

VIVIENI VIEIRA PRADO ALMEIDA

**INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTENTE
AOS CARBAPENÊMICOS EM HOSPITAL DE NÍVEL TERCIÁRIO:
EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Infecção Hospitalar

Orientador: Prof. Dr. Augusto Diogo Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia

Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde

Uberlândia-MG

2013

VIVIENI VIEIRA PRADO ALMEIDA

**INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTENTE
AOS CARBAPENÊMICOS EM HOSPITAL DE NÍVEL TERCIÁRIO:
EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Infecção Hospitalar

Orientador: Prof. Dr. Augusto Diogo Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia

Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde

Uberlândia-MG

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A447i Almeida, Vivieni Vieira Prado, 1965-
2013 Infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenê-
 cos em hospital de nível terciário: epidemiologia e caracterização / Vi-
 vieni Vieira Prado Almeida. -- 2013.
 66 f. : il.

Orientador: Augusto Diogo Filho.

Coorientador: Paulo Pinto Gontijo Filho

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
grama de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Inclui bibliografia.

1. Ciências médicas - Teses. 2. Infecção hospitalar - Teses. 3. Car-
bapenêmicos - Teses. I. Diogo Filho, Augusto. II. Gontijo Filho, Paulo
Pinto. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

VIVIENI VIEIRA PRADO ALMEIDA

**INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTENTE
AOS CARBAPENÊMICOS EM HOSPITAL DE NÍVEL TERCIÁRIO:
EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Infecção Hospitalar

Aprovado em: 14 de fevereiro de 2013

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Augusto Diogo Filho (Orientador)

Profa. Dra. Luciana Almeida Silva Teixeira

Profa. Dra. Denise Von Dollinger de Brito

Profa. Dra. Karine Spirandelli Carvalho

Ao Caio César e Mário Sérgio,
pelo amor e compreensão ao longo do caminho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Prof. Dr. Augusto Diogo Filho,
pela confiança, ensinamentos e organização deste trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho,
pela acolhida, amizade e valiosa experiência em bacteriologia.

AGRADECIMENTOS

A todos do laboratório do HCU-UFU, especialmente ao setor de bacteriologia, pela compreensão com a difícil conciliação dos horários de trabalho e estudo.

Aos docentes do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde por participarem da minha formação científica.

Aos colegas do mestrado, por compartilhar das mesmas dificuldades e tornarem a convivência uma experiência enriquecedora.

Aos membros da banca de qualificação, Marcelo Simão Ferreira e Renata Cesário pela importante contribuição no trabalho.

À técnica de laboratório, Claudete, pela colaboração na realização dos experimentos.

A Ana Lúcia e Michel, pelas dicas de estatística.

À Prof. Dra. Denise e Prof. Dra. Rosineide, pela ajuda sempre disponível.

Aos técnicos do setor de arquivo, pela pontualidade na entrega dos prontuários.

RESUMO

Introdução: A resistência aos carbapenêmicos entre as amostras de *Enterobacteriaceae*, especialmente *Klebsiella pneumoniae*, está se tornando um grave problema nos hospitais e pode resultar da aquisição de diferentes mecanismos que atuam isolados ou combinados, destacando-se diminuição na permeabilidade da membrana externa pela perda de porina associada com hiperprodução de β -lactamases ESBL, AmpC ou produção específica de carbapenemases. As infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (KPRC) estão associadas com altas taxas de morbidade, mortalidade e custos. **Objetivos:** No nosso estudo, descrevemos a epidemiologia e a evolução clínica associadas com a infecção por KPRC, bem como os fatores de risco associados com a mortalidade hospitalar no prazo de 30 dias entre estes pacientes e caracterizamos os mecanismos de resistência: AmpC, ESBL, MBL e KPC. **Métodos:** Estudo modelo caso (pacientes com infecções por KPRC) vs. controle (pacientes não infectados por KPRC) na proporção de 1:2, detectados por vigilância laboratorial e coleta de dados demográficos, das co-morbidades, dos procedimentos invasivos e uso de antimicrobianos, bem como evolução nos respectivos prontuários, realizado entre novembro/2007 e maio/2011. A caracterização fenotípica de AmpC, ESBL e KPC foi realizada pelo teste do ácido borônico como neutralizante de enzima e o de sinergismo com imipenem-EDTA para MBL. A pesquisa de presença de genótipo *bla*_{KPC} foi realizada pela reação de PCR. **Resultados:** No total, foram incluídos 63 pacientes, com 22 pacientes infectados por KPRC em diferentes sítios anatômicos, com predomínio de corrente sanguínea (40%). A resistência ao ertapenem, meropenem e imipenem foi de 100%, 68,2% e 45,4%, respectivamente. A análise estatística dos fatores de risco para infecção por KPRC por regressão logística mostrou as seguintes variáveis como independentes: neoplasia ($P=0,025$; OR=63,74, 95% IC, 1,69-2409,05), índice de co-morbidade Charlson ≥ 3 ($P=0,033$; OR=7,90, 95% IC, 1,18-52,80) e uso da fluorquinolona ($P=0,005$; OR=18,92, 95% IC, 2,42-147,81). O fenótipo de resistência mais freqüente foi o ESBL (90,9%), seguido de AmpC (63,6%) e *bla*_{KPC} (14%), usualmente combinados. A presença de ≥ 3 co-morbidades ($P=0,027$; OR=7,65 95% IC, 1,26-46,53) e infecção por KPRC ($P=0,026$; OR=4,91 95% IC, 1,21-20,05) foram associadas à mortalidade total hospitalar no prazo de trinta dias, esta foi significativa nos pacientes infectados 54,5% ($P=0,026$; OR=3,72, 95% IC, 1,24-11,19) e com freqüência de mortalidade atribuída de 25,2%. **Conclusão:** A taxa de mortalidade associada com infecção por KPRC e a limitação das opções terapêuticas enfatizam a necessidade da melhoria na detecção laboratorial, principalmente dos produtores de KPC, assim como implementar medidas de controle de infecção eficientes para limitar a disseminação desses patógenos em hospitais de países com recursos limitados como o Brasil.

Palavras-chave: Fatores de risco, Mortalidade hospitalar, Infecções por bactérias multirresistentes, Resistência aos carbapenêmicos

ABSTRACT

Introduction: The carbapenem resistance among bacteria of the family *Enterobacteriaceae*, particularly *Klebsiella pneumoniae*, is becoming a serious problem in hospitals through different mechanisms that may act alone or combined, such as changes in outer membrane permeability with the porin loss associated with the overproduction of β -lactamases ESBL and AmpC or the specific production of KPC. These infections by *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems (CRKP) are associated with high morbidity, mortality, and costs. **Objectives:** In our study, we describe the epidemiology and clinical outcomes associated with CRKP infections as well as the risk factors associated with 30 days hospital mortality among these patients and characterize resistance mechanisms: AmpC, ESBL, MBL and KPC. **Methods:** Case study (patients with infections CRKP) vs. control (uninfected by KPRC) at a ratio of 1:2, detected by laboratory surveillance and collecting demographics dates, co-morbidities, use of invasive procedures and antimicrobial use and patient outcome by checking medical records, between November / 2007 to May/2011. Characterization of phenotypic AmpC, KPC and ESBL performed with the test boronic acid as neutralizing enzyme test and synergism with imipenem-EDTA for MBL. The presence of genotype *bla*_{KPC} was performed by PCR. **Results:** In total, 63 patients were included, with 22 patients infected by CRKP in different anatomical sites, predominantly bloodstream infections (40%). Resistance to ertapenem, meropenem and imipenem was 100%, 68.2% and 45.4%, respectively. Statistical analysis by logistic regression of risk factors for infection by CRKP showed the following as independent variables: malignancy ($P = 0.025$, OR = 63.74, 95% CI 1.69 to 2409.05), Charlson co-morbidity index ≥ 3 ($P = 0.033$, OR = 7.90, 95% CI, 1.18 to 52.80) and use of fluoroquinolones ($P = 0.005$, OR = 18.92, 95% CI, 2.42 - 147.81). The ESBL phenotype was most frequent (90.9%), followed by AmpC (63.6%) and *bla*_{KPC} (14%), and usually combined. The presence of co morbidities ≥ 3 ($P = 0.027$, OR = 7.65 95% CI, 1.26 to 46.53) and KPRC infection ($P = 0.026$, OR = 4.91 95% CI, 1, 21 to 20.05) were associated with 30-day hospital mortality, and there was significant mortality in infected patients 54.5% ($P = 0.026$, OR = 3.72, 95% CI, 1.24 to 11.19) with an attributed mortality rate of 25.2%. **Conclusion:** The mortality rate associated with CRKP infection and the limited antimicrobial options for treatment highlight the need for improved laboratory detection, mainly KPC producing isolates, points out that it's crucial to implement efficient infection control measures to limit the spread of these pathogens in hospitals from countries with limited resources as Brazil.

Keywords: Risk factors, Mortality hospital, Infections multi-resistant bacterias, Carbapenems resistance

LISTA DE TABELAS

	pág.
Tabela 1: Susceptibilidade e MIC das amostras de <i>K. pneumoniae</i> resistentes aos carbapenêmicos internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	25
Tabela 2: Fatores de risco e mortalidade associados à infecção por KPRC em 22 pacientes casos e 41 pacientes controles internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	27
Tabela 3: Procedimentos invasivos e uso prévio de antimicrobianos por classes para os pacientes casos e controles internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	28
Tabela 4: Análise multivariada dos fatores de risco dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	29
Tabela 5: Análise univariada dos fatores de risco para a mortalidade nos pacientes do estudo internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	32
Tabela 6: Análise multivariada para a mortalidade nos pacientes do estudo internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	33

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Teste de Hodge modificado: teste positivo (a); teste negativo (b). ETP, ertapenem; MER, meropenem.	20
Figura 2. Resultados obtidos com e sem ácido borônico: KPC/ESBL (a, b); VIM (c,d); AmpC/ESBL (e,f); ESBL (g,h). MER, meropenem; ETP, ertapenem; CTT, cefotetan; FEP, cefepime (TENOVER, 2009).	21
Figura 3. Teste fenotípico para detecção de produção de MBL por disco combinado; (a) imipenem; (b) imipenem + EDTA. IPM, imipenem.	22
Figura 4. Infecções por KPRC segundo o sítio anatômico nos 22 pacientes casos investigados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.	24
Figura 5. Fenótipos de resistência das amostras de <i>K. pneumoniae</i> resistentes aos carbapenêmicos isolados dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011	30
Figura 6. Distribuição espaço-temporal dos pacientes infectados por <i>K. pneumoniae</i> resistentes aos carbapenêmicos, no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.	31
Figura 7. Distribuição temporal dos fenótipos de resistência das amostras de KPRC isoladas dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.	31

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

%- porcentagem

B- beta

µg/ml- microgramas por mililitros

χ^2 - Qui quadrado

≥- maior ou igual

°C- graus Celsius

ATCC- “American Type Culture Collection”

BHI- “Brain Heart Infusion”

CDC- “Centers for Disease Control”

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa

CIM- Concentração Inibitória Mínima

CLM- Clínica Médica

CLSI- “Clinical Laboratory Standards Institute”

CIR- Clínica Cirúrgica

ESBL- Beta-Lactamase de Espectro Ampliado

ETP- ertapenem

HC-UFU- Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

IC- Intervalo de Confiança

IRAS- Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

IRIC- Índice de Risco de Infecção Cirúrgica

IPM- imipenem

KPC- *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

KPRC- *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos

MBL- metalo beta-lactamase

MPM- meropenem

MYSTIC Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection

NNIS- “National Nosocomial Infections Surveillance”

OR- “Odds Ratio”

P- Valor de *P*

SIH- Sistema de Informação Hospitalar

SIRS- Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

spp.- espécies

TRX- Clínica de Transplantes

UFU- Universidade Federal de Uberlândia

UTI- Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

	pág.
1 INTRODUÇÃO	01
2 JUSTIFICATIVA	05
3 REVISÃO DA LITERATURA	06
3.1 Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)	06
3.2 <i>Enterobacteriaceae</i>	07
3.3 Antimicrobianos β -lactâmicos	08
3.4 β -lactamases	09
3.4.1 Cefalosporinases (AmpC)	10
3.4.2 β -lactamase de espectro ampliado: ESBL	10
3.4.3 Carbapenemases: KPC e MBL	11
4 OBJETIVOS	13
4.1 Geral	13
4.2 Específicos	13
5 CASUÍSTICA E MÉTODO	14
5.1 Aspectos éticos	14
5.2 Local e período do estudo	14
5.2.1 Hospital	14
5.3 Desenho do estudo	14
5.4 Coleta de dados demográficos, clínicos e evolução	15
5.5 Definições	16
5.5.1 Infecção hospitalar	16
5.5.2 Mortalidade Hospitalar	16
5.5.3 Cálculo do Índice de Risco de Infecção Cirúrgica (IRIC)	17
5.5.4 Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS)	17
5.5.5 Escore de Charlson	17
5.6 Técnicas Microbiológicas	18
5.6.1 Coleta e estocagem das amostras	18
5.6.2 Identificação das amostras	18
5.6.3 Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos “in vitro”	19
5.6.4 Testes fenotípicos	19
5.6.4.1 Teste de Hodge modificado	19
5.6.4.2 Teste para produção de KPC, ESBL ou AmpC	20
5.6.4.3 Teste para produção de Metallo- β -lactamase	21
5.6.5 Teste genotípico	22
5.7 Análise estatística	22
6 RESULTADOS	24
6.1 Sítios de infecção	24
6.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos	25

6.3 Fatores de risco e mortalidade associados à infecção por KPRC.....	26
6.4 Procedimentos invasivos e uso prévio de antimicrobianos.....	28
6.5 Análise multivariada dos fatores de risco.....	29
6.6 Fenótipos de resistência.....	29
6.7 Surto: relação espaço-temporal entre os pacientes infectado e os fenótipos de resistência, no HC-UFU.....	30
6.8 Análise univariada de preditores para a mortalidade nos pacientes.....	32
6.9 Análise multivariada dos preditores para a mortalidade.....	33
7 DISCUSSÃO.....	34
8 CONCLUSÕES.....	40
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
APÊNDICES.....	49
APÊNDICE A- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	49
APÊNDICE B- Ficha de Investigação.....	50

1 INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) determinadas por bactérias multirresistentes representam um importante problema de saúde pública em expansão, exigindo uma ação conjunta nas práticas de prevenção e controle das mesmas e de antimicrobianos, participações do corpo clínico e detecção laboratorial eficiente (ROSSI, 2011; GISKE et al., 2008).

