

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**INFECCÕES POR ENTEROBACTERIACEAE RESISTENTE AOS
CARBAPENÊMICOS EM HOSPITAL DE ENSINO: EPIDEMIOLOGIA E
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR**

Iara Rossi Gonçalves

Uberlândia

Julho - 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**INFECCÕES POR ENTEROBACTERIACEAE RESISTENTE AOS
CARBAPENÊMICOS EM HOSPITAL DE ENSINO: EPIDEMIOLOGIA E
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-graduação em Imunologia
e Parasitologia Aplicadas como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre.

Iara Rossi Gonçalves

Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo-Filho (orientador)

Profa. Dra. Rosineide Marques Ribas (co-orientadora)

Uberlândia

Julho – 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

G635i
2016

Gonçalves, Iara Rossi, 1992
Infecções por enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos em
hospital de ensino: epidemiologia e caracterização molecular / Iara Rossi
Gonçalves. - 2016.
70 f. : il.

Orientador: Paulo Pinto Gontijo Filho.
Coorientadora: Rosineide Marques Ribas.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.
Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Carbapenêmicos - Teses. 3.
Enterobactérias - Teses. I. Gontijo Filho, Paulo Pinto. II. Ribas,
Rosineide Marques, 1974. III. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.
IV. Título.

CDU: 612.017



Iara Rossi Gonçalves

“Infecções por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos em hospital de ensino: epidemiologia e caracterização molecular”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 28 de julho de 2016.


Prof. Dr. Plínio Trabasso – UNICAMP


Prof. Dra. Daiane Silva Resende – UCJP


Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho (orientador) – ICBIM/UFU

Dedico este trabalho com muita gratidão
aos que sempre estiveram comigo, por todas
as palavras de incentivo que ouvi durante
esta trajetória.

“O mundo é a oficina.

O corpo é a ferramenta.

A existência é a oportunidade.

O dever a executar é a missão a cumprir.”

Emmanuel

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter guiado meus passos, iluminado meus caminhos e permitido que eu chegasse ao fim de mais uma etapa. E também aos amigos **Joaquim e João Baiano** pelas palavras bonitas nas mensagens de incentivo e instruções que recebi durante toda a vida.

Aos meus pais, **Magda, Maurílio** e ao meu padrasto **Luís Claudio** por todo empenho e dedicação, por estarem comigo em todos os momentos.

Ao meu irmão e a minha cunhada, **Higor e Mayara**, pelo carinho e cuidado.

A minha sobrinha **Isadora**, pelos momentos de alegria, sorrisos e brincadeiras.

A todos os meus familiares, em especial à minha avó **Divina**, pela sua admirável fé em suas novenas direcionadas em meu nome.

A todos os queridos amigos, em especial a **Isabela, Manoela, Douglas, Paulo César, Ana Luiza, Ianna, Alessandra e Cinthia**, que sempre estiveram presentes e que comemoram comigo mais esta vitória.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho**, pela oportunidade de aprendizado, disponibilidade, dedicação e exemplo.

A minha co-orientadora, **Prof^a. Dra. Rosineide Marques Ribas**, pelas fundamentais contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Molecular (UFU) que se tornaram amigos para toda vida, **Melina, Deivid, Daiane, Raquel, Paola, Sabrina, Bruna, Ana Luiza e Ana Paula** pelo trabalho em equipe e por terem tornado os dias mais descontraídos.

As técnicas do Laboratório de Microbiologia Molecular (MICROMOL-UFU), **Cristiane e Lícia**, pelo suporte e auxílio.

Aos professores **Prof. Dr. Plínio Trabasso** (UNICAMP), **Prof^a. Dra. Daiane Silva Resende** (FCJP) e a **Dra. Cristiane Silveira de Brito** (UFU), por aceitarem participar da minha banca de Mestrado e pelas contribuições que darão ao trabalho.

As secretárias da coordenação do PPIPA, **Lucélia** e **Luceleide**, pela atenção e auxílio.

Aos **profissionais de saúde do Hospital de Clínicas**; à equipe do Laboratório de Microbiologia do HC-UFU; aos funcionários do Setor de Registros Médicos por toda ajuda prestada.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES) pela concessão de uma bolsa de estudos com a qual foi possível dedicação exclusiva ao mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais** (FAPEMIG), pelo suporte financeiro nas pesquisas frente ao nosso laboratório.

A todos que torceram e que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho se concretizasse, o meu sincero agradecimento.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	9
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	14
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1. INTRODUÇÃO	17
2. JUSTIFICATIVA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	25
4.1. Hospital	25
4.2. Desenho do estudo	25
4.3. Definições	25
4.4. Amostras bacterianas	27
4.4.1. Identificação das amostras e teste de sensibilidade aos antimicrobianos	27
4.4.2. Armazenamento das bactérias	28
4.5. Técnicas moleculares	28
4.5.1. Extração de DNA	28
4.5.2. Detecção dos genes codificadores de carbapenemases pela técnica de PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	29
4.5.3. Tipagem molecular pelo PFGE (<i>Pulsed Field Gel Eletrophoresis</i>)	30
4.6. Comitê de Ética	31
4.7. Análise estatística	31
5. RESULTADOS	33
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÕES	52
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
APÊNDICE I	68
APÊNDICE II	69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C Grau Celsius

µg Microgramas

µL Microlitros

AIM-1 *Australian Imipenemase*

AMS Ampicilina + Sulbactam

AMX Amoxicilina

ATCC *American Type Culture Collection*

BGN Bacilo Gram-negativo

BHI *Brain Heart Infusion*

CAAE Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CC Complexo clonal

CDC *Centers for Disease Control and Prevention*

CFZ Cefazolina

CIP Ciprofloxacina

CLI Clindamicina

CLSI *Clinical and Laboratory Standards Institute*

COL Colistina

ColS-KPC *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos, produtora de KPC e sensível a colistina

ColR-KPC *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos, produtora de KPC e resistente a colistina

