z. A. Current concepts in antimicrobial therapy against resistant gram-negative organisms: extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Paper presented at the Mayo Clinic Proceedings**.

KATAYAMA Y., ZHANG H.-Z., CHAMBERS H. F. PBP 2a mutations producing very-high-level resistance to beta-lactams. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 48(2), 2004. p. 453-459.

KERVER A. J. H., ROMMES J. H., MEVISSSEN-VERHAGE E. A. E. et al. Colonization and infection in surgical intensive care patients: a prospective study. **Intensive Care Med** 13, 1987. p. 347-351.

KIM J. Y., JUNG H. I., AN Y. J., LEE J. H., KIM S. J., JEONG S. H. LEE S. H. Structural basis for the extended substrate spectrum of CMY-10, a plasmid-encoded class C beta-lactamase. **Molecular microbiology**, 60(4), 2006. p. 907-916.

KOGA T., SUGIHARA C., KAKUTA M., MASUDA N., NAMBA E., FUKUOKA T. Affinity of tomopenem (CS-023) for penicillin-binding proteins in *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 53(3), 2009. p. 1238-1241.

KOTSANAS D., WIJESOORIYA W., KORMAN T. M., GILLESPIE E. E., WRIGHT L., SNOOK K., STUART R. L. Down the drain: carbapenem-resistant bacteria in intensive care unit patients and hand washing sinks. **Med J Aust**, 198(5), 2013. p. 267-269.

KUMARASAMY K. K., TOLEMAN M. A., WALSH, T. R., BAGARIA J., BUTT F., BALAKRISHNAN R., IRFAN S. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **The Lancet infectious diseases**, 10(9), 2010. p. 597-602.

KUROKAWA H., YAGI T., SHIBATA N., SHIBAYAMA K., ARAKAWA . Worldwide proliferation of carbapenem-resistant gram-negative bacteria. **The Lancet**, 354 (9182), 1999. p. 955.

LANDMAN, D., SALVANI J., BRATU S., QUALE J. Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures. **Journal of Clinical Microbiology**, 43(11), 2005. p. 5639-5641.

LANGE C., SCHUBERT S., JUNG J., KOSTRZEWA M., SPARBIER K. Quantitative matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid resistance detection. **Journal of Clinical Microbiology**, 52(12), 2014. p. 4155-4162.

LASCOLS C., HACKEL M., MARSHALL S. H., HUJER A. M., BOUCHILLON S., BADAL R., BONOMO R. A. Increasing prevalence and dissemination of NDM-1 metallo-beta-lactamase in India: data from SMART study (2009). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 66(9), 2011. p. 1992-1997.

LAURETTI L., RICCIO M. I., MAZZARIOL A., CORNAGLIA G., AMICOSANTE G., FONTANA R., ROSSOLINI G. M. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 43(7), 1999. p. 1584-1590.

LEE C.-S. Therapy of infections due to carbapenem-resistant Gram-negative pathogens. **Infection and Chemotherapy**, 46 (3), 2014. p. 149-164.

LEE G. C., BURGESS D. S. Treatment of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 11(1), 2012. p. 32.

LEE H.-Y., CHANG R.-C., SU L.-H., LIU S.-Y., WU S.-R., CHUANG C.-H., CHIU C.-H. Wide spread of Tn2006 in an AbaR4-type resistance island among

carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 40(2), 2012. p. 163-167.

LEE K., LIM Y., YONG D., YUM J., CHONG Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. **Journal of Clinical Microbiology**, 41(10), 2003. p. 4623-4629.

LEE Y.-T., HUANG L.-Y., CHEN T.-L., SIU L.-K., FUNG C.-P., CHO W.-L., LIU C.-Y. gene cassette array, antibiotic susceptibilities, and clinical characteristics of *Acinetobacter baumannii* bacteremic strains harboring class 1 integrons. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection**, 42(3), 2009. p. 210-219.

LEGAREE B. A., DANIELS K., WEADGE J. T., COCKBURN D., CLARKE A. J. Function of penicillin-binding protein 2 in viability and morphology of *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 59(3), 2007. p. 411-424.

LEVY S. B., MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. **Nature medicine**, 10(12s), 2004. S122.

LI J., REN J., WANG W., WANG G., GU G., WU X., WANG Y., HUANG M., LI J. Risk factors and clinical outcomes of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* induced bloodstream infections. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, 37(4), 2018 Apr. p. 679-689. doi: 10.1007/s10096-017-3160-z.

LIAO X., HANCOCK R. Susceptibility to beta-lactam antibiotics of *Pseudomonas aeruginosa* overproducing penicillin-binding protein 3. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 41(5), 1997. p. 1158-1161.

LIMANSKY A. S., MUSSI M. A., VIALE A. M. Loss of a 29-Kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, 40(12), 2002. p. 4776-4778.

LIN M. Y., LYLES-BANKS R. D., LOLANS K., HINES D. W., SPEAR J. B., PETRAK R., TRICK W. E., WEINSTEIN R. A., HAYDEN M. K. The importance of long-term acute care hospitals in the regional epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Clin Infect Dis**, 57(9), 2013 Nov. p. 1246-1252. doi: 10.1093/cid/cit500. g 14.

LIVERHMORE D. M. Has the era of untreatable infections arrived? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 64(suppl_1), 2009. p. i29-i36.

LLANES C., HOCQUET D., VOGNE C., BENALI-BAITICH D., NEUWIRTH C., PLÉSIAT P. Clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* overproducing MexAB-OprM and MexXY efflux pumps simultaneously. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 48(5), 2004. p. 1797-1802.

LO E., LINDSAY N., CLASSEN D et al. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals. **Infect Control Hosp Epidemiol** 29, 2008. S41-S50.

LOGAN L. K., BONOMO R. A. Metallo beta-lactamase (MBL)-producing Enterobacteriaceae in U.S. Children. **Open Forum Infectious Diseases**, 2016.

LÓPEZ-CERERO L., ALMIRANTE B. Epidemiology of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Reservoirs and transmission mechanisms. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 32(4), 2014. p. 10-16.

LÓPEZ-GONZÁLEZ L., CANDEL F. J., VIÑUELA-PRIETO J. M., GONZÁLEZ-DEL CASTILLO J., GARCÍA A. B., PENA I., RODRÍGUEZ-AVIAL I. Useful independent factors for distinguish infection and colonization in patients with urinary carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolation. **Rev Esp Quimioter**, 30(6), 2017 Dec. p. 450-457.