Estas infecções ocorrem tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, com taxas de morbidade e mortalidade elevadas e aumento de custos (GISKE et al., 2008). O problema é mais expressivo nos hospitais de países em desenvolvimento, pela maior escassez de recursos financeiros, humanos, laboratórios de microbiologia habilitados e práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares, além de uso mais elevado e abusivo de antimicrobianos (TOUFEN et al., 2003).

A seleção dos antimicrobianos adequados no tratamento de infecções tem se tornado cada vez mais difícil pelo aumento e disseminação no ambiente hospitalar de bactérias multirresistentes e a diminuição de opções terapêuticas (SADER; GALES, 2008). O surgimento de organismos multirresistentes juntamente com uma escassez alarmante de novas classes de antimicrobianos desenvolvidas pela indústria farmacêutica, tem obrigado a comunidade da área de saúde a otimizar o potencial terapêutico de antimicrobianos atualmente disponíveis (RICE, 2009). Mudanças na prescrição de antimicrobianos no ambiente hospitalar é uma ação de educação necessária. Muitos determinantes (culturais, contextuais e comportamentais) afetam o uso de antimicrobianos. A grande diversidade de determinantes ditam quais medidas ou estratégias para implementar o uso racional de antimicrobianos. (HULSCHER et al., 2010).

Klebsiella pneumoniae e *Escherichia coli* representam as espécies de *Enterobacteriaceae* mais freqüentes como agentes de infecções hospitalares (GISKE et al., 2008). *K. pneumoniae* é uma bactéria bem reconhecida como freqüente responsável por infecções pulmonares, urinárias e intra-abdominais em pacientes imunocomprometidos (LANDMAN et al., 2007).

A resistência a vários antimicrobianos, como as cefalosporinas de terceira e quarta gerações, é um problema bem reconhecido entre as *Enterobacteriaceae*, pela presença de plasmídios mais expressivos quando comparados com aquelas bactérias susceptíveis aos antimicrobianos (JACOBY; MUNOZ PRICE, 2005). Os plasmídios são materiais extra-cromossomiais, capazes de se replicarem de forma autônoma ao genoma da célula bacteriana, e funcionam como vetores de genes de resistência. Conferem resistência a várias classes de antimicrobianos e carregam β -lactamases como as ESBL e AmpC (CARATTOLI, 2009).

Dois esquemas de classificação para β -lactamases são freqüentemente utilizados: o molecular e o funcional. O primeiro está baseado na estrutura primária das enzimas e divide as β -lactamases nas classes A, C e D que apresentam o grupo serina no seu sítio ativo e a classe B incluindo as metaloenzimas que tem zinco para a hidrólise dos antimicrobianos β -lactâmicos. A classificação funcional considera o substrato e os inibidores para os agrupamentos das enzimas e sua correlação com o fenótipo, distribuídos nos grupos 1, 2 e 3 (BUSH; JACOBY; MEDEIROS, 1995). O sistema atualizado inclui no grupo 1 (classe C) as AmpC, grupo 2 (classes A e D) as ESBL e carbapenemases (KPC) e no grupo 3 as metalo- β -lactamases (BUSH; JACOBY, 2010). Atualmente, a classe mais freqüente de carbapenemases da classe A são as enzimas KPC, principalmente codificadas por plasmídios (NORDMANN; CUZON; NAAS; 2009).

A maioria dos estudos publicados envolvendo tipagem por técnica molecular sobre bactérias produtoras de ESBL referem-se à *K. pneumoniae* (PATERSON; BONOMO, 2005). Nos hospitais brasileiros, a proporção de bacilos Gram negativos produtores de ESBL é mais alta do que em hospitais na Europa e Estados Unidos (PATERSON; BONOMO, 2005; GALES et al., 2012). Isto resultou no crescente uso dos carbapenêmicos como droga de escolha para tratamento das infecções graves que envolvem bactérias produtoras de ESBL e/ou AmpC (LIVERMORE, 2012; PITET, 2005).

A primeira amostra de *K. pneumoniae* produtora de KPC foi identificada na Carolina do Norte, Estados Unidos, identificado em 1996 (YGIT et al., 2001).

A emergência de resistência aos carbapenêmicos entre bactérias da família *Enterobacteriaceae* tornou as opções de tratamento muito restritas (WON et al., 2011). A mortalidade relacionada à sepse por estas bactérias é muito alta, próxima de 60% dos pacientes (NADKARNI et al., 2009).

A resistência aos carbapenêmicos pode envolver muitos mecanismos que podem atuar isoladamente ou em conjunto, tais como: modificação na permeabilidade da membrana ou presença de bomba de efluxo associadas com uma hiperprodução de β -lactamases ESBL e AmpC e produção específica de carbapenemases (YANG; GUO; ZHANG, 2009; PFEIFER; CULLIK; WITTE, 2010).

Surtos hospitalares por bactérias de fenótipo KPC foram relatados em diversas partes do mundo (NORDMANN; CUZON; NAAS; 2009), com crescimento na frequência de resistência ao meropenem de 0,6% em 2004 para 5,6% em 2008 (RHOMBERG, JONES, 2009). No Brasil, os primeiros casos foram relatados em Recife, em 2006, mas logo se espalhou por outras regiões, particularmente nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro (MONTEIRO et al., 2009; PEIRANO et al., 2009; PAVEZ et al., 2009).

A recente emergência e disseminação de enterobactérias produtoras de carbapenemase nos Estados Unidos e Europa representaram uma mudança dramática no tratamento de pacientes imunocomprometidos, como transplantados (MATHERS et al., 2009). A contaminação microbiológica do ar em salas cirúrgicas pode estar acima dos limites aceitáveis, cerca de 60% das cirurgias ortopédicas, influenciando na contaminação per-operatória (VON DOLINGER et al., 2010).

Embora os isolados multirresistentes possam ser fenotipicamente semelhantes, os fatores de risco para aquisição destas infecções podem se diferenciar de acordo como fenótipo de resistência do agente etiológico (SCHWABER ET AL., 2008).

O conhecimento da presença de bactérias resistentes a carbapenêmicos e de sua epidemiologia nos hospitais é fundamental para a adoção de medidas de prevenção e controle nos hospitais. É importante que as comissões de controle de infecção hospitalar e de antimicrobianos estejam

alertas ao surgimento de bactérias multirresistentes como a *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (KPRC).

2 JUSTIFICATIVA

A elaboração desta pesquisa levou em consideração a importância que as IRAS por KPRC têm como agente de infecção hospitalar frente às evidências de ocorrência de surto em hospital universitário, assim como a pouca disponibilidade de informações microbiológicas e, sobretudo epidemiológica no país sobre este microrganismo.

Estudos relativos à epidemiologia de infecções hospitalares por KPRC são praticamente inexistentes na literatura brasileira e são de suma importância em decorrência das poucas opções terapêuticas existentes no momento e da gravidade das infecções.

Considerando que houve surtos nas Unidades de Terapia Intensiva e de Transplantes, tornou-se necessário e importante a rápida detecção laboratorial destas bactérias multirresistentes, bem como a adoção de medidas mais rigorosas em prevenção e controle da disseminação deste microrganismo no hospital.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)

As IRAS em UTIs estão associadas, primariamente, à gravidade clínica dos pacientes, uso de procedimentos invasivos como cateteres, ventilação mecânica, uso de antimicrobianos, uso de imunossupressores, colonização por microrganismos e o próprio ambiente das UTIs, que favorece a seleção natural de bactérias resistentes (SIEGEL, 2010).

Nos pacientes hospitalizados, as IRAS relacionadas ao trato urinário são as mais comuns, contudo, as infecções respiratórias e de corrente sanguínea representam maior gravidade (PELEG; HOOPER, 2010). Pacientes internados em UTIs, bem como transplantados, são mais submetidos aos procedimentos invasivos, exposição aos antimicrobianos e imunossupressores. Esses fatores acabam por predispor à colonização e infecção por bactérias multirresistentes (LINARES et al., 2008; PITTET, 2005). As infecções são comuns em UTIs e o risco aumenta com o tempo de internação nesta unidade, bem como maior mortalidade (VINCENT, 2009).

As taxas de IRAS em UTIs variam entre 18% e 54%, sendo cerca de cinco a dez vezes maiores do que em outras unidades de internação hospitalar. São responsáveis por 5% a 35% de todas as infecções e cerca de 90% de todos os surtos que ocorrem no hospital (COLPAN et al., 2005). As taxas de mortalidade nas UTIs variam de 10% a 40% e podem alcançar 60% devido às IRAS (VINCENT, 2009).

As unidades de transplantes são consideradas de alto risco para o desenvolvimento de infecções; determinado pelas relações de exposições epidemiológicas e individuais do paciente transplantado (FISHMAN, 2007). Surtos por bactérias multirresistentes nas unidades de transplantes requerem maiores cuidados com prevenção e detecção laboratorial mais rápida (ZÁRATE et al., 2008).

3.2 *Enterobacteriaceae*

Os bacilos Gram negativos pertencentes às *Enterobacteriaceae* são as bactérias isoladas com mais frequência de amostras biológicas. Distribuídos amplamente na natureza, esses microrganismos são encontrados no solo, água, plantas e, como indica o nome da família, no trato intestinal de seres humanos e animais (KONEMAN et al., 2001). As bactérias desta família são importantes causas de infecções do trato urinário, infecções da corrente sanguínea, pneumonias comunitárias e hospitalares e infecções intra-abdominais. Nesta família, *Escherichia coli* é freqüente em infecções urinárias, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. são importantes causas de pneumonia (PATERSON; BONOMO, 2005). Antes do advento dos antimicrobianos, da quimioterapia e das medidas imunossupressoras, as doenças infecciosas causadas por *Enterobacteriaceae* estavam relativamente bem definidas. Sabia-se que os casos de pneumonia clássica, caracterizados pela produção de escarro vermelho tijolo eram causados pelo bacilo de Friedlander (*Klebsiella pneumoniae*) (KONEMAN et al., 2001). Atualmente, a maior parte dos isolados de *Klebsiella* spp. estão relacionados com infecções nosocomiais, principalmente decorrentes da colonização de pacientes hospitalizados, sendo diretamente proporcional aos dias de internação, podendo ser isolada de nasofaringe, mãos e fezes com uma frequência de 20%, 42% e 77% respectivamente (PODSCHUN; ULLMAN, 1998)

A *K. pneumoniae* é conhecida primariamente como patógeno que causa graves pneumonias e bacteremias adquiridas na comunidade, principalmente em etilistas com desfechos fatais para os não tratados. Como patógeno oportunista, ataca indivíduos imunocomprometidos, hospitalizados e que apresentam sérias doenças de base. Os principais sítios primários de infecção por *Klebsiella* spp. estão no trato respiratório, urinário, infecções intra-abdominais e sangue (KONEMAN et al., 2001).

A *K. pneumoniae* está entre os principais patógenos que causam bacteremias nos Estados Unidos e Canadá. Na América Latina é o terceiro patógeno mais prevalente isolado do trato respiratório de pacientes

hospitalizados com pneumonia (MARRA et al., 2011). No Brasil, 30 a 60% das *Klebsiella* spp. são produtoras de ESBL (PATERSON; BONOMO, 2005).

Além da alta prevalência em IRAS, a aquisição de mecanismos de resistência aos antimicrobianos tem levado as enterobactérias, principalmente *K. pneumoniae* e *Enterobacter* spp. a alcançar notoriedade entre os patógenos causadores de surtos (ARDANUY et al., 1998).

3.3 Antimicrobianos β -lactâmicos

A descoberta do primeiro antimicrobiano β -lactâmico, a penicilina, em 1928 por Alexander Fleming, representou uma vitória no tratamento de infecções bacterianas. A penicilina, após setenta anos de uso, ainda é uma alternativa para o tratamento de diversas infecções bacterianas. Entretanto, resistência crescente em *Staphylococcus* spp. e *Enterobacteriaceae* por produção de β -lactamases capazes de degradar a penicilina diminuiu a sua indicação clínica (LIVERMORE, 2012).