CPM Cefepime

CRO Ceftriaxone

DDD Dose Diária Definida

DIM-1 *Dutch Imipenemase*

DNA Ácido desoxirribonucleico

dNTP Desoxirribonucleotídeo trifosfatado

EDTA Ácido etileno diamino tetracético

ECDC *European Center for Disease Prevention and Control*

ERT Ertapenem

ESBL *Extended Spectrum β -lactamase*

EUCAST *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

et al. E colaboradores

GIM *German Imipenemase*

HBV Hepatite B virus

HC-UFU Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

HIV *Human Immunodeficiency virus*

IC Intervalo de confiança

ICBIM Instituto de Ciências Biomédicas

IMI *Imipenem hydrolyzing β -lactamase*

IMP *Imipenemase*

IPM Imipenem

IRAS Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

KHM *Kyorin University Hospital*

KPC *Klebsiella pneumoniae carbapenemases*

LVX Levofloxacina

MDR Multirresistente

MEM Meropenem

MIC *Minimum Inhibitory Concentration*

mL Mililitro

mM Milimolar

MLST *Multilocus Sequence Typing*

MBL Metallo- β -lactamase

NDM-1 *New Delhi Metallo- β -lactamase*

NHSN *National Healthcare Safety Network*

NMC-A *Not Metalloenzyme Carbapenemase*

NNIS *National Nosocomial Infections Surveillance*

OR *Odds Ratio* – Razão de possibilidades

OXA Oxacilina

Pb *base pair*, par de base

PCR *Polymerase Chain Reaction*

PFGE *Pulsed Field Gel Electrophoresis*

PTZ Piperacilina + Tazobactam

SENTRY *SENTRY Antimicrobial Surveillance Program*

SIM-1 *Seul Imipenemase*

SME *Serratia marcescens enzyme*

SPM-1 *São Paulo Metallo- β -lactamase*

SUS Sistema Único de Saúde

SUT Sulfametoxazol

ST *Sequence Type*

TBE Tris borato EDTA 12

TE Tris, EDTA e água

TEC Teicoplanina

TIG Tigeciclina

TMB *Tripoli Metallo- β -lactamase*

TSA *Trypticase Soy Agar*

TSB *Trypticase Soy Broth*

UFC/mL Unidade Formadora de Colônia / mililitro

UTI Unidade de Terapia Intensiva

VAN Vancomicina

VIM *Verona Imipenemase*

β Beta

χ² Qui-quadrado

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Curva de sobrevivência dos pacientes com infecção por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos que receberam terapia antimicrobiana inapropriada em relação ao grupo que recebeu terapia apropriada.....35
- Figura 2.** Duração em dias entre a admissão do paciente e o desenvolvimento de colonização ou infecção por KPC.....36
- Figura 3.** Nível endêmico de colonização e infecção por KPC por 1000 pacientes-dia de setembro de 2014 a agosto de 2015.....39
- Figura 4.** Dendrograma UPGMA dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* recuperados dos dois surtos usando coeficiente de Dice abaixo de 1,25% de tolerância e 0,5% de otimização. Um coeficiente de similaridade de 80% foi escolhido para definir os pulsotipos. **A.** Isolados do surto do mês de maio (susceptíveis a colistina). **B.** Isolados do surto de cepas resistentes a colistina.....40
- Figura 5.** Linha do tempo da internação dos pacientes infectados e/ou colonizados envolvidos nos surtos.....45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Primers específicos para detecção dos genes codificadores de carbapenemases.....	28
Tabela 2. Condições para amplificação nas reações de detecção dos genes codificadores de carbapenemases.....	29
Tabela 3. Frequência de episódios de infecções e colonizações por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos no HC-UFU, durante o período de setembro de 2014 a agosto de 2015.....	32
Tabela 4. Indicadores epidemiológicos de infecção relacionada à assistência à saúde e colonização por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos no HC-UFU.....	33
Tabela 5. Características e fatores de risco associados com mortalidade hospitalar em 30 dias em pacientes com infecções por amostras de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos.....	34
Tabela 6. Consumo de antibióticos em DDD/1000 pacientes-dia no HC-UFU e na UTI de adultos durante o período de setembro de 2014 a agosto de 2015.....	37
Tabela 7. Perfil de resistência aos antimicrobianos dos microrganismos da família Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos.....	38
Tabela 8. Frequência do gene <i>bla_{KPC}</i> em amostras de <i>K. pneumoniae</i> sensíveis e resistente à colistina, e sua relação com o consumo do antibióticos na UTI de adultos do HC-UFU durante o período de estudo	41

Tabela 9. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção e/ou colonização por amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos e produtoras de KPC, isoladas no HC-UFU em maio de 201542

Tabela 10. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção e colonização por amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC e resistentes à colistina isoladas no HC-UFU em 201543

Tabela 11. Concentração inibitória mínima das amostras de *K. pneumoniae* resistentes à colistina, isoladas na Unidade de Terapia Intensiva no mês de julho de 2015.....44

RESUMO

Introdução: A produção de carbapenemases do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) tem se tornado importante mecanismo de resistência aos carbapenêmicos entre os microrganismos da família Enterobacteriaceae. No Brasil, a enzima KPC já se encontra disseminada e sua incidência tem aumentado significativamente, diminuindo as opções de tratamento. A combinação perversa da redução do desenvolvimento de novos antibióticos, somado a emergência de cepas multirresistentes resultou na necessidade da utilização de drogas antigas, com maior toxicidade, como as polimixinas. **Objetivos:** Determinar a ocorrência de amostras produtoras de carbapenemases em representantes da família Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos, isoladas de pacientes com infecção/colonização de natureza hospitalar, durante setembro de 2014 a agosto de 2015, além de determinar os fatores de risco associados a mortalidade e o impacto da terapia inapropriada. **Material e métodos:** Foi realizado estudo de coorte prospectiva com a avaliação dos fatores de risco para mortalidade em 30 dias, considerando o primeiro episódio de infecção em 111 pacientes. Os genes de resistência *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* e *bla_{NDM-1}* foram detectados pela técnica de reação em cadeia da polimerase. A tipagem molecular das amostras foi realizada pela técnica eletroforese em campo pulsado. A resistência à colistina foi confirmada pelo método de microdiluição em caldo. **Resultados:** No total, 188 episódios de infecção/colonização por Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos foram detectados, com 122 amostras recuperadas a partir do laboratório do hospital e, na maioria delas (74,59%), a presença do gene *bla_{KPC}* foi confirmada. Não foram encontrados os genes *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* e *bla_{NDM-1}*. *K. pneumoniae* foi o microrganismo mais frequente (77,13%), responsável principalmente por infecções do trato urinário (21,38%) e infecções em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (61,38%). A análise estatística multivariada mostrou como preditores independentemente associados com a mortalidade: hemodiálise e infecção de corrente sanguínea. A curva de *Kaplan-Meier* evidenciou uma menor probabilidade de sobrevivência no grupo de pacientes que recebeu terapia antimicrobiana inapropriada. O consumo de antimicrobianos na UTI de adultos variou durante o período de estudo, entretanto nenhuma correlação positiva entre o aumento na incidência amostras e o consumo foi observada. Nos meses de maio e julho de 2015, a ocorrência de infecção/colonização por Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos e produtoras do gene *bla_{KPC}* por 1000 pacientes-dia, foram mais altas do que o limite estabelecido, confirmando dois surtos, o primeiro por amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC e susceptíveis a colistina, com perfil policlonal e o segundo por um clone dominante de *K. pneumoniae* produtora de KPC e resistente a colistina (≥ 32 µg/mL). A transmissão cruzada entre os pacientes ficou clara pelas relações temporal e espacial observada no segundo surto, já que vários pacientes ocuparam o mesmo leito, evidenciando problemas na adesão à higiene de mãos por parte dos profissionais de saúde e a inadequação da desinfecção terminal do ambiente. O surto só foi contido após o fechamento da unidade para novas admissões. **Conclusões:** A investigação evidenciou, a princípio, uma endemicidade de amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC na UTI de adultos, com evolução para uma situação epidêmica com expansão monoclonal quando do segundo surto, resultante de problemas de consumo muito alto de antibióticos (carbapenêmicos e polimixinas) e facilitada por falhas nas práticas de prevenção e controle na unidade.