LOWE C., KATZ K., MCGEER A., MULLER M. P., & GROUP T. E. W. Disparity in infection control practices for multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **American Journal of Infection Control**, 40(9), 2012. p. 836-839.

MAHILLON J., CHANDLER M. Insertion sequences. **Microbiology and molecular biology reviews**, 62(3), 1998. p. 725-774.

MAINARD J.-L., MUGNIER P., COUTROT A., BUU-HOI A., COLLATZ E., GUTMANN L. Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Citrobacter freundii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 41(11), 1997. p. 2352-2354.

MAIO CARRILHO C. M., OLIVEIRA L. M., GAUDERETO J., PEROZIN J. S., URBANO M. R., CAMARGO C. H., GRION C. M., LEVIN A. S., COSTA S. F. A prospective study of treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections and risk factors associated with outcome. **BMC Infect Dis**, 16(1), 2016 Nov 3. P. 629.

MAJIDUDDIN F. K., PALZILL T. Amino acid residues that contribute to substrate specificity of class A beta-lactamase SME-1. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 49(8), 2005. p. 3421-3427.

MAMMERI H., GUILLON H., EB F., NORDMANN P. Phenotypic and biochemical comparison of the carbapenem-hydrolyzing activities of five plasmid-borne AmpC beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 54(11), 2010. p. 4556-4560.

MAMMINA C., BONURA C., VIVOLI A. R., DI BERNARDO F., SODANO C., SAPORITO M. A., VERDE M. S., SAPORITO L., CRACCHIOLO A. N., FABBRI P. G., TETAMO R., PALMA D. M. Co-colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit

patients. **Sand J Infect Dis**, 45(8), 2013 Aug. p. 629-634. doi: 10.3109/00365548.2013.782614.

MANGRAM A. J., HORAN T. C., PEARSON M. L. et al. The hospital infection control practices advisory committee. Guideline for the prevention of surgical site infection. **Infect Control Hosp Epidemiol** 20, 1996. p. 247-280.

MAO W., WARREN M. S., LEE A., MISTRY A., LOMOVSKAYA O. MexXY-OprM efflux pumps is required for antagonism of aminoglycosides by divalent cations in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(7), 2001.

MARCHAIM D., NAVON-VENEZIA S., LEAVITT A., CHMELNITSKY I., SCHWABER M. J., CARMELI Y. Molecular and epidemiologic study of polyclonal outbreaks of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a Israeli hospital. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, 28(8), 2007. p. 945-950.

MARCHAIM D., NAVON-VENEZIA S., SCHWABER M. J., CARMELI Y. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. **Antimicrob Agents Chemother**, 52(4), 2008 Apr. p. 1413-1418. doi: 10.1128/AAC.01103-07.

MARTÍ S., SÁNCHEZ-CÉSPEDES J., OLIVEIRA E., BELLIDO D., GIRALT E., VILA J. Proteomic analysis of a fraction enriched in cell envelope proteins of *Acinetobacter baumannii*. **Proteomics**, 6(S1), 2006.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ L. Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. **Clinical Microbiology and Infection**, 14(s1), 2008. p. 82-89.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ L., GONZALEZ-LOPEZ J. J. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Types and molecular epidemiology. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica** 32(4), 2014. p. 4-9.

MASSANARI R. M., HIERHOLZER W. J. JR. The intensive care unit. In: Bennett JV, Brachman PS. **Hospital infections**. Little, Brown and Company, Boston, 1986. p. 285-298.

MATASEJE L. F., BOYD D. A., DELPORT J., et al. *Serratia marcescens* harbouring SME-type class A carbapenemases in Canada and the presence of bla_{ME} on a novel genomic island, SmarGII-I. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 69, 2014. p. 1825-1829.

MATSUMURA Y., PITOUT J. D. Recent advances in the laboratory detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, 16(7), 2016. p. 783-794.

MAVEYRAUD L., MOUREY L., KOTRA L. P., PEDELACQ J.-D., GUILLET V., MOBASHERY S., SAMAMA J.-P. Structural basis for clinical longevity of carbapenem antibiotics in the face of challenge by common class A beta-lactamases from the antibiotic-resistant bacteria. **Journal of the American Chemical Society**, 120(38), 1998. p. 9748-9752.

MAZEL D. Internos: agents of bacterial evolution. **Nature reviews. Microbiology**, 4(8), 2006. p. 608.

MEINI, M. R., LLARRULL L. I., VILA A. J. Evolution of Metallo-beta-lactamases: Trends Revealed by Natural Diversity and in vitro Evolution. **Antibiotics** 3, 2014. p. 285-316.

MELETIS G., TZAMPAZ E., PROTONOTARIOU E., SOFIANOU D. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM and blaKPC genes. **Hippokratia**, 14(2), 2010. p. 139.

MELETIS G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. **Therapeutic advances in Infectious Diseases**, 3(1), 2016. p. 15-20.

MERIC M., KASAP M., GACAR G., BUDAK F., DUNDAR D., KOLAYLI F., VAHABOGLU H. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Turkey. **FEMS microbiology letters**, 282(2), 2008. p. 214-218.

MEROUEH S. O., BENCZE K. Z., HESEK D., LEE M., FISHER J. F., STEMMLER T. L., MOBASHERY S. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United states of America**, 103(12), 2006. p. 4404-4409.

MIRANDE C., CANARD I., BLANCHE S. B., CHARRIER J.-P., VAN BELKUM A., WELKER M., CHATELLIER S. Rapid detection of carbapenemase activity: benefits and weaknesses of MALDI-TOF MS. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 34(11), 2015. p. 2225-2234.

MIRIAGOU V., TZOUVELEKIS L. S., ROSSITER S., TZELEPI E., ANGULO F. J., WHICHARD J. M. Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 47(4), 2003. p. 1297-1300.

MIYAKIS S., PEFANIS A., TSAKRIS A. The challenges of antimicrobial drug resistance in Greece. **Clinical Infectious Diseases**, 53(2), 2011. p. 177-184.

MOELLERING R. C., ELIOPOULOS G. M., SENTOCHNIK D. E. The carbapenems: new broad spectrum beta-lactam antibiotics. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, 24 (suppl A), 1989. p. 1-7.