Outros grupos de β -lactâmicos, como as cefalosporinas, foram desenvolvidos pela indústria farmacêutica, na busca de superar as resistências emergentes. O surgimento de cefalosporinas de terceira geração na prática clínica nos anos 80 foi uma grande vitória contra as bactérias produtoras de β -lactamases, principalmente pela *K. pneumoniae*. Além de serem efetivos para essas enzimas, esses novos antimicrobianos ainda apresentavam menores efeitos nefrotóxicos quando comparados aos aminoglicosídeos e polimixinas (PATERSON; BONOMO, 2005). Contudo, em poucos anos, os bacilos Gram negativos associados às IRAS, como a *K. pneumoniae*, produziram versões mutantes resistentes às cefalosporinas de terceira geração e ao monobactâmico aztreonam (HULSCHER, 2010).

Os carbapenêmicos são antimicrobianos β -lactâmicos de amplo espectro de atividade. Como todos os antimicrobianos dessa classe, agem inibindo a síntese da parede bacteriana através de sua ligação e inativação de proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) e conseqüente lise celular da bactéria

(RODLOFF; GOLDENSTEIN; TORRES, 2006). Possuem amplo espectro de ação “in vitro” contra cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos e bactérias anaeróbias. Os carbapenêmicos são considerados terapia de escolha por sua estabilidade, espectro de ação e boa tolerância pelos pacientes, sendo os efeitos adversos mais comuns referentes às complicações no sítio de infusão e toxicidade gastrointestinal (MOHR, 2008).

O complexo mecanismo de resistência em relação aos antimicrobianos β -lactâmicos envolve vários fatores, como a permeabilidade da membrana externa e a quantidade e tipo das β -lactamases produzidas pela bactéria, bem como a penetração do antimicrobiano no sítio de infecção e a estabilidade da droga ante as variedades enzimáticas (PELEG; HOOPER, 2010).

3.4 β -lactamases

A hidrólise de antimicrobianos β -lactâmicos por β -lactamases é o mecanismo de resistência mais comumente utilizado pelas bactérias Gram negativas de importância clínica. Essas enzimas atuam sobre o antibiótico β -lactâmico rompendo o anel β -lactâmico por um mecanismo de hidrólise com conseqüente inativação da droga. As penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos são as principais opções terapêuticas para muitas doenças infecciosas. A presença e característica dessas enzimas representam papel crítico para a seleção de apropriada terapia (BUSH; JACOBY, 2010).

A classificação das β -lactamases segue tradicionalmente dois esquemas: características funcionais e estrutura primária das enzimas. A classificação molecular é baseada na seqüência de aminoácidos e se divide em β -lactamases das classes A, C e D que utilizam o grupo serina para hidrólise dos antimicrobianos β -lactâmicos e a classe B das metalo-enzimas que requerem íons zinco. O segundo esquema é uma classificação funcional baseada no substrato utilizado e na inativação frente aos inibidores de β -lactamases por estas enzimas de forma que pode ser correlacionado com o fenótipo de resistência (BUSH; JACOBY, 2010).

3.4.1 Cefalosporinases (AmpC)

São enzimas que pertencem a Classe C, observadas em muitas *Enterobacteriaceae*, especialmente *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp. e *Morganella* spp., geralmente presentes nos cromossomos. Elas hidrolisam as cefalosporinas e cefamicinas, como o cefotetan e a cefoxitina, mas não são inibidas pelo ácido clavulônico (JACOBY, 2009).

Em muitas bactérias, enzimas cromossômicas AmpC são induzidas e podem ser expressas por hiperprodução, conferindo resistência às cefalosporinas de terceira geração, onde um isolado inicialmente susceptível pode se tornar resistente com a antibioticoterapia, ou seja, a produção da beta-lactamase ocorrerá após a introdução da terapêutica antimicrobiana (JACOBY, 2009). As mediadas por plasmídios são conhecidas desde 1989. As plasmidiais ocorrem em *E. coli* e *K. pneumoniae*. O significado clínico desta resistência é conferido quando ocorre em conjunto com uma mutação de porina (LIVERMORE; WOODFORD, 2006).

3.4.2 β -lactamase de espectro ampliado: ESBL

As β -lactamases do tipo ESBL pertencem ao grupo 2be e classe molecular A na classificação proposta por Bush, Jacoby e Medeiros em 1995. São resultados de mutações que alteraram a sequência de aminoácidos das primeiras beta-lactamases (TEM e SHV) (BUSH; JACOBY, 2010). Os principais tipos de ESBL das *Klebsiella* spp. são as TEM e SHV e mais recentemente, há um aumento do tipo CTX-M em alguns países europeus e latino-americanos (LIVERMORE, 2012).

Representam o maior grupo, especialmente pela crescente identificação de ESBL nos últimos vinte anos. As primeiras ESBL foram identificadas em *K. pneumoniae* na Alemanha, em 1983. Desde então, o aumento dessa

resistência tem ocorrido em diferentes partes do mundo (PATERSON; BONOMO, 2005).

ESBL são enzimas plasmidiais mediadas, capazes de hidrolisar todas as cefalosporinas (exceto cefamicinas), penicilinas e monobactâmicos e geralmente inibidas pelos inibidores de beta-lactamases (BUSH; JACOBY, 2010).

São resultados de mutações que alteraram a sequência de aminoácidos das primeiras beta-lactamases (TEM e SHV) e pertencem ao grupo 2be (BUSH; JACOBY, 2010). Os principais tipos de ESBL das *Klebsiella* spp. são as TEM e SHV e mais recentemente, há um aumento do tipo CTX-M (LIVERMORE, 2012).

3.4.3 Carbapenemases: KPC e MBL

As carbapenemases representam a família mais versátil das β -lactamases, capazes de hidrolisar a maioria dos antimicrobianos β -lactâmicos comercialmente disponíveis (LIVERMORE; WOODFORD, 2006). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC) são enzimas plasmidiais da classe A serina, onde o mecanismo de hidrólise requer um sítio serina e grupo funcional 2f, capazes de hidrolisar as penicilinas, cefalosporinas e inclusive carbapenêmicos. Após uma rápida expansão das carbapenemases KPC na costa oeste dos Estados Unidos, relatos em outros países começaram a surgir (QWEENAN; BUSH, 2007).

As metalo- β -lactamases (MBL) são enzimas dependentes do íon zinco em seu sítio ativo para a hidrólise dos antimicrobianos, capazes de hidrolisar os carbapenêmicos. Pertencem à classe B de Ambler e classe molecular 3. São mais encontradas nas bactérias Gram negativas não fermentadoras. A presença de MBL é inferior 1% entre as *Enterobacteriaceae* resistentes ao imipenem (QWEENAN; BUSH, 2007).

Os bacilos Gram negativos produtores de carbapenemases causam infecções de difícil tratamento e altas taxas de mortalidade. Os primeiros

relatos descreviam enzimas espécies específicas. Entretanto, os genes de carbapenemases podem ser facilmente transmissíveis, mediadas por plasmídios, entre espécies diferentes (PFEIFER; CULLIK; WITTE, 2010; QWEENAN; BUSH, 2007).

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Realizar estudo epidemiológico de um surto por KPRC em Unidades de Transplantes de Rins e de Terapia Intensiva de Adultos de um hospital universitário brasileiro.

4.2 Específicos

- Analisar os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos associados a infecções por KPRC.
- Avaliar o impacto deste microrganismo na evolução clínica dos pacientes infectados.
- Determinar o perfil de susceptibilidade das amostras de KPRC frente aos antimicrobianos.
- Determinar o(s) mecanismo(s) de resistência(s): presença de β -lactamases AmpC, ESBL, metalo- β -lactamase e/ou KPC.

5 CASUÍSTICA E MÉTODO

5.1 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia, sob o protocolo registro CEP/UFU 327/09 (APÊNDICE A).

5.2 Local e período do estudo

O estudo foi desenvolvido no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), Uberlândia-MG, no período de novembro/2007 a maio/2011.

5.2.1 Hospital

O HC-UFU é um hospital escola, nível terciário de atendimento, com aproximadamente 20.000 internações por ano, 525 leitos instalados, sendo 53 nas UTIs. Está localizado em Uberlândia, Triângulo Mineiro, Minas Gerais, sendo referência para uma população estimada de mais de dois milhões de habitantes. É o maior prestador de serviços SUS (Sistema Único de Saúde) no estado.

5.3 Desenho do estudo

Foram incluídos 63 pacientes adultos, internados no HC-UFU. A pesquisa teve duas partes: a primeira parte consistiu de um estudo caso-controle retrospectivo e a segunda parte foi uma coorte retrospectiva.

O estudo caso-controle visou determinar os fatores de risco associados à infecção por KPRC, na proporção de 1 caso: 2 controles. O grupo dos casos foi definido por pacientes com sinais e sintomas clínicos de infecção como febre, leucocitose e desvio à esquerda, no momento da coleta de espécimes clínicos. Estas amostras foram enviadas para o laboratório de bacteriologia do HC-UFU e apresentaram culturas positivas para KPRC. O grupo dos controles incluiu pacientes que não tiveram culturas positivas para KPRC e distribuídos por sexo, faixa etária (variação de mais ou menos dez anos), internação na mesma unidade e no mesmo período do paciente caso respectivo. A escolha dos pacientes controles foi randomizada a partir de listagens obtidas nas clínicas do hospital seguindo os critérios descritos.

Finalmente, o estudo de coorte possibilitou comparar a mortalidade de todos os pacientes da pesquisa, independente de apresentarem ou não infecção por KPRC, avaliando o efeito da adição da infecção com o quadro de gravidade das co-morbidades intrínsecas do paciente na análise da mortalidade.

5.4 Coleta de dados demográficos, clínicos e evolução

A coleta dos dados demográficos, clínicos e a evolução dos pacientes foram realizadas a partir dos prontuários (registro de dados demográficos, prescrições médicas, evolução) no setor de arquivo do hospital e dados do Sistema de Informação Hospitalar (SIH). Uma ficha individual de avaliação foi preenchida (APÊNDICE B) para todos os pacientes incluídos no estudo com os seguintes itens:

- Idade
- Sexo
- Tempo de internação
- Unidades hospitalares
- Causa da internação
- Tipo de admissão

- Co-morbididades
- Diagnóstico clínico
- Presença de procedimentos invasivos
- Uso prévio de antimicrobianos
- Procedimentos cirúrgicos
- Sítios de infecção
- Evolução clínica

5.5 Definições

5.5.1 Infecção hospitalar

As definições de infecções hospitalares usadas foram as recomendadas pelo “Centers for Disease Control” (CDC). A infecção hospitalar foi aquela que não estava presente ou em incubação no momento da admissão do paciente no hospital e que se manifestou após 48 horas de internação ou após alta, quando pode ser relacionada com a internação ou procedimentos médicos (GAYNES et al., 2001).

Os critérios para a definição de infecções relacionadas ao sítio cirúrgico foram os recomendados pelo CDC e considerados os que ocorreram em um prazo inferior a trinta dias após o procedimento cirúrgico ou um ano para o implante de próteses (GAYNES et al., 2001).

5.5.2 Mortalidade Hospitalar

A mortalidade hospitalar foi considerada para aquelas que ocorreram em um prazo inferior a trinta dias após a data de coleta do espécime clínico que teve desenvolvimento de diagnóstico de infecção.

5.5.3 Cálculo do Índice de Risco de Infecção Cirúrgica (IRIC)

O modelo utilizado para o cálculo foi o índice de risco do “National Nosocomial Infections Surveillance” System (NNISS) que inclui três variáveis:

1. Paciente com escore pré-operatório de 3,4,5 pelos parâmetros da “American Society of Anesthesiologists”.
2. Cirurgia classificada como contaminada ou suja.
3. Duração da cirurgia acima do tempo esperado em 75% de procedimentos similares.

A cada uma destas variáveis, quando presente, foi considerado o valor de um ponto, e somados, resultaram no IRIC, com uma estratificação de zero a três (MANGRAN et al., 1999).

5.5.4 Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS)

A inflamação devido às infecções pode ser seguida por duas ou mais das seguintes manifestações clínicas:

1. Temperatura corporal maior do que 38°C ou menor do que 36 °C.
2. Batimentos cardíacos maiores do que noventa por minuto.
3. Frequência respiratória maior do que vinte por minuto.
4. Alteração no número de leucócitos, com contagem maior do que 12.000/mm³ ou menor do que 4000/mm³
5. Desvio à esquerda, representado pela presença de mais de 10% de bastonetes (BONE et al., 1992).

5.5.5 Escore de Charlson

O escore de Charlson é um índice de gravidade da doença que inclui dezenove condições. Cada uma das condições com um peso de um a seis, derivada dos riscos relativos estimados do perigo proporcional de modelos de

regressão logística usando dados clínicos (CHARLSON et al., 1998). Nesta investigação, foi utilizado como ponto de corte o índice ≥ 3 .