ABSTRACT

Introduction: The production of KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) has become an important mechanism of carbapenem-resistance among Enterobacteriaceae strains. In Brazil, KPC is already widespread and its incidence has increased significantly, reducing treatment options. The “perfect storm” combination of the absence of new drug development and the emergence of multidrug-resistant strains resulted in the need for the use of older drugs, with greater toxicity, such as polymyxins. **Aims:** To determine the occurrence of carbapenemase-producing strains in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated from patients with nosocomial infection/colonization during September/2014 to August/2015, to determine the risk factors associated with 30-day- mortality and the impact of inappropriate therapy. **Materials and Methods:** We performed a case control study to assess the risk factors (comorbidities, invasive procedures and inappropriate antimicrobial therapy) associated with 30-day-mortality, considering the first episode of infection in 111 patients. The resistance genes *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* and *bla_{NDM-1}* were detected by polymerase chain reaction technique. Molecular typing of the strains involved in the outbreak was performed by pulsed field gel electrophoresis technique. The polymyxin resistance was confirmed by the microdilution broth method. **Results:** 188 episodes of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections/colonizations were detected; of these, 122 strains were recovered from the hospital laboratory. The presence of *bla_{KPC}* gene were confirmed in the majority (74.59%) of these isolates. It was not found the presence of *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* and *bla_{NDM-1}* genes. *K. pneumoniae* was the most frequent microorganism (77,13%), primarily responsible for urinary tract infections (21,38%) and infections from patients of the Intensive Care Unit (ICU) (61,38%). Multivariate statistical analysis showed as predictors independently associated with mortality: dialysis and bloodstream infection. The *Kaplan-Meier* curve showed a lower probability of survival in the group of patients receiving antibiotic therapy inappropriately. Antimicrobial use in adult ICU varied during the study period, but positive correlation between increased incidence of strains and the consumption was not observed. In May and July 2015, the occurrence rates of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae KPC-producing per 1000 patient-days were higher than the control limit established, confirming two outbreaks, the first caused by colistin-susceptible KPC-producing *K. pneumoniae* isolates, with a polyclonal profile and the second by a dominant clone of colistin-resistant ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$) KPC-producing *K. pneumoniae*. The cross transmission between patients became clear by the temporal and spatial relationships observed in the second outbreak, since some patients occupied the same bed, showing problems in hand hygiene adherence among healthcare workers and inadequate terminal disinfection of environment. The outbreak was contained when the ICU was closed to new admissions. **Conclusions:** The study showed an endemicity of *K. pneumoniae* KPC-producing in adult ICU, progressing to an epidemic monoclonal expansion, resulted by a very high antibiotic consumption of carbapenems and polymyxins and facilitated by failures in control measures the unit.

1. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares por bacilos Gram-negativos (BGN) multirresistentes é motivo de muita preocupação, considerando a existência de poucos agentes antimicrobianos disponíveis para o tratamento destas infecções, bem como o limitado número de agentes antimicrobianos em desenvolvimento no últimos anos (PELEG, 2010). As bactérias Gram-negativas mais importantes no ambiente hospitalar incluem membros da família Enterobacteriaceae, como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Enterobacter* spp., além de BGN não fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, os quais contribuem com 27 % dos agentes e 70% de todos os BGN responsáveis por infecções hospitalares nos Estados Unidos (FALAGAS et al., 2014; NORDMANN et al., 2014; GUH et al., 2015). Estes patógenos são causas comuns de infecções do trato urinário, além de infecções graves como de trato respiratório inferior e de corrente sanguínea (SIEVERT et al., 2013).

Esses dados são semelhantes a outras regiões do mundo, onde têm-se observado proporção cada vez mais elevada de BGN multirresistentes como causa de infecções hospitalares (POLLETT et al., 2014; WANG et al, 2015; BARAN; AKSU, 2016). Como estas bactérias apresentam vários mecanismos de resistência aos antibióticos mais prescritos, incluindo mutação genética e transferência de genes, o aumento na sua incidência representa uma ameaça urgente devido a limitada disponibilidade de opções terapêuticas disponíveis (ZURAWSKI, 2014; IZADPANAH; KHALILI, 2015).

Essa rápida emergência e disseminação de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos nos hospitais é um problema de grande proporção e as causas são multifatoriais; entretanto, as razões principais são claras: estão altamente correlacionadas com a pressão seletiva devido ao uso inapropriado de agentes antimicrobianos e a disseminação destes fenótipos é facilitada pela transmissão pessoa-a-pessoa devido à aplicação inconsistente de práticas básicas de prevenção e controle de infecções pelos profissionais de saúde (DYAR; PAGANI; PULCINI, 2015). No Brasil, essa questão é ainda mais significativa devido à alta densidade de uso de antibióticos, particularmente das classes de β -lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, e as fluoroquinolonas (MOREIRA et al., 2013; PORTO et al., 2013; DANTAS et al, 2014).

Embora a resistência intrínseca entre os membros da família Enterobacteriaceae seja inferior àquela observada no grupo dos não fermentadores, estas bactérias vem

apresentando múltiplos e sofisticados mecanismos de resistência aos antimicrobianos (ZURAWSKI, 2014; NORDMAN; NAAS; POIREL, 2011), destacando-se: a) superexpressão de bombas de efluxo, facilitando a eliminação dos antibióticos para o exterior da célula; b) alteração de porinas de membrana externa, com redução na sua permeabilidade ao antibiótico no interior; e, c) produção de enzimas, como AmpC, ESBL (*Extended Spectrum β -lactamase*) e carbapenemases, que hidrolisam o anel β -lactâmico (CHEN et al., 2014). Estas últimas enzimas são classificadas com base na estrutura química e sequência de aminoácidos, em diferentes classes: A, B, C e D, de acordo com Ambler (1980), com a maioria pertencendo as classes A, B e D (MIRIAGOU et al., 2010; QUEENAN; BUSH, 2007). A codificação destas enzimas é associada a elementos genéticos móveis incluindo integrons, transposons e plasmídeos, que codificam mecanismos de transferência horizontal entre as amostras e de integração dos genes exógenos responsáveis pela resistência a estes antibióticos (WALSH et al., 2005; TANG; APISARNTHANARAK; HSU, 2014). A sua rápida disseminação é frequentemente atribuída a presença de clones ou subclones dominantes, particularmente quando ocorrem surtos (KONTOPOULOU et al., 2010; BOGDANOVICH et al., 2011; MEZZATESTA et al., 2011; MAMMINA et al., 2012; GIANI et al., 2015; WETERINGS 2015).

Nos últimos anos a produção de carbapenemases, cujos substratos incluem todos os β -lactâmicos, com exceção dos monobactâmicos, assumiu importância epidemiológica em microrganismos como *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e em membros da família Enterobacteriaceae, com um aumento na sua prevalência em hospitais e associação com alta mortalidade (TURTON et al., 2006; DESHPANDE et al., 2006; TOWNER; LEVI; VLASSIADI, 2008; BAUMGART; MOLINARI; SILVEIRA, 2010). Há relatos sobre a presença de isolados de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos em hospitais brasileiros bem como da existência de clones dominantes (GALES, et al., 2004; CEZÁRIO, et al., 2009; GALETTI, et al., 2010).

As carbapenemases pertencentes a classe A incluem as seguintes enzimas: KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) (YIGIT et al., 2001), SME (*Serratia marcescens enzyme*) (YANG; WU; LIVERMORE, 1990), NMC-A (*Not Metalloenzyme Carbapenemase*) (POTTUMARTHY et al., 2003), IMI (*Imipenem hydrolyzing β -lactamase*) (RASMUSSEN et al., 1996), entre outras. A enzima KPC foi identificada inicialmente nos Estados Unidos, em 1996 (YIGIT et al., 2001), e em poucos anos disseminou-se globalmente. Surto de infecções por amostras produtoras de KPC foram

relatados em países da Ásia (LEAVITT et al., 2007), Europa (NAAS et al. 2005; NAAS et al., 2008) e América do Sul (VILLEGAS et al., 2006). No Brasil, o primeiro caso foi descrito em Recife, em 2006, por Monteiro e colaboradores (2009). A seguir, Pavez e colaboradores (2009), relataram sua presença em São Paulo, seguindo-se a sua disseminação por hospitais de vários estados brasileiros (BEIRÃO et al., 2011; ZAVASCKI et al., 2010; SEKI et al., 2011).