MORRILL H.J., POGUE J. M., KAYE K. S., LAPLANTE K. L. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. **Paper presented at the Open forum infectious Diseases**, 2015.

MOULOUDI E., PROTONOTARIOU E., ZAGORIANOU A., IOSIFIDIS E., KARAPANAGIOTOU A., GIASNETSOVA T., TSIOKA A., ROILIDES E., SOFIANOU D., GRITSI-GEROGIANNI N. Bloodstream infections caused by metallo-beta-lactamase/Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumonia among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcome. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 31(12), 2010 Dec. p. 1250-1256. Doi: 10.1086/657135.

MUGNIER P., POIREL L., PITOUT M., NORDMANN P. Carbapenem-resistant and OXA-23-producing Acinetobacter baumannii isolates in the United Arab Emirates. **Clinical Microbiology and Infection**, 14(9), 2008. p. 879-882.

MUNOZ-PRICE L. S., POIREL L., BONOMO R. A., SCHWABER M. J., DAIKOS G. L., CORMICAN M., HAYDEN M. K. et al. Clinical epidemiology of the global expansion of Klebsiella pneumoniae carbapenemases. **The Lancet infectious Diseases** 13(09), 2013. p. 785-796.

MUSSI M. A., LIMANSKY A. S., VIALE A. M. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of Acinetobacter baumannii: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 49(4), 2005. p. 1432-1440.

NAAS T., VANDEL L., SOUGAKOFF W., LIVERMORE D. M., NORDMANN P. Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, SME-1, from Serratia marcescens S6. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 38 (6), 1994. p. 1262-1270

NAAS T., NORDMANN P. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from Enterobacter cloacae and of its LysR-type regulatory protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 91(16), 1994. p. 7693-7697.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS). System Report , data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. **Am J Infect Control** 32, 2004. p. 470-485.

NEUWIRTH C., SIÉBOR E., DUEZ J. -M., PÉCHINOT A., KAZMIERCZAK A. Imipenem resistance in clinical isolates of Proteus mirabilis associated with alterations in penicillin-binding proteins. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 36(2), 1995. p. 335-342.

NIEDERMAN M. S., CRAVEN D. E., BONTEN M. J. American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America (ATS/IDSA). Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and

healthcare-associated pneumonia. **Am J Respir Crit Care Med** 171, 2005. p. 388-416.

NIKAIDO H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 67(4), 2003. p. 593-656.

NITZAN Y., PECHATNIKOV I., BAR-EL D., WEXLER H. Isolation and characterization of heat-modifiable proteins from the outer membrane of *Porphyromonas asaccharolytica* and *Acinetobacter baumannii*. **Anaerobe**, 5(1), 1999. p. 43-50.

NOOR UL A., RIAZ S. Introduction to carbapenemases. In: **Carbapenemases: a Threat to the Globe**. 1st Edition. Pakistan. 2016. p. 11-28.

NORDMANN P., DORTET L., POIREL L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! **Trends in Molecular Medicine**. 2012. 188: 263-272.

NORDMANN P., GNIADKOWSKI M., GISKE C. G., POIREL L., WOODFORD N., MIRIAGOU V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Clin Microbiol Infect**, 18(5), 2012. p. 432-438.

NORDMANN P., NAAS T., POIREL L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases**, 17(10), 2011. p. 1791.

NORDMANN P., PICAZO J. J., MUTTERS R., KORTEN V., QUINTANA A., LAEUFFER J. M., GROUP C. S. Comparative activity of carbapenem testing: the COMPACT study. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, 66(5), 2011. p. 1070-1078.

NORDMANN P., POIREL L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. **Clinical Microbiology and Infection**, 8(6), 2002. p. 321-331.

NORDMANN P., POIREL L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, 20, 2014. p. 821-830.

NSEIR S., FAVORY R., JOZEFOWICZ E. VAT Study Group et al. Antimicrobial treatment for ventilator-associated tracheobronchitis: a randomized, controlled, multi centric study. **Crit Care**12, 2008. R 62.

OBARA M., NAKAE T. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in *Acinetobacter calcoaceticus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 28(6), 1991. p. 791-800.

OLIVER A., LEVIN B. R., JUAN C., BAQUERO F., BLÁZQUEZ J. Hypermutation and the preexistence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants: implications for susceptibility testing and treatment of

chronic infections. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 48(11), 2004. p. 4226-4233.

OTEO J., HERNÁNDEZ-ALMARAZ J. L., GIL-ANTÓN J., VINDEL A., FERNÁNDEZ S., BAUTISTA V., CAMPOS J. Outbreak of vim-1-carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* in a pediatric intensive care unit. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, 29(12), 2010. p. 1144-1146.

PAI H., KIM J.-W., KIM J., LEE J. H., CHOE K. W., GOTOH N. carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(2), 2001. p. 480-484.

PALZKILL T. Metallo-beta-lactamase structure and function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277 (1), 2013. p. 91-104.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS M., MARANGOS M., FLIGOU F., CHRISTOFIDOU M., BARTZAVALI C., ANASTASSIOU E. D., FILOS K. S. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. **J Antimicrob Chemother**, 67(12), 2012 Dec. p. 2976-2981. Doi: 10.1093/jac/dks316.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS M., MARANGOS M., FLIGOU F., CHRISTOFIDOU M., SKLAVOU C., VAMVAKOPOULOU S., ANASTASSIOU E. D., FILOS K. S. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization acquired during intensive care unit stay: the significance of risk factors for its development and its impact on mortality. **Diagn Microbiol Infect Dis**, 77(2), 2013 Oct. p. 169-173. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.007.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS M., MARANGOS M., CHRISTOFIDOU M., FLIGOU F., BARTZAVALI C., PANTELI E. S., VAMVAKOPOULOU S., FILOS K. S., ANASTASSIOU E. D. Risk factors for infection and predictors of mortality among patients with KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. **Scand J Infect Dis**, 46(9), 2014 Sep. p. 642-648. Doi: 10.3109/00365548.2014.923106.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS M., SPILIOPOULO I., CHRISTOFIDOU M., LOGOTTIS D., MANOLOPOULOU P., DODOU V., FLIGOU F., MARANGOS M., ANASTASSIOU E. D. Co-colonization by multidrug-resistant bacteria in two Greek intensive care units. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 34(10), 2015 Oct. p. 1947-1955. doi: 10.1007/s10096-015-2436-4.