5.6 Técnicas Microbiológicas

5.6.1 Coleta e estocagem das amostras

As amostras de *K. pneumoniae* resistentes a ertapenem foram coletadas no Laboratório de Bacteriologia do HC-UFU, isoladas a partir de espécimes clínicos de pacientes enviadas para análise, conservadas em caldo “Brain Heart Infusion” (BHI) a 15% de glicerol após obter suspensão densa e estocada no freezer a menos 70° C.

5.6.2 Identificação das amostras

As amostras foram semeadas nos meios de cultura: ágar sangue, ágar chocolate, ágar Mc Conkey de acordo com o sítio de coleta do material clínico e incubadas por 24 a 48 horas a 37°C. A identificação das bactérias foi realizada a partir de culturas puras, com uma suspensão em salina a 0,45% até atingir a turbidez de 0,50 a 0,63 de McFarland lida em densitômetro. Em seguida, os cartões foram inseridos no sistema Vitek 2 (bioMérieux, France), onde ocorreu a aspiração da suspensão. Após incubação e leitura colorimétrica das reações, os resultados foram analisados pelo “software” do equipamento e liberados.

5.6.3 Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos “in vitro”

Foram realizados pelo método de diluição em ágar e pelo uso do equipamento Vitek 2 (bioMérieux, France), que libera os resultados em CIM (Concentração Inibitória Mínima). A partir da suspensão realizada para a identificação, foi feita uma nova diluição com 100 µl em 3 ml de salina a 0,45%. Os cartões de antimicrobianos foram inseridos no equipamento Vitek 2 (bioMérieux, France) e continham poços com duas a quatro concentrações para cada antimicrobiano. Cada poço com o antimicrobiano teste foi avaliado automaticamente por um período de oito a dezoito horas. Os dados gerados construíram uma curva de crescimento, e comparados com controles, a CIM de cada antimicrobiano foi liberado.

As regras de interpretação para determinar resultados susceptíveis, intermediários e resistentes seguiram as preconizadas pelo “Clinical Laboratory Standards Institute” (CLSI), 2011. Os antimicrobianos testados foram os seguintes: amicacina, ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefalotina, cefoxitina, cefotaxima, cefepime, ertapenem, gentamicina, imipenem, ciprofloxacina e meropenem. Para a tigeciclina, usamos as recomendações do “U.S. Food and Drug Administration” (susceptível, MIC \leq 2 µg/ml; resistente, MIC \geq 8 µg/ml) e a colistina (susceptível, MIC \leq 2 µg/ml; resistente, MIC \geq 4 µg/ml). O controle de qualidade para CIMs foi realizado com a amostra padrão de *E. coli* ATCC 25922.

5.6.4 Testes fenotípicos

5.6.4.1 Teste de Hodge modificado

O teste de triagem para resistência por produção de carbapenemase foi caracterizada pelo teste de Hodge modificado conforme recomendações do CLSI 2011. Uma suspensão equivalente a escala 0,5 McFarland de *E. coli*

ATCC 25922 foi inoculada em ágar Mueller-Hinton, como na técnica de antibiograma por disco-difusão. A seguir, discos de ertapenem e meropenem foram colocados sobre a placa e a partir dos mesmos uma estria da amostra suspeita foi semeada até a periferia. A placa foi incubada em estufa a 37°C por 16 a 20 horas. Após este período, amostras positivas apresentaram uma distorção de crescimento, na forma de trevo de quatro folhas, em direção ao carbapenêmico (Figura 1).

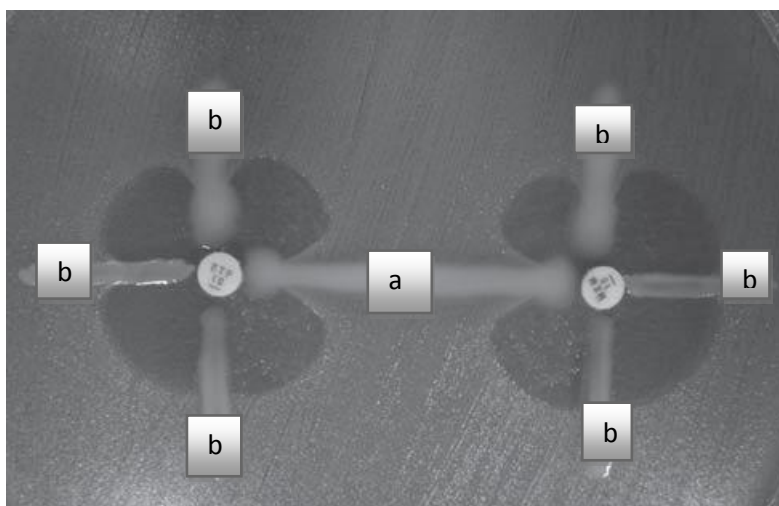


Figura 1: Teste de Hodge modificado: teste positivo (a); teste negativo (b). ETP, ertapenem; MER, meropenem.

5.6.4.2 Teste para produção de KPC, ESBL ou AmpC

Foi realizada com o teste do disco de ácido borônico (ácido aminofenilborônico) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) como neutralizante de enzima. A solução foi preparada com a dissolução de 120 mg de ácido borônico em 6 ml de água destilada, dispensando-se 25 µl desta solução sobre discos contendo sete diferentes β -lactâmicos (ertapenem 10 µg, imipenem 10 µg, meropenem 10 µg, cefepime 30 µg, ceftriaxona 30 µg, cefotaxima 30 µg e cefotetan 30 µg). Os discos foram submetidos à secagem por trinta minutos em ar ambiente e utilizados em tempo inferior a sessenta minutos do preparo.

As amostras de cultivos recentes foram suspensas em solução salina até obter uma turbidez compatível com a escala 0,5 de McFarland e a suspensão foi inoculada em placas de ágar Mueller-Hinton como no teste de disco difusão. Os discos dos antimicrobianos com/sem o ácido borônico foram acrescentados em duas placas, seguindo-se incubação por 24 horas a 37° C. O teste foi considerado positivo para o fenótipo de resistência quando o halo de inibição de crescimento foi maior do que cinco milímetros no disco com ácido borônico do que naquele sem o ácido borônico (Figura 2) (TSAKRIS et al., 2009; TENOVER et al., 2009).

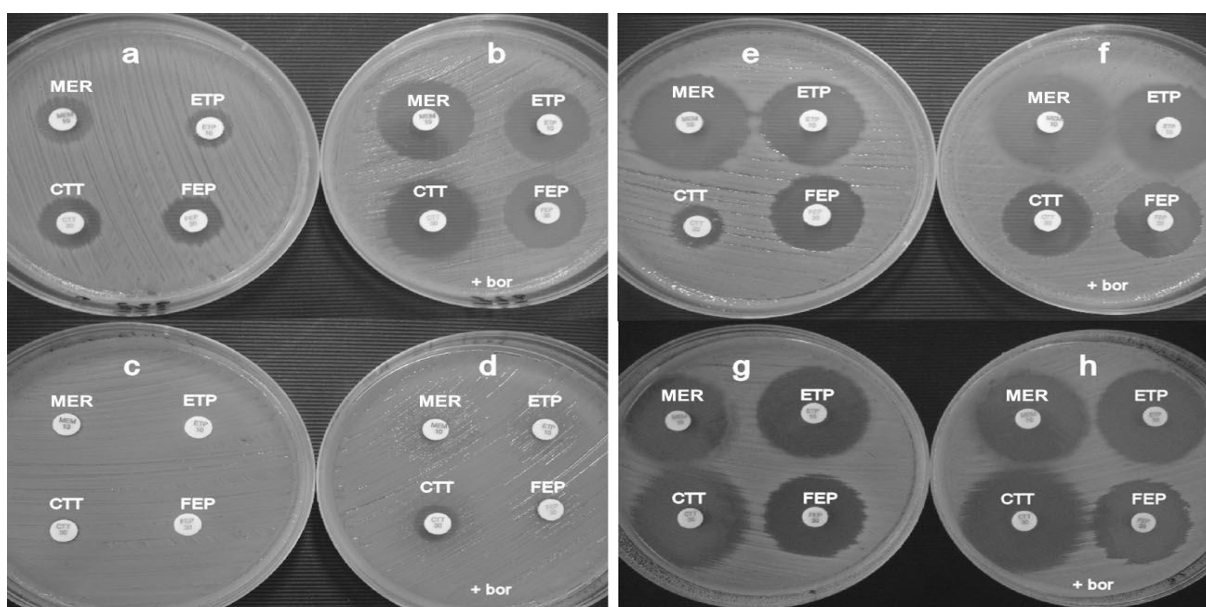


Figura 2: Resultados obtidos com e sem ácido borônico: KPC/ESBL (a,b); VIM (c,d); AmpC/ESBL (e,f); ESBL (g,h). MER, meropenem; ETP, ertapenem; CTT, cefotetam, FEP, cefepime (TENOVER et al., 2009).

5.6.4.3 Teste para produção de Metallo- β -lactamases

Foi utilizado o método do disco combinado. As amostras bacterianas de cultivos recentes foram suspensas em solução salina até a escala 0,5 de McFarland e inoculados em placas de ágar Mueller-Hinton como para teste de

disco difusão. Foram acrescentados dois discos de imipenem, sendo um deles contendo 25 ul de solução de 750 µg de EDTA. As placas foram incubadas 24 horas a 37° C. O teste foi considerado positivo quando um aumento na zona de inibição maior do que seis milímetros estava presente em torno do disco com EDTA (Figura 3) (QUEENAN; BUSH, 2007).

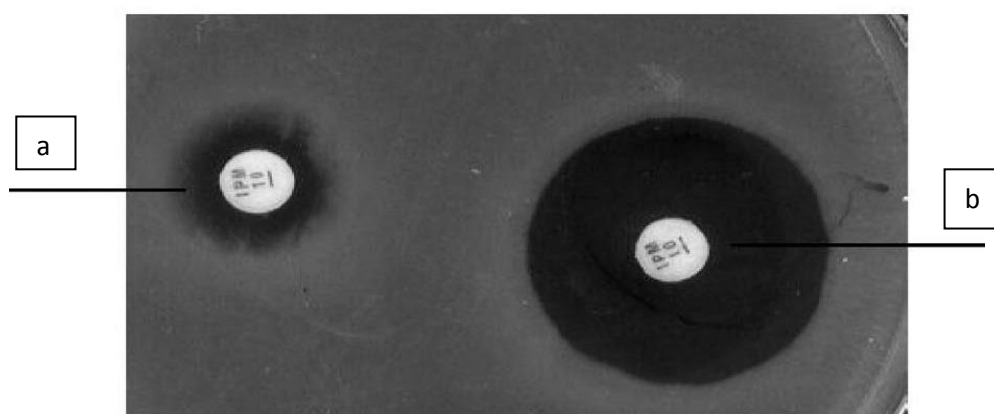


Figura 3: Teste fenotípico para detecção de produção de MBL por disco combinado; (a) imipenem; (b) imipenem + EDTA. IPM, imipenem.

5.6.5 Teste genotípico

Foi realizado o teste de PCR para detecção de genótipo *bla*_{KPC-2} nas amostras de *K. pneumoniae* no Laboratório de Pesquisa em Infecção Hospitalar FIOCRUZ, Rio de Janeiro, utilizando-se como “primers” 5'-ATGTCAGTGTATCGCCGTC-3' e 5'-CTCAGTGCTCTACAGAAAACC-3'.

5.7 Análise estatística

A análise estatística dos fatores de risco para infecção por KPRC foi realizada utilizando-se o teste do χ^2 quando o n foi maior do que cinco e o teste

exato de Fischer quando o n foi igual ou menor do que cinco para comparação entre variáveis qualitativas. Os fatores de risco foram comparados individualmente versus uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas contingência do tipo dois por dois (2 x 2).

Para se evitar dúvidas que surgem devido à análise univariada, foi realizada a estimação de medidas de associação (*odds ratio*) para cada uma das categorias da variável. As variáveis que demonstraram medidas de associação altas foram submetidas à análise multivariada através de modelo de regressão logística. A significância estatística foi definida por um valor de $P \leq 0,05$. O estudo estatístico das variáveis foi realizada utilizando-se os programas Graph Pad Prism 4, Epi Info Software, versão 2000 (San Diego, CA) para a análise univariada e Bioestat 5.0 (Belém, PA, Brasil) para a análise multivariada.

6 RESULTADOS

No total, foram incluídos 63 pacientes. O grupo dos casos foi representado por 22 pacientes com infecções por KPRC selecionados por vigilância epidemiológica laboratorial e o grupo dos controles foi formado por 41 pacientes sem infecção por esta bactéria. O estudo ocorreu entre novembro de 2007 a maio de 2011.

6.1 Sítios de infecção

No total, foram detectados 35 episódios de infecção por *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos nos 22 pacientes, sendo a infecção da corrente sangüínea a mais freqüente (40,0%), seguida de urinária (25,7%) e de sítio cirúrgico (22,8%) (Figura 4).