As carbapenemases da classe B, as quais são chamadas de metalo- β -lactamases (MBLs), atualmente, compreendem dez subclasses: IMP (*Imipenemase*), VIM (*Verona Imipenemase*), SPM-1 (*São Paulo MBL*), GIM (*German Imipenemase*), SIM-1 (*Seul Imipenemase*) (MENDES et al., 2006), AIM-1 (*Australian Imipenemase*) (YONG et al., 2007), KHM (*Kyorin University Hospital*) (SEKIGUCHI et al., 2008), NDM-1 (*New Delhi MBL*) (YONG et al., 2009), DIM-1 (*Dutch Imipenemase*) (POIREL et al., 2009), e TMB (*Tripoli MBL*) (EL SALABI et al., 2012). A produção de MBL é mais prevalente em *P. aeruginosa* e as infecções estão relacionadas a alta mortalidade (ANDRADE et al., 2003; SADER et al., 2005; ZAVASCKI et al., 2006 FRANCO et al., 2010). No Brasil, as subclasses de MBL mais prevalentes são IMP-1 e SPM-1 (MENDES et al, 2006). Em amostras de Enterobacteriaceae, as mais comuns são as enzimas VIM e IMP (CORNAGLIA et al., 2007). O aparecimento de amostras Enterobacteriaceae multirresistentes produtoras de MBL foi relatado em várias regiões do mundo mas, no Brasil, os relatos ainda são escassos (DESHPANDE et al., 2006; SADER; BIEDENBACH; JONES, 2003; PILLONETTO et al., 2014). Infelizmente, amostras multirresistentes de *K. pneumoniae*, *E. coli* e outras espécies de Enterobacteriaceae, incluindo produtoras de ESBL e carbapenemases estão aumentando nos hospitais de todas as regiões geográficas (FALAGAS et al., 2014; NORDMANN et al., 2014; GUH et al., 2015).

A ocorrência de resistência destes BGN aos carbapenêmicos aumentaram na última década nos EUA, sobretudo em amostras de *Klebsiella* spp. (CDC, 2013). Na Europa, conforme relatado pelo ECDC (*European Center for Disease Prevention and Control*), esta resistência também aumentou significativamente (ECDC, 2014). Nos países asiáticos, a frequência de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos são 1,2% no Líbano, 4,1% na Malásia, 1,2 % em Taiwan e 1,17% na Arábia Saudita (HAMMOUDI et al., 2014; HAMZAN et al., 2015). Na América Latina, estudo feito por Jones e colaboradores (2013), identificou uma frequência de 17,3% de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos no Brasil.

A dificuldade no tratamento de infecções graves por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos levou ao aumento da utilização das polimixinas (polimixinas B e colistina) em nível mundial como última opção no tratamento dessas infecções (STEIN; RAOULT, 2002; FALAGAS; MICHALOPOULOS, 2006; BISWAS et al., 2012). As polimixinas estão entre os poucos agentes que retém atividade contra estes microrganismos e são frequentemente usadas em combinação com outras drogas, incluindo carbapenêmicos (DAIKOS et al, 2014, TUMBARELLO et al., 2015). Devido ao aumento do uso desses antibióticos, já tem sido relatada resistência as polimixinas por bactérias que são normalmente susceptíveis a essas drogas (JOHANSEN et al., 2008; BOGDANOVICH et al., 2011; MEZZATESTA et al., 2011; ARDUINO et al., 2012; MAMMINA et al., 2012; CAPONE et al. 2013; GASPAR et al., 2015) bem como relatos do aumento nas infecções causadas por bactérias naturalmente resistentes a polimixinas como *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp. e *Serratia* spp. (HAYAKAWA et al., 2012; MERKIER et al., 2013; SAMONIS et al., 2014). Essas bactérias apresentam diversas maneiras de se protegerem contra estímulos ambientais adversos incluindo a exposição a peptídeos antimicrobianos catiônicos como polimixina B e a colistina, essas estratégias incluem alterações nos lipopolissacarídeos bacterianos que geralmente apresentam cargas negativas e são considerados os alvos iniciais das polimixinas (MOFFATT et al., 2010).

A aquisição de genes que codificam resistência aos antimicrobianos é potencializada em bactérias Gram-negativas pela sua transferência horizontal através de plasmídeos e transposons, mecanismos de integração/recombinação em microrganismos multirresistentes, permitindo que os clones se disseminem rapidamente no ambiente hospitalar (TANG; APISARNTHANARAK; HSU, 2014). Há relatos da sua importância em hospitais brasileiros sobre a presença de isolados de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos e clones associados na nossa região (GALES, et al., 2004; GALETTI, et al., 2010).

Um estudo molecular de cepas clínicas de *K. pneumoniae* produtoras de KPC-2, isoladas em diferentes estados brasileiros, revelou disseminação de clones multirresistentes de alto risco pertencentes ao complexo clonal (CC) 11, com os *sequence type* (ST) 437, ST340 e ST11 desempenhando um papel importante. Este estudo mostrou disseminação destes clones em todas as regiões do Brasil, com o ST437 encontrado no sul (SC), sudeste (ES e RJ) e nordeste (CE), enquanto os ST11 e ST340

foram encontrados no centro-oeste, sudeste e nordeste (ST11 em CE, DF, GO, MG, PE, RJ e ST340 em AL, DF, ES, PI) (PEREIRA et al., 2013).

A ocorrência de infecções graves é de grande importância clínica, indicando que o hospedeiro não pode controlar a infecção a partir de um foco primário ou não está recebendo terapia empírica antimicrobiana apropriada (SHORR et al., 2006). Infecções por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos têm sido associadas como mau prognóstico, bem como alta mortalidade (40-65%) (BORER et al., 2009; GUPTA et al., 2011; SATLIN et al., 2014). Sendo assim, a identificação de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos na corrente sanguínea, geralmente é um indicador de disseminação de infecção, além de ser um marcador de prognóstico ruim estando associados com elevadas mortalidade (LEÃO et al., 2007).

Vários fatores estão relacionados ao aumento na ocorrência de infecções por microrganismos resistentes e multirresistentes nos hospitais, incluindo: maior gravidade da doença de base, imunocomprometimento, tempo de hospitalização prolongado, uso de procedimentos invasivos, falhas nas práticas de prevenção e controle, entre outros (ZHANEL; LOW, 2007; ZANKARI et al., 2012; BAQUERO; TADIM; COQUE, 2013; McARTHUR et al., 2013; BECEIRO; TOMÁS; BOU, 2013). Entretanto, destaca-se a questão ecológica resultante da pressão seletiva de antibióticos favorecendo a seleção de microrganismos resistentes assim como a colonização e/ou infecção por estes microrganismos (JINDAL; PANDYA; KHAN, 2014). McLaughlin e colaboradores (2013) e Bell e colaboradores (2014) evidenciaram a relação entre o consumo de antibióticos e a emergência de resistência bacteriana.