PAPAGIANNITSIS C. C., GIAKKOUPIS P., VATOPOULOS A. C., TRYFINOPOULOU K., MIRIAGOU V., TZOUVELEKIS L. S. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* of a novel sequence type (ST383) producing VIM-4, KPC-2 and CYM-4 beta-lactamases. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 36(6), 2010. p. 573-574.

PAPP-WALLACE K. M., ENDIMIANI A., TARACILA M. A., BONOMO R. A. Carbapenems: past, present and future. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 55 (11), 2011. p. 4943-4960.

PELEG A. Y., FRANKLIN C., BELL J. M., SPELMAN D. W. Dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP-4 among gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. **Clinical Infectious Diseases**, 41(11), 2005. p. 1549-1556.

PELEG A. Y., SEIFERT H., PETERSON D. L. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 2008. p. 538-582.

PEREZ F., EL CHAKHTOURA N. G., PAPP-WALLACE K. et al. Treatment options for infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: can we apply "precision medicine" to antimicrobial chemotherapy? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, 2016

PERRON K., CAILLE O., ROSSIER C., VAN DELDEN C., DUMAS J.-L., KOHLER T. CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa. **Journal of Biological Chemistry**, 279(10), 2004. p. 8761-8768.

PITOUT J. D., LAUPLAND K. B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **The Lancet Infectious Diseases**, 8(3), 2008. p. 159-166.

PITTET D., MONOD M., SUTER P. M. et al. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. **Ann Surg** 220, 1994. p. 751-758.

POIREL L., DORTET L., BERNABEU S, et al. Genetic features of blaNDM-1-positive Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011. 55. p. 5403-5407.

POIREL L. FIGUEIREDO S., CATTOIR V., CARATTOLI A., NORDMANN P. Acinetobacter radioresistens as a silent source of carbapenem resistance for Acinetobacter spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(4), 2008. p. 1252-1256.

POIREL L., LE THOMAS I., NAAS T., KARIM A., NORDMANN P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class-A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from Klebsiella pneumoniae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 44(3), 2000. p. 622-632.

POIREL L., MANSOUR W., BAUALLEGUE O., NORDMANN P. Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates from Tunisia producing the OXA-58-like carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-97. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(5), 2008. p. 1613-1617.

POIREL L., MARQUÉ S., HÉRITIER C., SEGONDS C., CHABANON G., NORDMANN P. OXA-58, a novel class D beta-lactamase involved in resistance

to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 49(1), 2005. p. 202-208.

POIREL L., NAAS T., NICOLAS D., COLLET L., BELLAIS S., CAVALLO J. D., NORDMANN P. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 44(4), 2000. p. 891-897.

POIREL L., NAAS T., NODERMANN P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 54(1), 2010. p. 24-38.

POIREL L., NORDMANN P. Acquired carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases and their genetic support. **Current pharmaceutical biotechnology**, 3(2), 2002. p. 117-127.

POIREL L., NORDMANN P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. **Clinical Microbiology and Infection**, 12(9), 2006. p. 826-836.

POIREL L., PITOUT J. D., NORDMANN P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. **Future Microbiology**, 2(5), 2007. p. 501-512.

POIREL L., WELDHAGEN G. F., NAAS T., DE CHAMPS C., DOVE M. G., NORDMANN P. GES-2, a class A beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(9), 2001. p. 2598-2603.

POOLE K. Outer membranes and efflux: the path to multi drug resistance in Gram-negative bacteria. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 3(2), 2002. p. 77-98.

POST V., WHITW P. A., HALL R. M. Evolution of AbaR-type genomic resistance islands in multiply antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 65(6), 2010. p. 1162-1170.

POURNARAS S., MANIATI M., PETINAKI E., TZOUVELEKIS L., TSAKRIS A., LEGAKIS N., MANIATIS A. Hospital outbreak of multiple clones of *Pseudomonas aeruginosa* carrying the unrelated metallo-beta-lactamase gene variants blaVIM-2 and bla-VIM-4. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 51(6), 2003. p. 1409-1414.

POURNARAS S., MANIATI M., SPANAKIS N., IKONOMIDIS A., TASSIOS P., TSAKRIS A., MANIATIS A. Spread of efflux pump-overexpressing, non metallo-beta-lactamase-producing, meropenem-resistant but ceftazidime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* in a region with blaVIM endemicity. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 56(4), 2005. p. 761-764.

POURNARAS S., MARKOGIANNAKIS A., IKONOMIDIS A., KONDYLI L., BETHIMOUTI K., MANIATIS A., TSAKRIS A. Outbreak of multiples clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 57(3), 2006. p. 557-561.

POURNARAS S., ZARKOTOU O., POULOU A., KRISTO I., VRIONI G., THEMELI-DIGALAKI K., TSAKRIS A. A combined disk test for direct differentiation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. **Journal of Clinical Microbiology**, 51(9), 2013. p. 2986-2990.

QUALE J., BRATU S., GUPTA J., LANDMAN D. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 50(5), 2006. p. 1633-1641.

QUEENAN A. M., BUSH K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, 20(3), 2007. p. 440-458.

QUEENAN A. M., SHANG W., FLAMM R., BUSH K. Hydrolysis and inhibition profiles of beta-lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 54(1), 2010. p. 565-569.

RAI S., MANCHANDA V., SINGH N., KAUR I. Zinc-dependent carbapenemases in clinical isolates of family Enterobacteriaceae. **Indian Journal of Medical Microbiology**, 29(3), 2011. p. 275.

RAQUET X., LAMOTTE-BRASSEUR J., BOUILLENNE F., FRÈRE J. M. A disulfide bridge near the active site of carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamases might explain their unusual substrate profile. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, 27(1), 1997. p. 47-58.

RELLO J., RICART M., MIRELIS B. et al. Nosocomial bacteremia in a medical-surgical intensive care unit: epidemiological characteristics and factors influencing mortality in 111 episodes. **Intensive Care Med** 20, 1994. p. 94-98.

RICHARDS M. J., EDWARDS J. R., CULVER D. H. et al. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. **Crit Care Med** 27, 1999. p. 887-892.

RICCIO M. L., FRANCESCHINI N., BOSCHI L., CARAVELLI B., CORNAGLIA G., FONTANA R., ROSSOLINI G. M. Characterization of the metallo-beta-lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of bla IMP allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 44(5), 2000. p. 1229-1235.