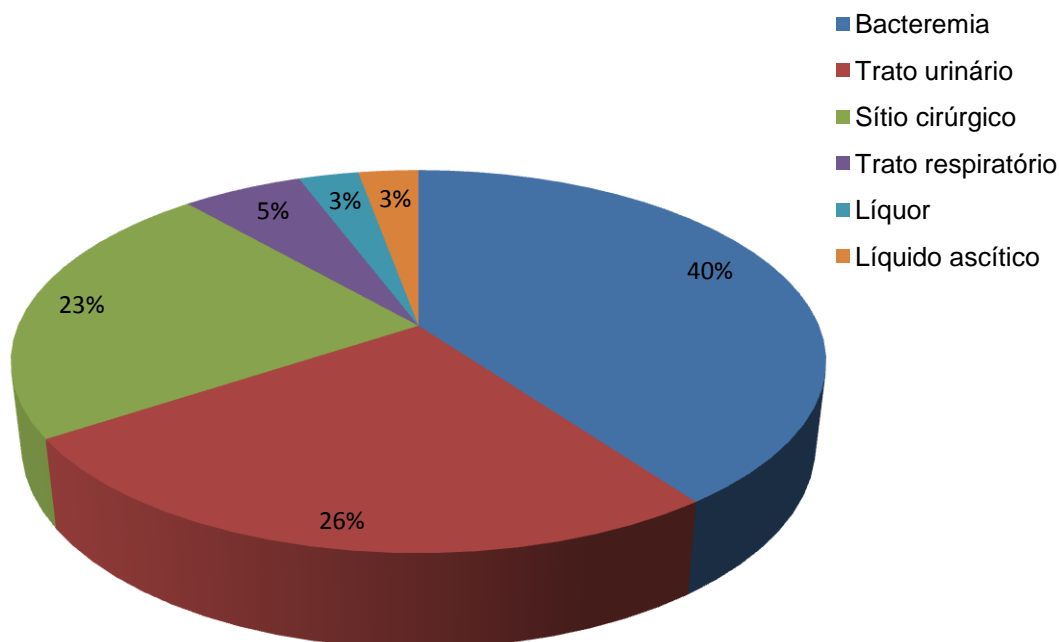


Figura 4: Infecções por KPRC segundo o sítio anatômico nos 22 pacientes casos investigados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.

6.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

Todas as amostras testadas foram resistentes (100%) para ciprofloxacina, cefoxitina, cefotaxima e cefepime, bem como altas taxas de resistência aos carbapenêmicos: 100% para ertapenem, 68,2% para meropenem e 45,4% para imipenem. A amicacina apresentou susceptibilidade por 81,8% das amostras testadas (Tabela 1).

Tabela 1: Susceptibilidade e MIC das amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

Antimicrobiano	Susceptível N=22 (%)	Intermediário N=22 (%)	Resistente N=22 (%)	MIC ₅₀ µg/ml	MIC ₉₀ µg/ml	Variação MIC (µg/ml)
Amicacina	18 (81,8)	0 (0)	4 (18,2)	16	16	4 a ≥64
Ciprofloxacina	0 (0)	0 (0)	22 (100)	≥4	≥4	≥4
Cefoxitina	0 (0)	0 (0)	20 (90,9)	≥64	≥64	8 a ≥64
Cefotaxima	0 (0)	0 (0)	22 (100)	≥64	≥64	32 a ≥64
Cefepime	0 (0)	0 (0)	22 (100)	≥64	≥64	16 a ≥64
Ertapenem	0 (0)	0 (0)	22 (100)	≥8	≥8	4 a ≥8
Imipenem	7 (31,8)	5 (22,7)	10 (45,4)	4	8	≤1 a ≥8
Meropenem	3 (13,6)	4 (18,2)	15 (68,2)	4	16	≤1 a ≥16
Tigeciclina ^a	22 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,5	≤0,5 a 2
Colistina ^a	22 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,5	≤0,5 a 1

Susceptibilidades de acordo com a padronização do CLSI.

^a Segundo pontos de corte estabelecidos pelo FDA.

6.3 Fatores de risco e mortalidade associados à infecção por KPRC

Os fatores de risco e a mortalidade associados à infecção por KPRC entre os 63 pacientes são mostrados na tabela 2. Todos os pacientes analisados eram adultos, com a idade média de 55,1 anos (variação 22 anos-85 anos) nos casos e com 56,7 anos (variação 19 anos-89 anos) nos controles, com o predomínio do sexo masculino (63,6% e 63,4%, respectivamente).

A maioria teve procedimento cirúrgico como causa de internação (68,2% dos casos e 78,0% dos controles), com a admissão hospitalar pela urgência (54,5% dos casos e 56,1% dos controles) e com passagem pela UTI do hospital (68,2% dos casos e 70,7% dos controles). A frequência de transferência de outra instituição foi alta, correspondendo a 36,4% e 46,3% no primeiro e segundo grupos, respectivamente.

Na mesma tabela, observou-se que a presença de mais de duas comorbidades foi predominante em 72,7% nos casos e 65,8% nos controles, sendo as mais frequentes: cardiopatia e nefropatia nos infectados (36,4%) e cardiopatia e pneumopatia (34,1%, 36,6% respectivamente) no grupo controle. Neoplasia como co-morbidade ($P=0,017$; OR=7,31, 95% IC, 1,33-40,16), índice de co-morbidade Charlson ≥ 3 ($P=0,004$; OR=5,18, 95% IC, 1,69-15,90) e tempo de internação superior a 30 dias ($P=0,015$; OR=4,23, 95% IC, 1,41-12,69) foram fatores de risco associados com a infecção por KPRC com o grupo de casos, quando da análise univariada. A mortalidade hospitalar no prazo de trinta dias também foi significativa nos pacientes infectados quando comparada a verificada no grupo controle, correspondendo a 54,5% e 29,3% respectivamente ($P=0,026$; OR=3,72, 95% IC, 1,24-11,19); com uma frequência de mortalidade atribuída de 25,2%, ou seja, um quarto da população estudada morreu em decorrência da infecção por KPRC.

Tabela 2: Fatores de risco e mortalidade associados à infecção por KPRC em 22 pacientes casos e 41 pacientes controles internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

Fatores de risco	Pacientes		P	OR (95 % IC)
	Casos N= 22 (%)	Controles N= 41 (%)		
Idade: média, anos, (variação)	55,1 (22-85)	56,7 (19-89)		
Sexo Masculino	14 (63,6)	26 (63,4)	1,00	1,01 (0,34-2,96)
Tempo de internação:				
média, dias, (variação)	76,8 (13-226)	22,6 (4-52)		
≥ 30 dias	14 (63,6)	12 (29,3)	0,015	4,23 (1,41-12,69)
Causa da internação				
Clínica	6 (27,3)	9 (21,9)	0,76	1,33 (0,40-4,40)
Cirúrgica	12 (54,5)	22 (53,6)	1,00	1,03 (0,37-2,93)
Trauma	4 (18,2)	10 (24,3)	0,75	0,69 (0,19-2,52)
Tipo de admissão				
Eletiva	4 (18,2)	7 (17,1)	1,00	1,08 (0,27-4,18)
Urgência	12 (54,5)	23 (56,1)	1,00	0,94 (0,33-2,66)
Emergência	6 (27,3)	11 (26,8)	1,00	1,02 (0,32-3,28)
Unidade de internação				
Unidade de Terapia Intensiva	15 (68,2)	29 (70,7)	1,00	0,89 (0,29-2,72)
Transplante	3 (13,6)	5 (12,2)	1,00	1,14 (0,24-5,28)
Cirúrgica	2 (9,0)	3 (7,3)	1,00	1,27 (0,19-8,22)
Clínica médica	2 (9,1)	4 (9,7)	1,00	0,92 (0,15-5,50)
Transferência de outra instituição	8 (36,4%)	19 (46,3)	0,59	0,66 (0,23-1,92)
Co-morbidades				
Cardiopatía	8 (36,4)	14 (34,1)	1,00	1,10 (0,37-3,25)
Diabetes mellitus	6 (27,3)	12 (29,3)	1,00	0,91 ((0,28-2,88)
Nefropatia	8 (36,4)	11 (26,8)	0,56	1,56 (0,51-4,73)
Neoplasia	6 (27,3)	2 (4,9)	0,018	7,31 (1,33-40,16)
Neuropatia	3 (13,6)	8 (19,5)	0,73	0,65 (0,15-2,75)
Pneumopatia	6 (27,3)	15 (36,6)	0,58	0,65 (0,21-2,02)
≥ 2	16 (72,7)	27 (65,8)	0,77	1,38 (0,44-4,32)
Índice co-morbidade Charlson ≥ 3	15 (68,2)	12 (29,3)	0,004	5,18 (1,69-15,90)
Procedimentos cirúrgicos	15 (68,2)	32 (78,0)	0,54	0,60 (0,19-1,93)
IRIC ≥ 2	8 (36,4)	12 (29,3)	0,78	1,21 (0,41-3,57)
Mortalidade	12 (54,5)	10 (29,3)	0,026	3,72 (1,24-11,19)

IRIC, Índice de Risco de Infecção Cirúrgica

6.4 Procedimentos invasivos e uso prévio de antimicrobianos

Os procedimentos invasivos e o uso prévio de antimicrobianos por classes entre os pacientes infectados e os não infectados como fatores de risco estão na tabela 3. Não se verificou diferença significativa quanto à utilização de procedimentos invasivos, exceto a hemodiálise ($P=0,018$; OR=3,77, 95% IC, 1,27-11,21). As cefalosporinas de terceira geração foram os antimicrobianos mais prescritos, tanto nos casos (95,4%) quanto nos controles (87,8%). Os antimicrobianos que mostraram diferença significativa nos dois grupos foram: carbapenêmicos ($P=0,017$; OR=4,17, 95% IC, 1,35-12,89), glicopeptídeos ($P=0,006$; OR=6,03 95% IC, 1,54-23,58) e fluorquinolonas ($P=0,002$; OR=6,22, 95% IC, 1,99-19,48).

Tabela 3: Procedimentos invasivos e uso prévio de antimicrobianos por classes para os pacientes casos e controles internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

Fatores de risco	Pacientes		P	OR (95 % IC)
	Casos	Controles		
	N= 22 (%)	N= 41 (%)		
Procedimentos invasivos				
Cateter naso-entérico	16 (72,7)	30 (73,2)	1,00	0,98 (0,30-3,14)
Cateter urinário	20 (90,9)	32 (78,0)	0,30	2,81 (0,55-14,37)
Cateter venoso central	20 (90,9)	30 (73,2)	0,12	3,67 (0,73- 18,34)
Hemodiálise	14 (63,6)	13 (31,7)	0,018	3,77 (1,27-11,21)
Ventilação mecânica	15 (68,2)	28 (68,3)	1,00	0,99 (0,33-3,03)
Classes de antimicrobianos				
Aminoglicosídeo	2 (9,1)	2 (4,9)	0,61	1,95 (0,25-14,90)
Carbapenêmico	16 (72,7)	16 (39,0)	0,017	4,17 (1,35-12,89)
Cefalosporina 3ª	21(95,4)	36 (87,8)	0,66	2,92 (0,32-26,69)
Glicopeptídeo	19 (86,4)	21 (48,8)	0,006	6.03 (1,54-23,58)
Fluorquinolona	14 (63,6)	9 (21,9)	0,002	6,22 (1,99-19,48)

6.5 Análise multivariada dos fatores de risco

Na análise multivariada, neoplasia ($P=0,025$; OR=63,74, 95% IC, 1,69-2409,05), índice de co-morbidade Charlson ≥ 3 ($P=0,033$; OR=7,90, 95% IC, 1,18-52,80) e uso do antimicrobiano fluorquinolona ($P=0,005$; OR=18,92, 95% IC, 2,42-147,81) foram associados com a infecção por KPRC (Tabela 4).

Tabela 4: Análise multivariada dos fatores de risco dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

Fatores de risco	<i>P</i>	OR (95 % IC)
Tempo de internação ≥ 30 dias	0,53	1,69 (0,33-8,71)
Neoplasia	0,025	63,74 (1,69-2409,05)
Índice co-morbidade Charlson ≥ 3	0,033	7,90 (1,18-52,80)
Hemodiálise	0,12	4,48 (0,68-29,65)
Uso de carbapenêmico	0,30	2,71 (0,40-18,22)
Uso de glicopeptídeo	0,06	9,41 (0,94-94,43)
Uso de fluorquinolona	0,005	18,92 (2,42-147,81)

6.6 Fenótipos de resistência

O fenótipo de resistência mais freqüente foi ESBL (90,9%), seguido de AmpC (63,6%) com a maioria das amostras apresentando simultaneamente os dois. As três amostras identificadas com fenótipo e genótipo KPC também se comportavam como ESBL e AmpC (Figura 5). O fenótipo MBL não foi detectado entre as amostras.