A epidemiologia hospitalar de infecções causadas por microrganismos resistentes aos carbapenêmicos é complexa, pela presença de vários genes de resistência e cepas clonais múltiplas que causam surtos e podem ser considerados reservatórios destes genes. Assim, a tipagem molecular, com a detecção de genes e mecanismos de resistência, bem como clones circulantes no ambiente hospitalar contribuem no esclarecimento das condições epidemiológicas, na ocorrência das epidemias e na implementação de práticas melhores de controle e prevenção de Infecções Relacionadas à Saúde (IRAS). O método de eletroforese em campo pulsado (PFGE) tem sido amplamente utilizado para classificação dos isolados em linhagens clonais e descrito em diversos estudos de epidemiologia molecular, considerando o seu alto poder discriminatório, tipabilidade e reprodutibilidade (GALETTI, et al., 2010).

2. JUSTIFICATIVA

A proporção de amostras do fenótipo de resistência aos carbapenêmicos entre representantes da família Enterobacteriaceae está aumentando, como resultado do consumo crescente destes β -lactâmicos, usualmente em condições de terapêutica empírica e muitas vezes inapropriada, resultando em frequências de mortalidade mais elevadas. Atualmente, a resistência a antibióticos, sobretudo àqueles considerados como última opção, como é o caso dos carbapenêmicos, representa um desafio importante no tratamento de infecções graves de natureza hospitalar, pela pouca quantidade de opções e disponibilidade de drogas.

Recentemente, nos anos de 2011-2012, um estudo de genotipagem pela técnica de PFGE e sequenciamento de amostras de BGN, evidenciou a importância da presença de mecanismos de resistência codificados por genes horizontalmente adquiridos, assim como de mutações e de clones predominantes de *P. aeruginosa* associados ao uso intenso e indiscriminado de antibióticos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Esta investigação foi estendida à representantes da família Enterobacteriaceae, buscando identificar a ocorrência de clones epidêmicos. Em 2013, foi identificado o primeiro caso de *K. pneumoniae* produtora de KPC no HC-UFU, e desde então, este genótipo se disseminou por todo o hospital. Considerando estes aspectos, o presente trabalho se destaca pela sua importância e abrangência no entendimento da disseminação de espécies da família Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos e produtoras de KPC no HC-UFU.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Determinar a frequência de amostras produtoras de carbapenemases da classe A (KPC) e metalo- β -lactamases (VIM, IMP, NDM,) em representantes da família Enterobacteriaceae com susceptibilidade diminuída a carbapenêmicos, isoladas de infecções e colonizações de natureza hospitalar.

3.2. Objetivos específicos

Avaliar:

- As frequências dos genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} e *bla*_{NDM-1};
- A relação da antibioticoterapia adequada/inadequada com a evolução clínica do paciente com infecção;
- A emergência e disseminação de clones de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. Hospital

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) é um hospital público, universitário, de assistência terciária e com capacidade para 530 leitos e apresenta uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) de adultos mista, com um total de 30 leitos. É referência para uma população estimada de mais de dois milhões de habitantes, moradores de Uberlândia e 81 municípios das regiões do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. Nos últimos anos, tem sido responsável por praticamente todo o atendimento hospitalar vinculado ao Sistema Único de Saúde (SUS) do município de Uberlândia. Possui clínicas de várias especialidades e, por ser um hospital de alta complexidade que atua como referência regional, grande parte dos seus pacientes exige cuidados complexos.

4.2. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo observacional prospectivo através de vigilância ativa no HC-UFU através do Laboratório de Microbiologia do HC-UFU, no período de setembro de 2014 a agosto de 2015. Foram incluídos apenas o primeiro episódio de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos. Foi conduzido um estudo de coorte entre os pacientes com infecção para detecção dos fatores de risco associados com a mortalidade em 30 dias e o impacto da terapia inapropriada na evolução dos pacientes com infecção. As características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes foram obtidas através da revisão de prontuários médicos utilizando uma ficha individual, seguindo o modelo do NHSN (*National Healthcare Safety Network*) (APÊNDICE I).

4.3. Definições

Infecção relacionada à Assistência à Saúde (IRAS): adquirida 48 horas após a admissão do paciente no hospital, podendo também se manifestar após a alta, desde que

relacionada com a internação ou com os procedimentos realizados (RODRIGUES; RICHTMANN, 2008).

Multirresistência: resistência a pelo menos um agente antimicrobiano pertencentes a três ou mais classes quimicamente distintas (MAGIORAKOS et al., 2012).

Terapia antimicrobiana inapropriada: quando o microrganismo isolado apresentar resistência *in vitro* ao antimicrobiano usado no tratamento do paciente e/ou ausência de terapia durante 24 horas após o diagnóstico microbiológico da infecção (GILBERT et al., 2007).

Terapia antimicrobiana apropriada: quando os antibióticos iniciais, que foram administrados dentro de 24 horas quando de uma hemocultura positiva, incluía pelo menos um antibiótico ativo *in vitro* (GILBERT et al., 2007).

Uso prévio de antimicrobianos: paciente recebeu terapia com qualquer antibiótico durante pelo menos por 72h em um período de até 30 dias prévio ao diagnóstico microbiológico da infecção (GULEN et al., 2015).

Mortalidade hospitalar (30 dias): número de óbitos dos pacientes durante a hospitalização, que ocorreram até 30 dias após o diagnóstico de infecção (LODISE et al., 2007).

KPC/1000 pacientes-dia: a incidência de colonização e infecção por KPC por 1000 pacientes-dia foi determinada nas clínicas onde foi detectado KPC, como se segue: número de casos novos de KPC x 1000, dividido pelo número de pacientes-dia que estiveram internados na clínica no mesmo período.

Infecção/1000 pacientes-dia^A: número total de infecção / número pacientes-dia x 1000.

Colonização/1000 pacientes-dia^A: número total de colonização / número pacientes-dia x 1000.

Dose Diária Definida de antimicrobiano por 1000/pacientes-dia (DDD/1000 pacientes-dia): foram selecionados para cálculos das densidades de uso por 1000 pacientes/dia os seguintes antibióticos: cefalosporinas (ceftriaxone e cefepime), carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem), fluorquinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina), polimixinas (colistina), aminoglicosídeos (gentamicina e amikacina), como proposto pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2015). A densidade de uso (DDD por 1000 pacientes-dia) foi obtida pela fórmula:

$$DDD = \frac{\text{Consumo de antibióticos em gramas}}{\text{Dose diária definida (NNIS, 2004)}}$$

$$DDD/1000 \text{ pacientes-dia} = \frac{DDD \times 1000}{N^{\circ} \text{ de pacientes - dia}}$$

A Pacientes-dia: $P \times L \times T$

P = Período de tempo em observação, em dias.

L = Leitos disponíveis na unidade.

T = índice de ocupação no tempo considerado (%).

4.4. Amostras bacterianas

Foram incluídas amostras de Enterobacteriaceae interpretadas como resistentes aos carbapenêmicos, recuperadas no Laboratório de Microbiologia do HC-UFU, no período de setembro de 2014 a agosto de 2015.

4.4.1. Identificação das amostras e teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

As amostras foram identificadas por testes fenotípicos clássicos e avaliadas quanto à susceptibilidade aos antimicrobianos *in vitro*, no Laboratório de Microbiologia do HC-UFU, através do sistema automatizado VITEK®2 (bioMérieux).

A resistência a colistina foi confirmada para as amostras de *K. pneumoniae* pelo método de microdiluição em caldo, segundo Capuano (2012). A leitura foi de acordo

com o *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2015) considerando-se resistente quando ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$.