RIERA E., CABOT G., MULET X., GARCÍA-CASTILLO M., DEL CAMPO R., JUAN C., OLIVER A. *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance

mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 66(9), 2011. p. 2022-2027.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ J.-M., POIREL L., NORDMANN P. Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 53(5), 2009. p. 1766-1771.

RHOMBERG P. R., JONES R. N. Summary trends for the meropenem yearly susceptibility test information collection program: a 10-year experience in the United States (1999-2008). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 65(4), 2009. p. 414-426.

SAENE H. K. F. The history of SDD. In: an der Voort PHJ, Saene HKF. **Selective digestive decontamination in intensive care medicine**. Springer, Milan, 2008. p. 1-35.

SAITO K., AKAMA H., YOSHIHARA E., NAKAE T. mutations affecting DNA-binding activity of the MexR repressor of mexR-mexA-mexB-oprM operon expression. **Journal of Bacteriology**, 185(20), 2003. p. 6195-6198.

SALSANO A., GIACOBBE D. R., SPORTELLI E., OLIVIERI G. M., BREGA C., DI BIASE C., COPPO E., MARCHESE A., DEL BONO V., VISCOLI C., SANTINI F. Risk factors for infections due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* after open heart surgery. **Interact Cardiovasc Thorac Surg**, 23(5), 2016 Nov. p. 762-768.

SARGINSON R. E., TAYLOR N., SAENE H. K. F. Glossary of terms and definitions. **Curr Anaesth Crit Care** 12, 2001. p. 2-5.

SAUVAGE E., KERFF F., TERRAK M., AYALA J. A., CHARLIER P. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. **FEMS Microbiology Reviews**, 32(2), 2008. p. 234-258.

SAVARD P., PAERL T. M. Combating the spread of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a battle that infection prevention should not lose. **Clinical Microbiology and Infection**, 2014.

SGANGA G., BRISINDA G., CASTAGNETO M. Peritonitis: priorities and management strategies. In: van Saene HKF, Sganga G, Silvestri L. **Infection in the critically ill: an ongoing challenge**. Springer, Berlin, 2001. p. 23-33.

SGANGA G., BRISINDA G., COZZA V. et al. Infections of Peritoneum, Mediastinum, Pleura, Wounds and Urinary Tract. In: SAENE H. K. F. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 251-287.

SHARMA A., BAKTHAVATCHALAM Y. D., GOPI R., AN S., VERGHESE V. P., VEERARAGHAVAN B. Mechanisms of Carbapenem Resistance in *K.*

pneumoniae and E. coli from Bloodstream Infections in India. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**, 2016.

SHUKLA I., TIWARI R., AGRAWAL M. Prevalence of extended spectrum-lactamase producing Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital. **Indian Journal of Medical Microbiology**, 22(2), 2004. p. 87.

SIEVERT D. M., RICKS P., EDWARDS J. R., SCHNEIDER A., PATEL J., SRINIVASAN A., FRIDKIN S. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, 34(01), 2013. p. 1-14.

SILVESTRI L., SAENE H. K. F., PETROS A. J. et al. Classification of ICU Infection. In: SAENE H. K. F. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 41-51.

SILVESTRI L., SAENE H. K. F., SAENE J. J. M. Carriage, Colonization and Infection. In: SAENE H. K. F. **Infection Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 17-28.

SIROY A., MOLLE V., LEMAITRE-GUILLIER C., VALLENET D., PESTEL-CARON M., COZZONE A. J., DÉ E. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of Acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 49(12), 2005. p. 4876-4883.

SOLOMKIN J. S., MAZUSKI J. E., BARON E. J. et al. Guidelines for the selection of anti-infective agents for complicated intra-abdominal infections. **Clin Infect Dis** 37, 2003. p. 997-1005.

SPENCER R. C. Definitions of nosocomial infections: surveillance of nosocomial infections. **Bailliere's Clin Infect Dis** 3, 1996. p. 237-252.

SRIKUMAR R., PAUL C. J., POOLE K. Influence of mutations in the meR repressor gene on expression of the MexA-MexB-oprM multi drug efflux system of Pseudomonas aeruginosa. **Journal of Bacteriology**, 182(5), 2000. p. 1410-1414.

STAPLETON P. D., SHANNON K. P., FRENCH G. L. Carbapenem resistance in escherichia coli associated with plasmid-determined CMY-4 beta-lactamase production and loss of an outer membrane protein. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 43(5), 1999. p. 1206-1210.

STARK R. P., MAKI D. G. bacteriuria in the catheterized patient. **N Engl J Med** 311, 1984. p. 560-564.

STOKES, H. T., HALL R. M. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. **Molecular Microbiology**, 3(12), 1989. p. 1669-1683.

SYMMONS M. F., BOKMA E., KORONAKIS E., HUGHES C., KORONAKIS V. The assembled structure of a complete tripartite bacterial multidrug efflux pump. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 106(17), 2009. p. 7173-7178.

TAMBER S., HANCOCK R. E. Involvement of two related porins, OprD and OprP, in the uptake of arginine by *Pseudomonas aeruginosa*. **FEMS microbiology letters**, 260(1), 2006. p. 23-29.

TAVARES W. Uso de Antimicrobianos na Prática Clínica. In: CIMERMAN S.; CIMERMAN B. **Condutas em Infectologia**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu, 2011. p. 13-25.

THOMSON K. S. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and carbapenemase issues. **Journal of Clinical Microbiology**, 48(4), 2010. p. 1019-1141.

TOLEMAN M. A., ROLSTON K., JONES R. N., WALSH T. R. bla-VIM-7, an evolutionarily distinct metallo-beta-lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 48(1), 2004. p. 329-332.

TOLEMAN M. A., SIMM A. M., MURPHY T. A., GALES A. C., BIEDENBACH D. J., JONES R. N., WALSH T. R. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 48(1), 2002. p. 329-332.

TRAUTNER B. W., DAROUICHE R. O. Catheter-associated infections. **Arch Intern Med** 164, 2004. p. 842-850.

TRILLA A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. **Intensive Care Med** 20, 1994. S1-S4.

TSAKRIS A., KRISTO I., VRIONI G., THEMELI-DIGALAKI K., POURNARAS S., ZARKOTOU O., POULOU A. **A Combined Disk Test for Direct**, 2013.

TSUJIMOTO H., ONO S., MOCHIZUKI H. Role of translocation of pathogen-associated molecular patterns in sepsis. **Dig Surg** 26, 2009. p. 100-109.