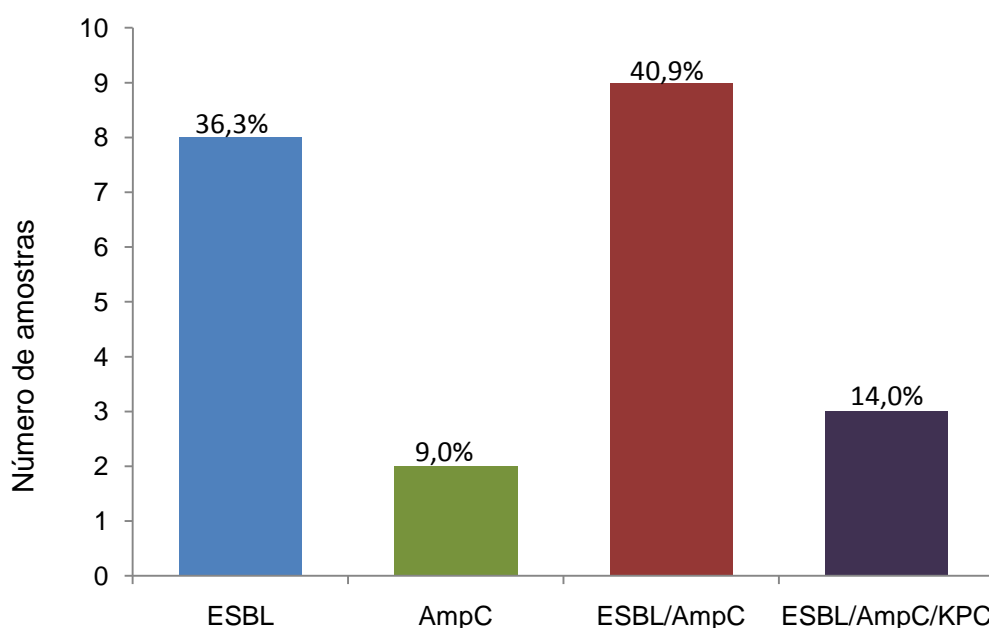
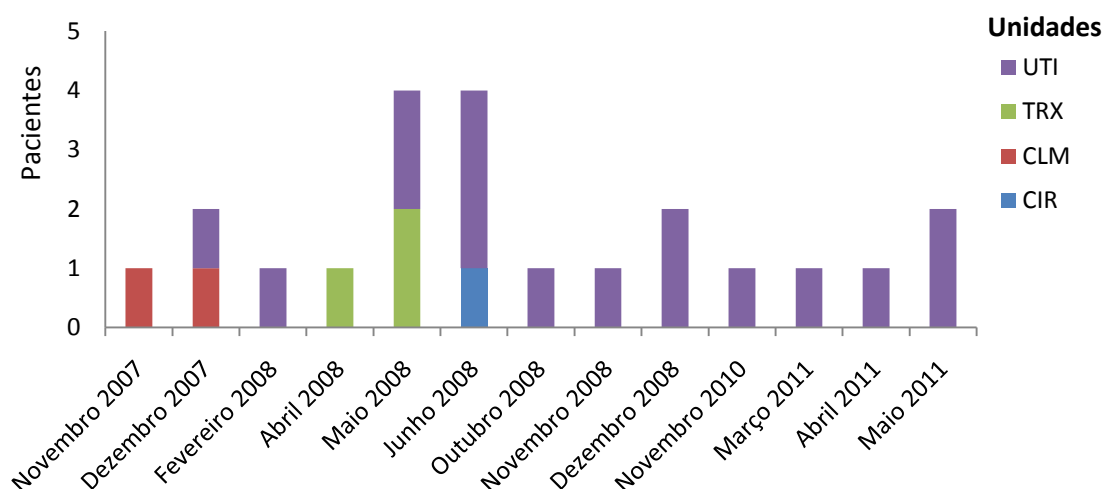


Figura 5: Fenótipos de resistência das amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos isolados dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.

6.7 Surto: relação espaço-temporal entre os pacientes infectados e os fenótipos de resistência, no HC-UFU

Os episódios de infecção por KPRC ocorreram entre novembro/2007 a maio/2011 (Figuras 6 e 7), verificando-se dois “clusters” entre abril e junho de 2008, na TRX e UTI, com três e cinco casos respectivamente, evidenciando relação espaço-temporal. Estes surtos foram causados pelo fenótipo ESBL/AmpC na TRX e ESBL na UTI. Após outubro/2008, as amostras provenientes de pacientes internados na UTI apresentaram o fenótipo ESBL/AmpC.

Entre março/2011 e maio/2011, observou-se 3 casos do fenótipo ESBL/AmpC/KPC, também de pacientes internados na UTI, sendo o primeiro paciente transferido de outra instituição.



UTI, Unidade de Terapia Intensiva, TRX, Unidade de Transplantes, CLM, Clínica Médica e CIR, Clínica cirúrgica

Figura 6: Distribuição espaço-temporal dos pacientes infectados por *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.

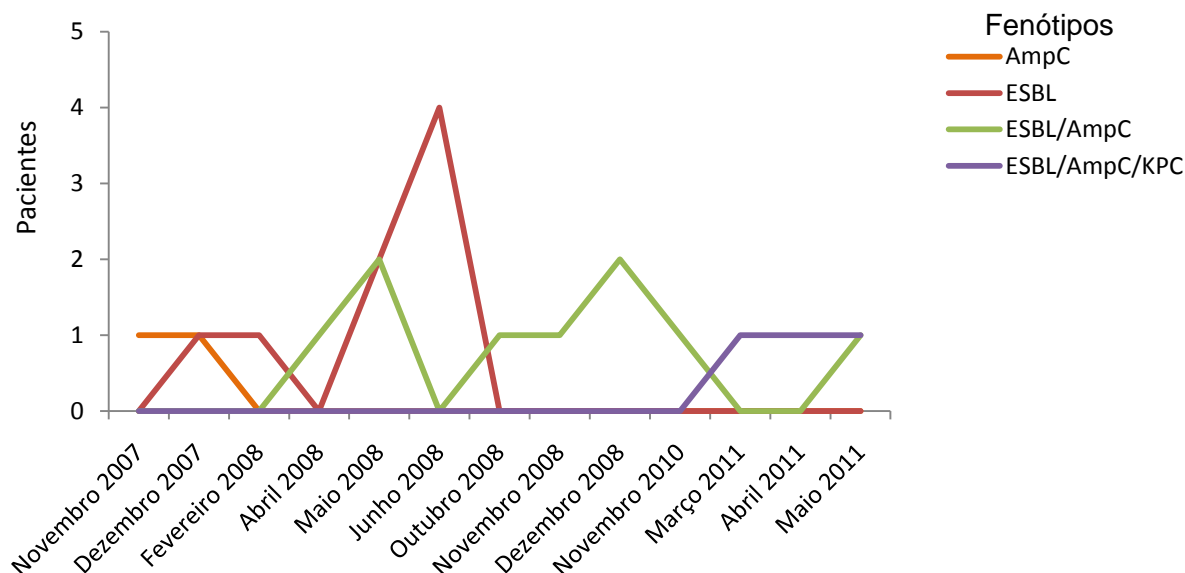


Figura 7: Distribuição temporal dos fenótipos de resistência das amostras de KPRC isoladas dos pacientes internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011.

6.8 Análise univariada de preditores para a mortalidade nos pacientes

Os preditores para a mortalidade estão mostrados na tabela 5, incluindo todos os pacientes do estudo, independente de apresentarem ou não a infecção por KPRC. Na análise univariada, tempo de internação ≥ 30 dias ($P=0,003$; OR=5,84, 95% IC, 1,88-18,14), co-morbidade ≥ 2 ($P=0,003$; OR=4,49, 95% IC, 1,14-17,61), índice co-morbidade Charlson ≥ 3 ($P=0,001$; OR=7,27, 95% IC, 2,27-23,33), IRIC ≥ 2 ($P=0,045$; OR=3,56, 95% IC, 1,16-10,90) e infecção por KPRC ($P=0,026$; OR=4,49, 95% IC, 1,14-17,61) foram associados significativamente com a mortalidade.

Tabela 5: Análise univariada dos fatores de risco para a mortalidade nos pacientes do estudo internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

	Evolução		P	OR (95 % IC)
	Óbito N= 22 (%)	Alta N= 41 (%)		
Idade: média, anos, (variação)	67,3 (31-89)	47,6 (19-80)		
Sexo Masculino	15 (68,2)	25 (61,0)	0,78	1,37 (0,46-4,10)
Tempo de internação:				
≥ 30 dias	15 (68,2)	11 (26,8)	0,003	5,84 (1,88-18,14)
Co-morbidades				
Cardiopatia	11 (50,0)	11 (26,8)	0,09	2,73 (0,92-8,07)
Diabetes mellitus	6 (27,3)	12 (29,3)	1,00	0,91 (0,28-2,88)
Nefropatia	7 (31,8)	12 (29,3)	1,00	1,13 (0,37-3,46)
Neoplasia	4 (18,2)	4 (9,7)	0,43	2,06 (0,46-9,18)
Neuropatia	6 (27,3)	5 (12,2)	0,17	2,70 (0,72-10,16)
Pneumopatia	10 (45,4)	11 (26,8)	0,09	2,58 (0,86-7,77)
≥ 2	19 (86,40)	24 (58,5)	0,027	4,49 (1,14-17,61)
Índice co-morbidade Charlson ≥ 3	16 (72,7)	11 (26,8)	0,001	7,27 (2,27-23,33)
Procedimentos cirúrgicos	18 (81,8)	29 (70,7)	0,38	1,86 (0,52-6,67)
IRIC ≥ 2	11 (50,0)	9 (21,9)	0,045	3,56 (1,16-10,90)
Procedimentos invasivos				
Cateter naso-enterico	18 (81,8)	28 (68,3)	0,37	2,09 (0,59-7,42)
Cateter urinário	18 (81,8)	34 (82,3)	1,00	0,93 (0,24-3,59)
Cateter venoso central	20 (90,9)	30 (73,2)	0,11	3,67 (0,73-18,34)
Hemodiálise	14 (63,6)	13 (31,7)	0,78	0,81 (0,27-2,42)
Ventilação mecânica	17 (77,3)	26 (63,4)	0,15	2,88 (0,82-10,08)
Infecção por KPRC	12 (54,5)	10 (24,4)	0,026	4,49 (1,14-17,61)

6.9 Análise multivariada dos preditores para a mortalidade

Na análise multivariada dos preditores para a mortalidade, apenas co-morbidades ≥ 2 ($P=0,027$; OR=7,65 95% IC, 1,26-46,53) e infecção por KPRC ($P=0,026$; OR=4,91 95% IC, 1,21-20,05) foram associados significativamente com a mortalidade (Tabela 6).

Tabela 6: Análise multivariada para a mortalidade nos pacientes do estudo internados no HC-UFU, no período de novembro/2007 a maio/2011

Fatores de risco	<i>P</i>	OR (95 % IC)
Tempo de internação ≥ 30 dias	0,79	1,18 (0,33-4,28)
Co-morbidades ≥ 2	0,0271	7,65 (1,26-46,53)
Índice co-morbidade Charlson ≥ 3	0,35	0,48 (0,11-2,21)
IRIC ≥ 2	0,68	1,29 (0,39-4,35)
Infecção por KPRC	0,026	4,91 (1,21-20,05)

7 DISCUSSÃO

O aumento de pacientes infectados por bactérias multirresistentes aos antimicrobianos no ambiente hospitalar tornou-se um problema mundial de saúde pública. Estas infecções estão associadas às taxas mais altas de morbidade, mortalidade, bem como a internações mais prolongadas e custos mais expressivos (HULSCHER et al., 2010). Em países da América Latina, a frequência destas amostras é ainda mais alta quando comparada à de países desenvolvidos, particularmente quando de bacilos Gram negativos (GALES et al., 2012).

Atualmente, *Klebsiella* spp. é o patógeno mais frequentemente isolado de pacientes com infecções de corrente sanguínea nos hospitais brasileiros (MARRA et al., 2011). No nosso estudo foram diagnosticados 22 pacientes com infecções por KPRC, com cerca da metade com infecção em mais de um sítio anatômico, sendo 40% na corrente sanguínea. Em 2010, Nguyen e colaboradores relataram dados semelhantes numa série com pacientes transplantados e com co-morbidades graves, onde 42% apresentaram culturas de sangue positivas para KPRC. Adicionalmente, a taxa de incidência de bacteremias por bactérias Gram negativas multirresistentes representou 37% do total de isolados em estudo envolvendo pacientes transplantados em hospitais brasileiros em investigação relatada por OLIVEIRA et al., 2007.

A baixa susceptibilidade aos antimicrobianos nas amostras de KPRC encontrada em nosso estudo é preocupante, com resistência principalmente aos β -lactâmicos e fluorquinolonas. Aproximadamente um terço apresentou resistência ao meropenem e imipenem. A ausência de susceptibilidade ao ertapenem já era esperada, considerando tratar-se de marcador de resistência aos carbapenêmicos, podendo estar relacionado diretamente à enzima KPC ou a outros mecanismos que diminuem a susceptibilidade a este antimicrobiano de forma específica (WOODFORD, 2010). A CIM relativa ao antimicrobiano imipenem com valor máximo de 8 μ g/ml pode ser relacionada a diminuição de permeabilidade de membrana externa pela perda de porina, associada à produção de β -lactamases do tipo ESBL e AmpC (LIVERMORE &

WOODFORD, 2006). A taxa de susceptibilidade foi de apenas 13,6% ao meropenem. Por outro lado, dados do “Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection” (MYSTIC) apontam para um aumento na susceptibilidade de *K. pneumoniae* nos últimos anos, nos Estados Unidos, em função de práticas de controle de disseminação de amostras resistentes (RHOMBERG & JONES, 2009).