4.4.2. Armazenamento das bactérias

As amostras de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos isoladas e identificadas no Laboratório de Microbiologia do HC-UFG, foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), e sub-cultivadas em ágar TSA (*Tryptic Soy Agar*) pela técnica de esgotamento para obtenção de cultura pura e, posteriormente, armazenadas em tubos criogênicos contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) acrescido de 15% de glicerol, seguindo-se incubação a 37°C por 24 horas. A suspensão resultante foi estocada a temperatura de -20°C por 25 horas e, posteriormente, estocadas a temperatura de -80°C (KONEMAN et al., 2001).

4.5. Técnicas moleculares

4.5.1. Extração de DNA

A extração por lise térmica foi realizada segundo Nunes (2009). As amostras foram cultivadas em ágar TSA por 18-24 horas, e, colônias puras foram ressuspensas em 1mL de tampão TE [1x] e centrifugadas a 12000xg por 2 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspensado em 1mL de tampão TE. Esta última etapa foi repetida duas vezes. Os tubos foram aquecidos (100°C) por 10 minutos em termobloco, centrifugados a 12000xg por 2 minutos e o sobrenadante com DNA será recuperado. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria (Nanodrop®) e armazenado a -20°C no freezer até o momento da utilização.

4.5.2. Detecção dos genes codificadores de carbapenemases pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

A detecção dos genes codificadores de carbapenemases da classe A (KPC) e metalo- β -lactamases (VIM, IMP, NDM,) foi realizada utilizando-se o método PCR convencional. Os primers utilizados nas reações estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Primers específicos para detecção dos genes codificadores de carbapenemases

Gene	Primer	Seqüência (5' - 3')	Tamanho do produto amplificado (pb)	Referência
<i>blaIMP</i>	IMPgen-F1	GAATAGRRTGGCTTAAYTCTC	188	XAVIER et al., 2010
	IMPgen-R1	CCAAACYACTASGTTATC		
<i>blaVIM</i>	VIMgen-F2	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	382	XAVIER et al., 2010
	VIMgen-R2	AATGCGCAGCACCAGGATAG		
<i>blaKPC</i>	KPC-F1	GTATCGCCGTCTAGTTCTGCTG	860	GALETTI, 2010
	KPC-R1	GTTGACGCCCAATCCCTCGA		
<i>blaNDM-1</i>	NDM-1-F	GGGCAGTCGCTTCCAACGGT	475	SHENOY; JYOTI; RAYIKUMAR, 2014
	NDM-1-R	GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT		

A reação de PCR foi realizada para um volume final de 25 μ L. Em cada tubo foi adicionado 5 μ L da suspensão da bactéria-teste (DNA extraído), tampão de PCR com 2,5 mM de MgCl₂, 0,2mM do Mix de dNTPs, 0,5 μ g/mL de cada primer descrito na tabela 1, 1,5U de Taq DNA polimerase e água ultra pura. A amplificação foi realizada no equipamento *Eppendorf Mastercycler*, programado de acordo com as condições descritas na Tabela 2. A eletroforese foi realizada com as condições de 100V por cerca de 60 minutos em agarose 1,5%, com tampão de corrida TBE 0,5X. O gel foi corado com 5 μ L de SYBER® Safe (Applied Biosystems) para cada 100mL de tampão e então visualizado utilizando um transluminador.

Tabela 2. Condições para amplificação nas reações de detecção dos genes codificadores de carbapenemases

	<i>bla_{IMP}</i> ¹	<i>bla_{VIM}</i> ¹	<i>bla_{NDM-1}</i> ²	<i>bla_{KPC}</i> ³
Pré – desnaturação	94°C - 5min	94°C - 5min	94°C - 3min	95°C - 5min
Desnaturação	94°C - 30s	94°C - 30s	94°C - 30s	95°C - 1min
Anelamento	53°C - 45s	53°C - 45s	60°C - 30s	61°C - 1min
Extensão	72°C - 30s	72°C - 30s	72° - 30s	72°C - 1min
Extensão final	72°C - 10min	72°C - 10min	72°C - 3min	72°C - 10min

¹XAVIER et al., 2010; ²SHENOY; JYOTI; RAYIKUMAR, 2014; ³GALETTI et al., 2010.

4.5.3. Tipagem molecular pelo PFGE (*Pulsed Field Gel Eletrophoresis*)

As linhagens de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenêmicos obtidas no estudo foram analisadas por eletroforese em campo pulsado (PFGE) conforme descrito por Tenover (1995), com pequenas modificações. Uma colônia de cada linhagem foi inoculada em 5mL de caldo BHI e incubada a 37°C durante 24 horas, uma alíquota de 1,5mL da cultura foi transferida para um tubo *ependorf* e centrifugada por 2 minutos a 15.000xg. As células bacterianas foram lavadas com solução PIV (10mM Tris, pH 8,0, 1,0M NaCl), centrifugadas e o sobrenadante descartado. O precipitado foi suspenso em 200µL de solução de suspensão, sendo 150µL transferidos para um novo tubo, colocados em banho maria a 48°C, durante 5 a 10 minutos. Em seguida foram adicionados 150µL de agarose para confecção dos blocos.

Os blocos de agarose foram colocados em tubo contendo solução de lise (6mM Tris, pH 8,0, 1M NaCl, 100mM EDTA pH 8,0; 0,2% deoxycolato de sódio, 0,5%, 0,5% N-laurylsarcosina), acrescentando-se RNase a concentração final de 20µg/mL e incubados durante 4 a 5 horas a 37°C. Em seguida a solução tamponante foi retirada e adicionado 1mL de solução ES (EDTA, pH 9,0; sarcosil 1%) acrescida de 1mg/mL de proteinase K e os tubos incubados a 50°C durante 18 a 24 horas. Os blocos foram lavados cinco vezes com a solução TE 1X (10mM Tris, pH 7,5; 1mM EDTA, pH 8,0) com intervalo de 30 minutos para cada lavagem e mantidos em solução tamponante TE, a 4°C, até o momento do uso.

Para digestão do DNA, foi acrescido, em cada bloco, 100µL da solução tamponante da enzima correspondente para cada microrganismo (1X) e mantida a 37°C

por 30 minutos. Essa solução foi desprezada e uma nova solução de 27U de enzima de restrição correspondente para cada microrganismo foi adicionada e incubada a 37°C por 18 a 20 horas.

Ao término da digestão enzimática do DNA, um bloco de cada amostra foi posicionado nos *slots* do gel de agarose preparado na concentração de 1% (p/v) em tampão TBE 0,5X (0,89M Tris, 0,89M ácido bórico, 0,25M EDTA; pH 8,0). Nos orifícios localizados nas extremidades do gel foram colocados discos contendo os marcadores de peso molecular *lambda ladder*. As canaletas foram seladas com agarose de baixo ponto de fusão preparado a 1% (p/v) em tampão TBE 0,5X.

A eletroforese foi realizada no aparelho CHEF-DR III ® (BioRad), em TBE 0,5X a temperatura de 14°C na voltagem de 164V por 22 horas. Os pulsos foram de 5 segundos durante 20 horas e 15 segundos durante 1 minuto com ângulo de 120°. O gel foi corado com 5µL de SYBR SAFE® (Applied Biosystems) para cada 100mL de tampão e então visualizado usando um transluminador.

Os padrões de banda foram analisados por intermédio da comparação visual entre as amostras e através do programa GelCompar II versão 3.5 (Applied Maths, Bélgica) usando o coeficiente de similaridade Dice e o método de *Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages* (UPGMA) para análise dos agrupamentos e construção dos dendrogramas.

4.6. Comitê de Ética

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia, com o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 44734115.2.0000.5152 (APÊNDICE 2).