TUMBARELLO M., VIALE P., VISCOLI C., TRECARICHI E. M., TUMIETTO F., MARCHESI A., SPANU T., AMBRETTI S., GINOCCHIO F., CRISTINI F., LOSITO A. R., TEDESCHI S., CAUDA R., BASSETTI M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. **Clin Infect Dis**, 55(7), 2012 Oct. p. 943-950. doi: 10.1093/cid/cis588.

TUMBARELLO M., TRECARI CHI E. M., DE ROSA F. G., GIANNELLA M., GIACOBBE D. R., BASSETTI M., LESITO A. R., BARTOLETTI M., DEL BONO V., CORCIONE S., MAIURO G., TEDESCHI S., CELANI L., CARDELLINO C. S., SPANU T., MARCHESE A., AMBRETTI S., CAUDA R., VISCOLI C., VIALE P. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. **J Antimicrob Chemother**, 70(7), 2015 Jul. p. 2133-2143. doi: 10.1093/jac/dkv086.

VAIDYA V. K. Horizontal transfer of antimicrobial resistance by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. **Journal of Laboratory Physicians**, 3(1), 2011. p. 37.

VALLÉS J., FERRER R. Bloodstream Infection in the ICU Patient. IN: SAENE H. K. F. **Control in the Intensive Care Unit**. 3rd Edition. Verlag Itália: Springer, 2012. p. 233-249.

VAN BELKUM A., DUNNE W. M. Next-generation antimicrobial susceptibility testing. **Journal of Clinical Microbiology**, 51(7), 2013. p. 2018-2024.

VAN UFFELEN R., SAENE H. K. F., FIDLER V. et al. Oropharyngeal flora as a source of colonizing the lower airways in patients on artificial ventilation. **Intensive Care Med** 10, 1984. p. 233-237.

VIALE P., GIANNELLA M., LEWIS R., TRECARI CHI E. M., PETROSILLO N., TUMBARELLO M. Predictors of mortality in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. **Expert Rev Anti Infect Ther**, 11(10), 2013 oct. p. 1053-1063. Doi: 10.1586/14787210.2013.836057.

VILA J., MARTÍ S., SÁNCHEZ-CÉSPEDES J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 59(6), 2007. p. 1210-1215.

VILLALÓN P., VALDEZATE S., MEDINA-PASCUAL M. J., CARRASCO G., VINDEL A., SAEZ-NIETO J. A. Epidemiology of the *Acinetobacter*-derived cephalosporinase, carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo-beta-lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 68(3), 2012. p. 550-553.

VILLEGAS M. V., LOLANS K., CORREA A., KATTAN J. N., LOPEZ J. A., QUINN J. P., GROUP C. N. R. S. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolysing beta-lactamase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 51(4), 2007. p. 1553-1555.

VOGNE C., AIRES J. R., BAILLY C., HOCQUET D., PLÉSIAT P. role of the multi drug efflux system Mex XY in the emergence of moderate resistance to aminoglycosides among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, 48(5), 2004. p. 1676-1680.

WALSH T. R., TOLEMAN M. A., POIREL L., NORDMANN P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clinical Microbiology Reviews* 18(2), 2005. p. 306-325.

WALSH T. R. Clinically significant carbapenemases: an update. **Current opinion in infectious diseases**, 21(4), 2008. p. 367-371.

WALTHER-RASMUSSEN J., HOIBY N. OXA-type carbapenemases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 57(3), 2006. p. 373-383.

WALTHER-RASMUSSEN J., HOIBY N. Class A carbapenemases. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, 60(3), 2007. p. 470-482.

WANG J., ZHOU J.-Y., QU T.-T., SHEN P., WEI Z. -Q., YU Y. -S., LI L. -J. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Chinese hospitals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 35(5), 2010. p. 486-491.

WEINSTEIN R. A. Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units. **Am J Med** 91, 1991. (Suppl 3B): 179S-184S.

WENZEL R. P. Organization for infection control. In: Mandell GL, Douglas RG Jr, Bennett JE. **Principles and practice of infectious diseases**. Churchill Livingstone, New York, 1990. p. 2176-2180

WENZEL R. P., THOMPSON R. L., LANDRY S. M. et al. Hospital-acquired infections in intensive care units patients: an overview with emphasis on epidemics. *Infect Control* 4, 1983. p. 371-375.

WHEELER A. P., BERNARD G. R. Treating patients with severe sepsis. **N Engl J Med** 340, 1999. p. 207-214.

WHITE P. A., MCIVER C. J., RAWLINSON W. D. Integrons and genes cassettes in the enterobacteriaceae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(9), 2001. p. 2658-2661.

WISPLINGHOFF H., BISCHOFF T., TALLENT S. M. et al. Nosocomial bloodstream infections in US Hospitals: analysis of 24, 179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clin Infect Dis** 39, 2004. p. 309-317.

WOLTER D. J., SMITH-MOLAND E., GOERING R. V., HANSON N. D., LISTER P. D. Multidrug resistance associated with mexXY expression in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from a Texas hospital. **Diagnostic microbiology and Infectious Disease**, 50(1), 2004. p. 43-50.

WOODFORD N., JOHNSON A.P. **Genomics, proteomics, and clinical bacteriology**: Springer

WU S., XU D., GUO H. QM/MM studies of monozinc beta-lactamase CphA suggest that the crystal structures of an enzyme - intermediate complex represents a minor pathway. **Journal of the American Chemical Society**, 132(51), 2010. p. 17986-17988.

YIGIT H., QUEENAN A., ANDERSON G. J., DOMENECH-SANCHEZ A., BIDDLE J. W., STEWARD C. D., TENOVER F. C. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(4), 2001. p. 1151-1161.

YONG D., TOLEMAN M. A., GISKE C. G., CHO H. S., SUNDMAN, K., LEE K., WALSH, T. R. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 53(12), 2009. p. 5046-5054.

ZAHEDI B. A., SAMADI K. S. LEYLABADLO H. E. et al. Dissemination of carbapenemases producing Gram negative bacteria in the Middle East. **Iranian Journal of Microbiology** 7(5), 2015. p. 226-246.