Estudo recente no Brasil mostrou que 54% das amostras de *K. pneumoniae* isoladas de sangue eram ESBL positivo e 81% apresentavam resistência às fluorquinolonas (ROSSI, 2011). Em nossa instituição, 17,5% das infecções hospitalares foram causadas por amostras de *K. pneumoniae*, e destas, 87,1% apresentaram resistência aos β -lactâmicos por produção de ESBL (MOREIRA et al., 2011). A prevalência crescente destes microrganismos aumentou a dependência do uso de carbapenêmicos, antimicrobianos considerados como a opção para o tratamento de infecções por bacilos Gram negativos multi-resistentes (LIVERMORE, 2012). O fato crucial decorrente da emergência de amostras de *K. pneumoniae* com resistência aos carbapenêmicos consiste nas poucas alternativas de tratamento, que incluem colistina e tigeciclina, que apresentam problemas em termos de toxicidade e eficácia, respectivamente (LIVERMORE et al., 2011).

Os resultados dos testes fenotípicos observados na nossa investigação mostraram um comportamento diversificado com relação à resistência aos carbapenêmicos. A maioria das amostras (90,91%) foram do fenótipo ESBL, seguida de AmpC (63,64%), combinação dos dois mecanismos de resistência (54,54%) e KPC (14,00%). Os bacilos Gram negativos apresentam múltiplos mecanismos de resistência aos antimicrobianos, destacando-se alterações na permeabilidade da membrana, com a perda da porina, bombas de efluxo e/ou maior expressão destas enzimas (GUPTA et al., 2011; DOUMITH et al., 2009). Os nossos achados sugerem que a inativação por β -lactamases (ESBL e/ou AmpC) e/ou perda de porina foram responsáveis pela resistência das amostras de *K. pneumoniae* aos carbapenêmicos em 86,36%. A presença do genótipo *bla_{KPC}* foi observada em apenas três isolados, nas quais os fenótipos ESBL e AmpC também foram detectados. Alguns surtos relatados em hospitais

brasileiros também foram por amostras com múltiplos mecanismos de resistência associados (MONTEIRO, 2009; PEIRANO, 2009).

Embora, o número de casos detectados pelo fenótipo/genótipo KPC em nosso trabalho seja pequeno (três isolados), a sua detecção é bastante preocupante, visto que se trata de resistência usualmente de natureza plasmidial e, portanto de maior disseminação, especialmente quando carregadas por *K. pneumoniae*, microrganismo de notória capacidade para acumular e transferir plasmídios com determinantes para resistência (MONTEIRO et al., 2009). Até o momento, não foi encontrado o fenótipo MBL, porém descrito no estado de São Paulo (LINCOPAN et al., 2005; PAVEZ et al., 2009).

Clones multirresistentes de *K. pneumoniae* são mais transmissíveis do que outras bactérias hospitalares e podem não ser controlados pelas padronizações correntes de controle de infecção hospitalar (PAAUW et al., 2007). O potencial para a disseminação destes clones bem como dos plasmídios é preocupante e após surtos, muitas vezes, pode se tornar endêmica. A disseminação desta bactéria entre hospitais, países e mesmo continentes já é uma realidade (WOODFORD et al., 2010; ROGERS et al., 2011). A frequência de KPRC envolvidas em infecções nosocomiais nos Estados Unidos cresceu de menos de 1% para 8% do total de isolados desta bactéria de 2000 a 2007. A situação em países com recursos limitados é mais preocupante, com mais chances de surtos pela maior carência de implementação de práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares, bem como do uso empírico de antimicrobianos de forma inadequada (KUMARASAMY et al., 2010).

Até recentemente, amostras de KPC eram encontradas raramente em hospitais da América Latina. A produção de ESBL (CTX-M) somada à perda de porina era o mecanismo de resistência aos carbapenêmicos geralmente encontrado (CARVALHAES et al., 2010). Entretanto, observou-se a partir de 2008 um aumento no número de *K. pneumoniae* produtoras de KPC-2 (GALES, 2012), como aparentemente evidenciado na nossa investigação. Clones deste microrganismo já representam problema hospitalar significativo nos Estados Unidos, Grécia e Israel (GUPTA et al., 2011). O caso índice de *K. pneumoniae*

com fenótipo/genótipo KPC no nosso estudo correspondeu a um paciente transferido de outra instituição, situação rotineira nos hospitais brasileiros de maior complexidade, e que reforça a preocupação atual com o deslocamento de pessoas colonizadas e/ou infectadas por bactérias multirresistentes (ROGERS et al. 2011)

Há poucos estudos sobre a epidemiologia envolvendo os fatores de risco em pacientes infectados por *K. pneumoniae* resistentes no nosso país. Por outro lado, existem vários artigos publicados caracterizando a associação entre os fatores de risco e bactérias Gram negativas produtoras de ESBL. Algumas generalizações podem ser feitas, incluindo entre os fatores de risco: prolongada internação hospitalar, uso de antimicrobianos, procedimentos invasivos e internação em UTI (PATERSON e BONOMO, 2005).

O nosso estudo evidenciou os seguintes fatores de risco significativos ($P < 0,05$) para infecção por KPRC: tempo de internação superior a trinta dias, índice de co-morbidade Charlson ≥ 3 , portador de neoplasia, hemodiálise e uso dos antimicrobianos (carbapenêmicos, glicopeptídeos e fluorquinolonas) quando da análise univariada, persistindo como fator independente na análise multivariada: índice de co-morbidade Charlson ≥ 3 , neoplasia e uso de fluorquinolonas. Resultados semelhantes foram obtidos por SCHWABER et al. (2008) em Israel que relataram como fator de risco independente para a presença de infecção por KPRC: estado de saúde deficiente, atendimento em UTI e uso de antimicrobianos.

Neoplasia, como co-morbidade também foi um fator independente para infecção por KPRC nas análises univariada e multivariada. Isto pode ser devido ao número baixo de pacientes do nosso estudo com esta co-morbidade, quando da comparação com o grupo controle. Por outro lado, Schwaber et al. (2008) relataram a neoplasia como fator protetor contra a aquisição de germes nosocomiais multirresistentes em função da internação destes pacientes em condições de isolamento protetor em países desenvolvidos.

A infecção por KPRC na série investigada ocorreu após tempo de internação prolongado (média de 77 dias) e em pacientes internados em UTI (68%), a exemplo de outros trabalhos (SCHWABER et al., 2008,

KRITSOTAKIS et al., 2011). Os pacientes infectados, sobretudo os colonizados, representam importantes reservatórios para a transmissão e disseminação de bactérias multirresistentes no ambiente hospitalar (GUPTA, et al., 2011).

Estudos relatam correlação significativa entre o consumo de antimicrobianos e a prevalência de bactérias Gram negativas multirresistentes. O uso de antimicrobianos, incluindo carbapenêmicos e fluorquinolonas foi associado como fator predisponente para a infecção por KPRC (KWAK et al., 2005, FALAGAS et al., 2007; SCHWABER et al., 2008), como evidenciado em nosso estudo. Entretanto, em uma investigação na Coreia do Sul, o uso de carbapenêmicos, assim como as cefalosporinas foi associado como fatores de risco para a infecção por KPRC, enquanto o de fluorquinolonas foi considerado protetor (KWAK et al., 2005). Contudo, Falagas e colaboradores (2007) descreveram a fluorquinolona como fator de risco independente para infecção por KPRC.

No nosso estudo, as taxas de mortalidade total e atribuída nas infecções por KPRC de diferentes fenótipos de resistência foram 54,5% e 25,2%, respectivamente. A mortalidade nos casos de KPC foi ainda maior (66,66%), similar com o relatado por NADKARNI et al. (2009) em pacientes com sepse confirmada por hemoculturas positivas.

Há algumas limitações em nosso estudo: o número de casos foi relativamente pequeno (22 casos), dificultando a mensuração dos fatores de risco e sua evolução, embora tentássemos contornar o problema usando princípios epidemiológicos já estabelecidos. Adicionalmente, embora as amostras fossem resistentes aos carbapenêmicos, apresentaram mecanismos de resistência diferentes, que podem estar relacionados a aspectos epidemiológicos distintos. A confirmação dos fenótipos por técnicas moleculares pelo uso do teste de PCR foi realizada apenas na detecção de genótipo *bla*_{KPC-2}.

O poder de análise dos fatores de risco e mortalidade também podem ter seleção de viés com o uso de controles, cujo pareamento possa não preencher todos os critérios possíveis. Os pacientes casos poderiam estar

mais graves do que aqueles pacientes controles correspondentes. Contudo, os controles foram pareados considerando as variáveis analisadas para os fatores de risco. Um estudo potencialmente maior, incluindo mais pacientes, se faz necessário para determinar o efeito de KPRC sobre o prognóstico, assim como nos custos e outras variáveis resultantes desta infecção.

8 CONCLUSÕES

A mortalidade hospitalar em pacientes com infecção por KPRC foi significativa, esta associada com a gravidade do estado clínico (índice de Charlson ≥ 3) e uso de fluorquinolonas. A utilização intensa e inapropriada de antimicrobianos, comum nas unidades críticas hospitalares, foi observada no estudo, facilitando a emergência e disseminação de bactérias resistentes. O perfil de susceptibilidade das amostras de KPRC encontrado, com poucas opções terapêuticas, é preocupante e sugere um maior controle na utilização dos antimicrobianos. O fenótipo de resistência mais freqüente foi ESBL e o gene *bla*_{KPC} foi detectado em três amostras, indicativo da necessidade de melhora nos programas e práticas de controle de infecção hospitalar, com ênfase no controle da disseminação desta bactéria.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ARDANUY C.; LINÃRES J.; DOMÍNGUEZ M. A.; HERNÁNDEZ-ALLÉS S.; BENEDÍ V.J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ L.. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n.1, p.1636-1640, 1998.

BONE, R. C.; BALK, R. A.; CERRA F. B.; DELLINGER R. P.; FEIN, A. M.; KNAUS, W. A.; SCHEIN, R. M.; SIBBALD, W. J.. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee. **CHEST**. Disponível em: <<http://chestjournal.chestpubs.org>>. Acesso em 23 de março de 2010.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.. Updated Functional Classification of β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n. 3, p. 3969-3976, 2010.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS A.. A functional classification scheme for Beta-lactamases and correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 36, p. 1211-1233, 1995.

CARATTOLI, A.. Resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.53, n. 6, p. 2227-2238, 2009.

CARVALHAES C. G.; PICÃO R. C.; NICOLETTI A. G.; XAVIER D. E.; GALES A. C.. Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n.2, p. 249-251, 2010.

CHARLSON M. E.; POMPEI P.; ALES K. L., MACKENZIE C. R.. A new method of classifying prognostic co-morbidity in longitudinal studies: development and validation. **Journal of Chronic Diseases**, v. 40, n. 5, p. 373-83, 1987.

¹Segundo normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), descritas em SILVA, A. M.; PNHEIRO, M. S.; FREITAS, N. E.. Guia para normalização de trabalhos técnico-científicos: projetos de pesquisa, monografias, dissertações, teses. Uberlândia: EDUFU, 2002, 159p..

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M100-S21. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 21st informational supplement. **Wayne, PA: CLSI**; 2011.

COLPAN A.; AKINCI E.; ERBAY A.; BALABAN N.; BODUR H.. Evaluation of risk factors for mortality in intensive care units: a prospective study from a referral hospital in Turkey. **American Journal of Infection Control**, v. 33, n. 1, p. 42-47, 2005.

DOUMITH M.; ELLINGTON M. J.; LIVERMORE D. M.; WOODFORD N.. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n.4, p. 659-667, 2009.

FALAGAS M. E.; RAFAILIDIS P.I.; KOFTERIDIS D.; VIRTZILI S.; CHELVATZOGLOU F. C.; PAPAIOANNOU V.; MARAKI S.; SAMONIS G.; MICHALOPOULOS A.. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: a matched case control study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n.5, p. 1124-1130, 2007.

FISHMAN, J. A.. Infection in solid-organ transplant recipients. **The New England Journal of Medicine** v. 357, n. 25, p. 2601-2614, 2007.

GALES, A. C.; CASTANHEIRA, M.; JONES, R. N.; SADER, H. S.. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from Sentry Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 73, n. 4, p. 354-360, 2012.

GAYNES, R. P.; RICHARDS C.; EDWARDS, J.; HORAN T.; FRIDKIN S.; LAWTON R.; PEAVY G.; TOLSON J.. Feeding back surveillance data to prevent hospital-acquired infections. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, n. 2, p. 295-298, 2001.

GISKE, C. G.; MONNET, D. L.; CARS, O.; CARMELI, Y.. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram Negative Bacilli. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.52, n. 3, p. 813-821, 2008.

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

HULSCHER M. E. J. I.; GROL R. P. T. M.; VAN DEER MEER J. W. M.. Antibiotic prescribing in hospitals: a social and behavioral scientific approach. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 10, n.3, p. 167-165, 2010.

JACOBY, G. A.. AmpC beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 1, p. 161-182, 2009.

JACOBY, G.; MUNOZ-PRICE, L. S.. The New β -Lactamases. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 4, p. 380-91, 2005.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR, W. C. W.. **Diagnóstico Microbiológico**. 5. Ed., Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001, 1465 p.