4.7. Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados usando o software GraphPad Prism, versão 6.0. A significância dos experimentos foi determinada pelo método *One way* ANOVA, sendo os resultados considerados significantes quando $P < 0,05$.

A análise estatística dos fatores de risco para desenvolvimento de infecção por KPC em pacientes colonizados foi realizada utilizando-se o teste de X^2 para comparação entre os valores quando o número foi maior que 5 e o teste exato de Fisher quando o número foi menor ou igual a cinco. Os números de pacientes que apresentaram determinado fator de risco foram comparados individualmente contra uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2). Para evitar o enlear, que muitas vezes surge como uma consequência da própria análise univariada, este foi reajustado através da estratificação que é a estimação de medidas de associação (*Odds Ratio* - OR) 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. O nível endêmico de colonização e infecção por KPC por 1000 pacientes-dia foi calculado segundo Arantes et al. (2003). O teste não paramétrico de Spearman foi utilizado para correlacionar duas variáveis, DDD de carbapenêmicos e colistina por 1000 pacientes-dia e o número de KPC por 1000 pacientes-dia. A significância estatística foi definida para um valor de *P* menor que 0,05. A análise das variáveis foi realizada utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism 6.0 e Bioestat 5.0.

5. RESULTADOS

No total, foram incluídos 111 pacientes, com 188 episódios, sendo que 122 amostras foram recuperadas no Laboratório de Microbiologia do HC-UFU. Entre os 188 episódios, a espécie *K. pneumoniae* foi a mais frequentemente detectada (77,13%), seguindo-se *Enterobacter* spp. (17,55%). A maioria dos pacientes estava infectada, principalmente no trato urinário (21,38%). Adicionalmente, a maior parte dos episódios foi detectada na UTI (61,38%), seguida da Clínica Cirúrgica (13,79%) (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência de episódios de infecções e colonizações por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos no HC-UFU, durante o período de setembro de 2014 a agosto de 2015

Sítio	Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos N= 188 (%)				
	<i>K. pneumoniae</i> N= 145 (77,13)	<i>Enterobacter</i> spp. N= 33 (17,55)	<i>E. coli</i> N= 8 (4,25)	Outros ^a N=2 (1,06)	Total N= 188 (%)
Sangue	27 (18,62)	9 (27,27)	1 (12,5)	0	37 (19,68)
Trato respiratório	16 (11,03)	2 (6,06)	0	0	18 (9,57)
Urina	31 (21,38)	8 (24,24)	5 (62,5)	0	44 (23,40)
Cirúrgico/ferida	6 (4,14)	9 (27,27)	0	2 (100)	17 (9,04)
Mucosa anal	65 (44,83)	5 (15,15)	2 (25,0)	0	72 (38,29)
Unidades / setores					
UTI ^b de adultos	89 (61,38)	15 (45,45)	3 (37,5)	1 (50,0)	108 (57,45)
Clínica Cirúrgica	20 (13,79)	9 (27,27)	0	0	29 (15,42)
Clínica Médica	3 (2,07)	0	2 (25,0)	1 (50,0)	6 (3,19)
Pronto Socorro	14 (9,65)	4 (12,12)	1 (12,5)	0	19 (10,11)
Oncologia	3 (2,07)	1 (3,03)	0	0	4 (2,13)
Outros ^c	16 (11,03)	4 (12,12)	2 (25,0)	0	22 (11,70)

^a*Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*; ^bUnidade de Terapia Intensiva; ^cUnidade de Terapia Intensiva Neonatal, Pediatria, Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica, Unidade Coronariana, Transplante, Ambulatório, Queimados, Berçário, Moléstia Infeciosa.

Das 122 amostras, o gene *bla_{KPC}* foi detectado pela técnica de PCR em 91 (74,59%) delas, correspondendo a 77 (63,11%) de *K. pneumoniae*, 7 (5,74%) de *E. coli* e 7 (5,74%) de *Enterobacter* spp. Não foi detectada a presença dos genes *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}* e *bla_{NDM-1}*.

A ocorrência de infecção e colonização por amostras de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos foi de 3,35/1000 pacientes-dia e 1,93/1000 pacientes-dia, respectivamente. O número total de pacientes-dia foi 189800, com incidência de KPC

por 1000 paciente-dia de $0,39 \pm 0,26$. O tempo médio de permanência foi de 56,09 dias (1 a 321 dias) e a mortalidade total foi de 38/111 (34,23%) (Tabela 4).

Tabela 4. Indicadores epidemiológicos de infecção relacionada à assistência à saúde e colonização por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos no HC-UFU

Variáveis	Indicadores
Pacientes-dia	189800
KPC/1000 pacientes-dia (média \pm desvio padrão)	$0,39 \pm 0,26$
Infecção /1000 pacientes-dia	3,35
Colonização/1000 pacientes-dia	1,93
Infecção urinária /1000 pacientes-dia	2,01
Bacteremia/1000 pacientes-dia	1,72
Pneumonia/1000 pacientes-dia	0,69
Tempo médio de hospitalização (dias \pm desvio padrão)	$56,09 \pm 44,57$
Mortalidade total (%)	38 (34,23)

Os fatores de risco associados com a mortalidade e as características clínicas e demográficas relevantes nestes pacientes, estão na tabela 5. No total, 73,49% foram do sexo masculino, com idade média de $50,58 \pm 20,34$ (0 a 91 anos) e aproximadamente 70% dos pacientes permaneceram internados por mais de 30 dias na UTI de adultos. As principais comorbidades observadas foram cardiopatia (32,53%), nefropatia (16,87%) e neoplasia (15,66%). Em relação aos procedimentos invasivos, observou-se maior frequência no uso de cateter venoso central (80,72%), seguido de prótese respiratória (62,65%) e sonda nasoenteral ou nasogástrica (45,78%).

Cerca de 90% dos pacientes fizeram uso de antimicrobianos previamente ao isolamento das amostras de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos, sendo que 40,96% fizeram uso de carbapenêmicos, 56,66% de glicopeptídeos e 57,83% de cefalosporinas de 3ª ou 4ª geração. O uso terapêutico destes fármacos foi inadequado em 53,01% dos pacientes. A terapia combinada, considerando a presença de dois ou mais antibióticos (40,96%) prevaleceu em relação à monoterapia (31,32%), sendo que as principais combinações incluíram um carbapenêmico (31,32%) e, em 13,25%, colistina. A mortalidade em 30 dias foi de 56% nos pacientes que receberam terapia inadequada. Os resultados da análise multivariada dos fatores de risco independentemente associados a mortalidade hospitalar em 30 dias evidenciou que os

preditores associados com mortalidade foram pacientes submetidos à hemodiálise ($P=0,0006$) e a presença infecções de corrente sanguínea ($P=0,0077$).