ZARKOTOU O., POURNARAS S., TSELIOTI P., DRAGOUMANOS V., PITIRIGA V., RANELLOU K., PREKATES A., THEMELI-DIGALAKI K., TSAKRIS A. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. **Clin Microbiol Infect**, 17(12), 2011 Dec. p. 1798-1803. doi: 10.1111/j1469-0691.2011.03514.x.

ZARRILLI R., CASILLO R., DI POPOLO A., TRIPODI M. F., BAGATTINI M., CUCCURULLO S., GALDIERI N. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. **Clinical Microbiology and Infection**, 13(5), 2007. p. 481-489.

ZARRILLI R., CRISPINO M., BAGATTINI M., BARRETA E., DI POPOLO A., TRIASSI M., VILLARI P. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, 13(5), 2004. p. 946-953

ZARRILLI R., GIANNOULI M., TOMASONE F., TRIASSI M., TSAKRIS A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. **The Journal of Infection in Developing Countries**, 3(05), 2009. p. 335-341.

ZARRILLI R., VITALE D., DI POPOLO A., BAGATTINI M., DAOUD Z., KHAN A. U., TRIASSI M. A plasmid-borne blaOXA-58 gene confers imipenem resistance to *Acinetobacter baumannii* isolates from a Lebanese hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(11), 2008. p. 4115-4120.

ZEMBOWER N. R., ZHU A., MALCZYNSKI M., QI C. Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae (KPC-KP) in brain and spinal cord injury patients: potential for prolonged colonization. **Spinal Cord**, 55 (4), 2017 Apr. p. 390-395. doi: 10.1038/sc.2016.136.

ZHOU G., GUO S., LUO Y., et al. NDM-1 producing strains, family Enterobacteriaceae in hospital, Beijing, China. **Emerging Infectious Diseases**, 20(2), 2014. p. 340-342.

ZHU L., YAN Z., ZHANG Z., ZHOU Q., ZHOU J., WAKELAND E. K., LI Q.-Z. Complete genome analysis of three Acinetobacter baumannii clinical isolates in China for insight into diversification of drug resistance elements. **PLoS One**, 8(6), 2013, e66584.

ZHU X., ZENG B., WANG S et al. Molecular characterization of outbreak-related strains of vancomycin Enterococcus faecium from an intensive care unit in Beijing, China. **J Hosp Infect**72, 2009. p. 147-154.

9.0. APÊNDICES

APÊNDICE A

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS:

1. Idade (anos);
2. Gênero (masculino ou feminino);
3. Tempo de internação na UTI: número de dias desde a data da admissão na UTI à data da alta na UTI;
4. Presença de internação recente por um período superior a 48 hrs, no Hospital de Urgência de Teresina ou em outro serviço (sim/ não);
5. Tempo de positivação do swab retal para KPC: número de dias desde a internação do paciente na UTI até a data do swab retal positivo para KPC;
6. Cateter venoso central: número de dias do tempo de internação na UTI em que o paciente esteve em uso de cateter venoso central;
7. Sonda vesical de demora: número de dias do tempo de internação na UTI em que o paciente esteve em uso de sonda vesical de demora;
8. Sonda nasogástrica/ nasoenteral: número de dias do período de internação na UTI em que o paciente esteve em uso de sonda nasogástrica/ nasoenteral;
9. Ventilação mecânica invasiva: número de dias do período de internação na UTI em que o paciente esteve em uso de ventilação mecânica invasiva;
10. Hemodiálise: necessidade de terapia de substituição renal (sim/ não);
11. APACHE II: índice prognóstico de gravidade em UTI;
12. Comorbidades: patologias apresentadas pelo paciente previamente a admissão na UTI;
13. Necessidade de cirurgia: necessidade de procedimento cirúrgico como causa da internação na UTI ou realizado durante o tempo de internação na UTI (sim/ não);
14. Nutrição parenteral total: necessidade de nutrição parenteral total durante o tempo de internação na UTI (sim/ não);
15. Diagnóstico: patologia responsável pela admissão do paciente na UTI;

16. Complicações não infecciosas: descrição das complicações clínicas durante o tempo de internação na UTI;
17. Terapia antifúngica: uso de terapêutica antimicrobiana com atividade contra fungos durante o tempo de internação na UTI (sim/ não);
18. Terapia antimicrobiana (antibacteriana): uso de terapêutica antimicrobiana com atividade contra bactérias durante a internação na UTI (penicilina + inibidor de beta-lactamase, cefalosporina de 3^a ou 4^a geração, carbapenêmico; aminoglicosídeo; quinolona, polimixina B/ colistina; meronidazol; glicopeptídeo; linezolida);
19. Infecções hospitalares: descrição da presença e número de complicações infecciosas hospitalares durante o tempo de internação na UTI;
20. Patógeno responsável pela infecção: descrição do microorganismo responsável pela infecção hospitalar acima supracitada;
21. Mortalidade: paciente que evoluíram para o óbito durante o tempo de interação na UTI (sim/ não)

APÊNDICE B

APACHE II

The APACHE II Severity of Disease Classification System

Physiologic Variable	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperature - rectal (°C)	≥41	39-40.9		38.5-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤29.9
Mean Arterial Pressure (mm Hg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Heart Rate	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
Respiratory Rate (nonventilated or ventilated)	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
Oxygenation (mmHg) a. FiO ₂ > 0,5 use A-aDO ₂ b. FiO ₂ < 0,5 use PaO ₂	a	≥500	350-499	200-349		<200			
	b				> 70	61-70		55-60	<55
Arterial pH	≥7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
Serum Sodium (mmol/l)	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
Serum Potassium (mmol/l)	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Serum Creatinine (mg/dl, Double point score for acute renal failure)	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrit (%)	≥60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
White Blood Count (in 1000/mm ³)	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
Glasgow-Coma-Scale (GCS)	Score = 15 minus actual GCS								
Serum HCO₃ (venous, mmol/l, use if no ABGs)	≥52	41-51.9		32-40.9	22-31.9		18-21.9	15-17.9	<15
A = Total Acute Physiology Score APS	Sum of the 12 individual variable points								
B = Age Points	C = Chronic Health Points If the patient has a history of severe organ system insufficiency or is immunocompromised assign points as follows: a. For nonoperative or emergency postoperative patients – 5 points b. For elective postoperative patients – 2 points								
≤44 years 0 points 45-54 years 2 points 55-64 years 3 points 65-74 years 5 points ≥75 years 6 points									
APACHE II Score = Sum of A (APS points) + B (Age points) + C (Chronic Health points)									

(From: Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med 1985;13(10):818-29)

Score	Death Rate (%)
0-4	4
5-9	8
10-14	15
15-19	25
20-24	40
25-29	55
30-34	75
>34	85

APÊNDICE C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), do estudo/pesquisa intitulado(a) “PERFIL DOS PACIENTES COLONIZADOS POR ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE KPC EM HOSPITAL TERCIÁRIO DE TERESINA, PIAUÍ, BRASIL”, conduzido por Trícia Carvalho Carneiro.