KRITSOTAKIS E. I.; TSIOUTIS C.; ROUMBELAKI M.; CHRISTIDOU A.; GIKAS A.. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum β -lactamase *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, n. 6, p. 1383-1391, 2011.

KUMARASAMY K. K.; TOLEMAN M. A.; WALSH T. R.; BAGARIA J.; BUTT F. A.; BALAKRISNAN R.; CHADHARY U.; DOUMITH M.; GISKE C. G.; IRFAN S.; KRISHNAN P.; KUMAR A. V.; MAHARJAN S.; MUSHFAG S.; NOONIE T.; PATERSON D. L.; PEARSON A.; PERRY C.; PIKE R.; RAO K. B.; RAY U; SAMMA J. B.; SHARMA M.; SHERIDAN E.; THIRUNARAYAN M. A.; TURFON J.; UPADHYAY S.; WARNER M.; WELFARE W.; LIVERMORE D.; WOODFORD N.. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v.10, n. 9, p. 597-602, 2010.

KWAK Y. G.; CHOI S. H.; CHOO E. J.; CHUNG J. W.; JEONG J. Y.; KIM N. J.; WOO J. H.; RYU J.; KIM Y.S.. Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among hospitalized patients. **Microbial Drug Resistance**, v.11, n. 2, p. 165-169, 2005.

LANDMAN, D.; BRATU, S.; KOCHAR, S.; PANWAR, M.; TREHAN, M.; DOYMAZ, M., QUALE, J.. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n.5, p. 78-82, 2007.

LINARES L.; CERVERA C.; COFAN C.; LISASO D.; MARCO F.; RICART M. J.; ESFORZADO N.; OPPENHEIMER F.; CAMPISTOL J. M.; MORENO A.. Risk factors for infection with extended-spectrum and AmpC β -lactamase producing Gram-negative rods in renal transplantation. **American Journal of Transplantation**, v.8, n.5, p.1000-1005, 2008.

LINCOPAN N.; MCCULLOCH J. A.; REINERT C.; CASSETTARI V. C.; GALES A.C.; MAMIZUKA E. M.. First isolation of metallo- β -Lactamases multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 516-519, 2005.

LIVERMORE, D. M.. Fourteen years in resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, 283-294, 2012.

LIVERMORE D. M.; WARNER M.; MUSHTAQ S.; DOUMITH M.; ZHANG J.; WOODFORD N. What remains against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*? Evaluation of choramphenicol, ciprofloxacin, colistina, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 37, n. 5, p. 415-459, 2011.

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

MANGRAN AJ, HORAN TC, PEARSON MI, SILVER L, JARVRIS WR. Guideline for prevention of surgical site infection. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 20, n. 4, p. 247-278, 1999.

MARRA A. R.; CAMARGO L. F.; PIGNATARI A. C; SUKIENNIK T.; BEHAR P. R.; MEDEIROS E. A.; RIBEIRO J.; GIRÃO E.; CORREA L.; GUERRA C.; BRITES C.; PEREIRA C. A.; CARNEIRO I.; REIS M.; DE SOUZA M. A.; TRANCHESI R.; BARATA C. U.; EDMOND M. B.. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study **Journal of Clinical Microbiology**, v.49, n.5, p.1866-1871, 2011.

MATHERS, A. J.; COX, H. L.; BONATTI, H.; KITCHEL, B.; BRASSINGA, A. K. C.; WISPELVEY, B.; SAWYER, R. G.; PRUETT, T. L.; HAZEN, K. C.; PATEL, J. B.; SIFRI, C. D.. Fatal cross infection by carbapenem-resistant *Klebsiella* in two liver transplant recipients. **Transplant Infectious Disease**, v.11, p. 257-265, 2009.

MOHR J. F.. Update on the efficacy and tolerability of meropenem in the treatment of serious bacterial infections. **Clinical Infectious Disease**, v. 15, n. 9, p.41-51, 2008.

MONTEIRO J.; SANTOS A. F.; ASENSI M. D.; GALES A. C.. First report of KPC-2 *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333-334, 2009.

MOREIRA, A. P. A., BATISTÃO D. W. F., DARTES R. D. D., ALMEIDA V. V. P., GONTIJO FILHO, P.. Infecções hospitalares por amostras de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração em um hospital universitário brasileiro: fenótipo ESBL vs. outros mecanismos. **4º Congresso Mineiro de infectologia**. Belo Horizonte, 2011.

NADKARNI A. S.; SCHLIEP T.; KHAN L.; ZEANA C. B.. Cluster of bloodstream infections caused by KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Manhattan. **American Journal of Infection Control**, v. 37, n. 2, p.121-126, 2009.

NGUYEN, M.; ESCHENAUER, G. A.; BRYAN M.; O'NEIL, K.; FURUYA, E. Y.; DELLA-LATTA, P, KUBIN, C.J.. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 67, p. 180-184, 2010.

NORDMANN, P.; CUZON, G.; NAAS, T.. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 9, n. 4, p. 228–36, 2009.

OLIVEIRA A. L.; SOUZA M.; CARVALHO-DIAS V. M.; RUIZ M. A.; SILLA L.; TANAKA P. Y.; SIMÕES B. P.; TRABASSO P.; SEBER A.; LOTFI C. J.; ZANICHELLI M. A.; ARAUJO V. R.; GODOY C.; MAIOLINO A.; URAKAWA P.; CUNHA C. A.; DE SOUZA C. A.; PASQUINI R.; NUCCI M.. Epidemiology of bacteremia and factors associated with multi-drug-resistant gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Bone Marrow Transplantation**, v. 39, p. 775-782, 2007.

PAAUW A.; VERHEF J.; Fluit A. C.; BLOK H. E. M.; HOPMANS T. E. M.;TROELSTRA A.; LEVERSTEIN M. A.. Failure to control an outbreak of qnrA1-positive multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* despite adequate implementation of recommended infection control measures. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n.5, p.1420-1425, 2007.

PAVEZ M.; MAMIZUCA E. M.; LINCOPAN N.. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n.6, p. 2702, 2009.

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

PEIRANO G.; SEKI L. M.; VAL PASSOS V. L.; PINTO M. C. F. G.; GUERRA L. R.; ASENSI M. D.. Carbapenem-hydrolysing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 265-258, 2009.

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

PELEG A; HOOPER D. C.. Hospital-acquired infections due to Gram negative bacteria. **The New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 19, p. 1804-1813, 2010.

PITET, D.. Infection control and quality health care in the new millennium. **American Journal of Infection Control**, v. 33, n. 5, p. 258-267, 2005.

PODSCHUN, R., ULLMAN, U.. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 4, p. 589-603, 1998.

QWEENAN A. M.; BUSH, K.. Carbapenemases: the versatile β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n.3, p. 440-458, 2007.

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**, v. 65, n.4, p. 414-426, 2009.

RICE, L. B.. The clinical consequences of antimicrobial resistance. **Current Opinion in Microbiology**, v. 12, n.5, p. 476-81, 2009.

RODLOFF A.C.; GOLDENSTEIN E. J.; TORRES A.. Two decades of imipenem therapy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 916-929, 2006.

ROGERS, B. A.; AMINZADEH, Z.; HAYASHI Y.; PATERSON D. L.. Country-to-country transfer of patients and the risk of multi-resistant bacterial infection. **Clinical Infectious Disease**, v. 53, n.1, p.49-56, 2011.

ROSSI, F.. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious Disease**, v. 52, n. 9, p. 1138-1143, 2011.

SADER, H.; GALES, A. C.. Treatment of severe infections in the era of high rates of antimicrobial resistance. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 200-214, 2008.

SCHWABER M. J.; KLARFELD-LIDJI S.; NAVON-VENEZIA S.; SCHWARTZ D.; LEAVITT A.; CARMELI Y.. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 1028-1033, 2008.

SIEGEL, J.D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M; CHIARELLO, L. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infections agents in healthcare settings. United States, 2007. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf>. Acesso em: fev./2010.

TENOVER F. C.; EMERY S. L.; SPIEGEL C. A.; BRADFORD P. A.; EELLS S.; ENDIMIANI A.; BONOMO R. A.; MCGOWAM JR, J. E.. Identification of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus* species can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 2, p.294-299, 2009.

TOUFEN JR, C.; HOVANIAN, A. L. D.; FRANCA, S. A.; CARVALHO, C. R. R.. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.58, n.5, p.254-259, 2003.

TSAKRIS A, KRISTO I, POLOU A.; THEMELI-DIGALAKI, K.; IKONOMIDIS, A.; PETROPOLOU, D.; POURNARAS S.; SOFIANOU, D.. Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the clinical laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n.2, p.362-367, 2009.

VINCENT J. L.. Nosocomial infections in adult intensive care units. **The Lancet**, v.361, n 9374, p. 2068-2077, 2009.

VON DOLINGER E. J. O.; BRITO, D. V. D.; SOUZA, G. M.; GONTIJO FILHO, P. P.. Air contamination levels in operating rooms during surgery of total hip and total knee arthroplasty, hemiarthroplasty and osteosynthesis in the surgical center of a Brazilian hospital. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical**, v. 43, n. 5, p. 584-587, 2010.

WON, S. Y.; MUNOZ-PRICE, S.; LOLANS, K.; HOTA B.; WEINSTEIN R. A.; HAYDEN M. K.. Emergence and rapid spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase- producing *Enterobacteriaceae*. **Clinical Infectious Disease**, v.53, n. 6, p. 532-540, 2011.

WOODFORD N.. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v.10, n. 9, p. 597-602, 2010.

YANG, D.; GUO, Y; ZHANG Z.. Combined porin loss and extended spectrum β -lactamase production is associated with an increasing imipenem minimal inhibitory concentration in clinical *Klebsiella pneumoniae* strains. **Current Microbiology**, v. 58, p. 366-370, 2009.

YIGIT, H.; QUEENAN, A. M.; ANDERSON, G. J.; DOMENECH-SANCHES, A.; BIDLE J. W.; STEWARD C. D.; ALBERTI S.; BUSH K.; TENOVER F. C.. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.45, n. 4, p. 1151-1161, 2001.

ZÁRATE, M. S.; GALES, A. C.; PICÃO, R. C.; PUJOL, G. S.; LANZA, A; SMAYEVSKY, J.. Outbreak of OXY-2-producing *Klebsiella oxytoca* in a renal transplant unit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n.6, p. 2099-2101, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A



Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP

Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131, e-mail: cep@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº. 039/10 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO REGISTRO
CEP/UFU 327/09

Projeto Pesquisa: Infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmico no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia: epidemiologia e caracterização.

Pesquisador Responsável: Augusto Diogo Filho

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.
O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data para entrega do relatório final: Dezembro de 2011.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 05 de fevereiro de 2010.

Prof. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furlado
Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res.251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma.

APÊNDICE B- Ficha individual

Grupo: <input type="checkbox"/> Caso <input type="checkbox"/> Controle (do caso _____) Número _____							
Prontuário		Idade		Sexo		Evolução Data ____/____/____ (<input type="checkbox"/>) Alta (<input type="checkbox"/>) Óbito	
Data de admissão hospitalar		Diagnóstico de admissão CID			Dias de internação		
Co-morbidades: (<input type="checkbox"/>) D. cardíaca (<input type="checkbox"/>) D. Pulmonar (<input type="checkbox"/>) D. Renal (<input type="checkbox"/>) D. Hepática (<input type="checkbox"/>) DM (<input type="checkbox"/>) D. SNC (<input type="checkbox"/>) Neoplasia (<input type="checkbox"/>) Linfoma/leucemia (<input type="checkbox"/>) Trauma (<input type="checkbox"/>) Outra _____							
Movimentação no hospital							
Unidade/Leito		Data de entrada			Data de saída		
Cirurgias							
Cirurgia		Data	ASA	Potencial de Contaminação		Tempo cirurgia	
Antibioticoterapia							
Antibiótico	Início	Término	Duração	Antibiótico	Início	Término	Duração
Dispositivos invasivos							
CVC (<input type="checkbox"/>)		SVD (<input type="checkbox"/>)		VM (<input type="checkbox"/>)		SNG/SNE (<input type="checkbox"/>)	
Outros (<input type="checkbox"/>)							

Nutrição						
Oral ()	NE ()	NPT ()	Soroterapia isolada ()			
Gravidade da doença conforme Charlson score						
1- ()IAM ()ICC ()Doença vascular periférica ()Demência ()DPOC ()Doença do tecido conjuntivo ()Úlcera péptica ()Hepatopatia leve ()Doença cerebrovascular ()Diabetes						
2- ()Hemiplegia ()Doença renal moderada/severa ()Neoplasia maligna ()Leucemia/linfoma ()Diabetes c/ dano de órgão						
3- () Doença hepática moderada/severa						
6- () AIDS ()Tumor sólido metastático						
Score_____						
Dados clínicos/terapêuticos						
Imunidade: () Neutropenia ()Esteróides ()Quimioterapia ()Imunossupressor						
SIRS						
Data	Temperatura	FC	FR	PA	Leucócitos	Bastonetes
Infecção por <i>K. pneumoniae</i> resistente aos carbapenêmicos						
Sítio	Data	Unidade	Antibiograma			
Observações						