Este estudo tem por objetivo: Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes clínicos colonizados por KPC em um centro de referência.

Você foi selecionado(a) por ser responsável por um paciente maior de 18 anos, internado na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Hospital de Urgência de Teresina. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa, desistência ou retirada de consentimento não acarretará prejuízo. Sua participação não é remunerada nem implicará em gastos para o paciente ou familiares.

Os pacientes serão selecionados a partir do resultado positivo para um swab retal com Enterobactérias produtoras de KPC com demonstração de colonização pela mesma, conforme um protocolo previamente elaborado pelo Controle de Infecção Hospitalar (CIH). Esses swabs serão coletados na data de admissão e semanalmente até a alta da Unidade de Terapia intensiva. Todos os contatos permanecerão em isolamento até o resultado do swab.

O presente estudo não oferece riscos adicionais, além daqueles observados em pacientes em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Os dados obtidos por meio desta pesquisa serão confidenciais e não serão divulgados em nível individual, visando assegurar o sigilo de sua participação.

O pesquisador responsável se comprometeu a tornar públicos nos meios acadêmicos e científicos os resultados obtidos de forma consolidada sem qualquer identificação de indivíduos participantes.

Caso você concorde em participar desta pesquisa, assine ao final deste documento, que possui duas vias, sendo uma delas sua, e a outra, do pesquisador responsável / coordenador da pesquisa.

Seguem os telefones e o endereço institucional do pesquisador responsável, onde você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação nele, agora ou a qualquer momento.

Contatos do pesquisador responsável:

Trícia Carvalho Carneiro, médica intensivista, coordenadora das UTI's do Hospital de Urgência de Teresina, Rua Dr. Otto Tito, 1820 - Redenção, Teresina - PI, 64017-775, fone: (86) 3218-5445.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, e que concordo em participar.

Teresina, ____ de _____ de 2018

Assinatura do(a) participante: _____

Assinatura do(a) pesquisador(a): _____

10.0. ANEXOS

HOSPITAL GETÚLIO VARGAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PERFIL DOS PACIENTES COLONIZADOS POR ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE KPC EM HOSPITAL TERCIÁRIO DE TERESINA, PIAUÍ, BRASIL

Pesquisador: TRICIA CARVALHO CARNEIRO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 84163418.2.0000.5613

Instituição Proponente: FUNDACAO MUNICIPAL DE SAUDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.652.680

Apresentação do Projeto:

Este projeto tem como pesquisa o Perfil dos Pacientes Colonizados por Enterobactérias Produtoras De Kpc em Hospital Terciário De Teresina, no Estado do Piauí.

Enterobacterias produtoras de carbapenemase do tipo Klebsiella pneumoniae (KPC) sao cada vez mais identificadas em pacientes hospitalizados e

pouco se conhece sobre o perfil e o prognostico dos pacientes por elas colonizados. Mundialmente, as infeccoes nosocomiais causadas por germes

multirresistentes vem apresentando um aumento expressivo ao longo das ultimas decadas. Entre 2001 e 2003 foram descritas pela primeira vez

enzimas que hidrolisam os carbapenemicos, isoladas inicialmente em Klebsiella pneumoniae, e por isso denominadas Klebsiella pneumoniae

carbapenemase (KPC). As infeccoes causadas por enterobacterias produtoras de carbapenemases apresentam opcoes de tratamento restritas e

altas taxas de mortalidade.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes clínicos colonizados por KPC em um centro de referencia;

Endereço: FREI SERAFIM, 2352

Bairro: CENTRO

CEP: 64.001-020

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3221-5704

E-mail: c.arquimedes@uol.com.br

HOSPITAL GETÚLIO VARGAS



Continuação do Parecer: 2.652.680

Objetivo Secundário:

Analisar os preditores de mortalidade intra-hospitalar dos pacientes clínicos colonizados por KPC. Definir se a colonização por si só seria um marcador de risco realmente relevante para mortalidade em nossa instituição.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O procedimento consiste na realização do swab retal (introdução de um "cotonete") via retal, superficialmente, para que seja avaliado se há o crescimento desta bactéria, com risco adicional mínimo para o paciente, porém, o maior risco reside na não detecção da KPC, o que pode ocorrer com frequência, causando eventual tratamento inadequado, o que aumenta as chances de morte do paciente.

Benefícios:

O maior benefício consiste na detecção da KPC, proporcionando tratamento precoce e adequado, o que aumenta as chances de sobrevivência do paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pretende-se com este projeto através da realização da pesquisa descrever o perfil epidemiológico dos pacientes clínicos colonizados por KPC em um centro de referência, para prevenir o risco de morte do paciente por falta de tratamento inadequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresenta todos os documentos conforme a Resolução 466/2012 do CNS.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto encontra-se aprovado por atender todas as recomendações da Resolução 466/2012 do CNS.

Considerações Finais a critério do CEP:

PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO EM REUNIÃO DO COLEGIADO DO CEP DO HGV.

Endereço: FREI SERAFIM, 2352

Bairro: CENTRO

CEP: 64.001-020

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3221-5704

E-mail: c.arquimedes@uol.com.br

HOSPITAL GETÚLIO VARGAS



Continuação do Parecer: 2.652.680

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1078398.pdf	20/02/2018 21:20:05		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaodeinstituicao.pdf	20/02/2018 21:18:44	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPesquisa.docx	20/02/2018 21:16:38	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	20/02/2018 21:16:02	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	20/02/2018 21:15:35	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	20/02/2018 21:14:14	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	20/02/2018 21:08:44	TRICIA CARVALHO CARNEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 14 de Maio de 2018

Assinado por:
Arquimedes Cavalcante Cardoso
(Coordenador)

Endereço: FREI SERAFIM, 2352

Bairro: CENTRO

CEP: 64.001-020

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (66)3221-5704

E-mail: c.arquimedes@uoi.com.br