Tabela 5. Características e fatores de risco associados com mortalidade hospitalar em 30 dias em pacientes com infecções por amostras de Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos

Fatores de risco	Total N= 83 (%)	Óbito N= 25 (%)	Alta N= 58 (%)	Univariada OR ¹ (IC ² 95%)	P ³	Multivariada OR (IC 95%)	P
Idade - média ± SD	50,58 ± 20,34	59,92 ± 13,30	46,55 ± 21,58	-	0,0053**		
Sexo							
Masculino	61 (73,49)	15 (60,00)	46 (79,31)	0,39 (0,14 – 1,1)	0,0674		
Feminino	22 (26,51)	10 (40,00)	12 (20,69)	2,6 (0,92 – 7,1)	0,0674		
Tempo de internação (> 30 dias)	59 (71,08)	15 (60,00)	44 (75,86)	0,48 (0,18 – 1,3)	0,1436		
Unidade de Terapia Intensiva	58 (69,88)	20 (80,00)	38 (65,52)	2,1 (0,69 – 6,5)	0,187		
Cirurgia	48 (57,83)	12 (48,00)	36 (62,07)	0,85 (0,34 – 2,1)	0,7206		
Procedimentos invasivos	77 (92,77)	25 (100)	52 (89,65)	6,3 (0,34 – 117)	0,1713		
Ventilação mecânica	51 (61,44)	20 (80,00)	31 (53,45)	3,5 (1,2 – 11)	0,0226*		
Traqueostomia	52 (62,65)	20 (80,00)	32 (55,17)	3,3 (1,1 – 9,8)	0,0319*		
Cateter Venoso Central	67 (80,72)	23 (92,00)	44 (75,86)	3,7 (0,76 – 18)	0,1298		
Dreno	13 (15,66)	2 (8,00)	11 (18,96)	0,37 (0,076 – 1,8)	0,3259		
Sondas nasogástrica/enteral	38 (45,78)	18 (72,00)	20 (34,48)	4,9 (1,7 – 14)	0,0016**		
Hemodiálise	36 (43,37)	18 (72,00)	18 (31,03)	5,7 (2,0 – 16)	0,0006***	4,36 (1,26 – 15,17)	0,0204
Nutrição parenteral	28 (33,73)	8 (32,00)	20 (34,48)	0,89 (0,33 – 2,4)	0,8263		
Comorbidades	44 (53,01)	13 (52,00)	31 (53,45)	0,94 (0,37 – 2,4)	0,9035		
Cardiopatia	27 (32,53)	9 (36,00)	18 (31,03)	1,3 (0,47 – 3,4)	0,6578		
Neoplasia	13 (15,66)	3 (12,00)	10 (17,24)	0,65 (0,16 – 2,6)	0,7453		
Diabetes Mellitus	11 (13,25)	4 (16,00)	7 (12,07)	1,4 (0,37 – 5,2)	0,7269		
Nefropatia	14 (16,87)	6 (24,00)	8 (13,79)	2,0 (0,60 – 6,4)	0,2546		
HIV ⁴	2 (2,41)	0	2 (3,45)	0,44 (0,021 – 9,6)	1,00		
Uso prévio de antimicrobianos	75 (90,36)	25 (100)	50 (86,21)	8,6 (0,48 – 155)	0,0983		
Carbapenêmicos	34 (40,96)	13 (52,00)	21 (36,21)	1,9 (0,74 – 4,9)	0,1795		
Cefalosporinas de 3ª e 4ª geração	49 (57,83)	14 (56,00)	35 (60,34)	0,84 (0,32 – 2,2)	0,7119		
Glicopeptídeos	47 (56,66)	19 (76,00)	28 (48,27)	3,4 (1,2 – 9,7)	0,0194*		
Fluorquinolonas	21 (25,30)	6 (24,00)	15 (25,86)	0,91 (0,30 – 2,7)	0,8579		
Polimixinas	13 (15,66)	8 (32,00)	5 (8,62)	1,3 (0,48 – 3,8)	0,5665		
Tigeciclina	8 (9,64)	3 (12,00)	3 (5,17)	2,5 (0,47 – 13)	0,2705		
Tratamento							
Terapia inadequada	44 (53,01)	14 (56,00)	30 (51,72)	1,2 (0,46 – 3,1)	0,7203		
Terapia após antibiograma							
Monoterapia	26 (31,32)	6 (24,00)	20 (34,48)	0,60 (0,21 – 1,70)	0,3448		
Terapia combinada	34 (40,96)	14 (56,00)	30 (51,72)	1,2 (0,46 – 3,1)	0,7203		
Com carbapenêmicos	26 (31,32)	9 (36,00)	17 (29,31)	1,4 (0,50 – 3,7)	0,5466		
Sem carbapenêmicos	18 (21,68)	5 (20,00)	13 (22,41)	0,87 (0,27 – 2,8)	0,8066		
Com polimixinas	11 (13,25)	7 (28,00)	5 (8,62)	4,1 (1,2 – 15)	0,0374*		
Origem da infecção							
Corrente sanguínea	16 (19,28)	13 (52,00)	13 (22,41)	3,8 (1,4 – 10)	0,0077**	3,74 (1,05 – 13,32)	0,0411
Trato respiratório	11 (13,25)	2 (8,00)	9 (15,52)	0,47 (0,095 – 2,4)	0,4913		
Sítio cirúrgico/ferida	13 (15,66)	2 (8,00)	11 (18,96)	0,37 (0,076 – 1,8)	0,3259		
Trato urinário	32 (38,55)	8 (32,00)	24 (41,38)	0,67 (0,25 – 1,8)	0,4206		

¹Odds ratio; ²Intervalo de confiança; ³Valor de P; ⁴do inglês, *Human immunodeficiency virus*; *P estatisticamente significativa ($\leq 0,05$)

A mortalidade hospitalar para os pacientes que receberam terapia inadequada foi de 56%, corroborando com o resultado da curva de sobrevivência de *Kaplan-Meier*, que demonstrou que o grupo de pacientes que receberam terapia antimicrobiana inadequada teve menor probabilidade de sobrevivência e em menor tempo (Figura 1).

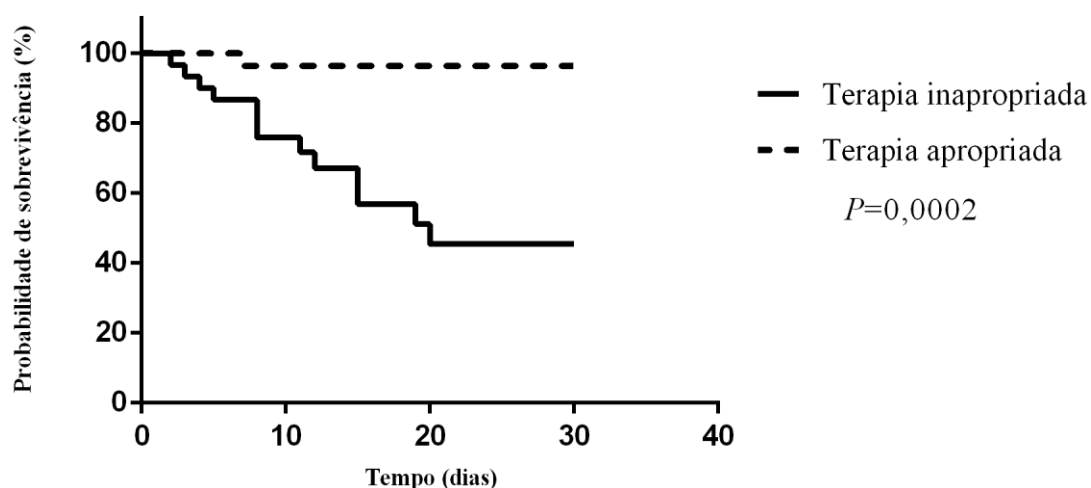


Figura 1. Curva de sobrevivência dos pacientes com infecção por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos que receberam terapia antimicrobiana inadequada em relação ao grupo que recebeu terapia adequada

Os pacientes ficaram hospitalizados durante um tempo médio de 5 dias até o diagnóstico microbiológico positivo para Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos (mínimo 0 e máximo de 15 dias), e demoraram cerca de 4 dias para serem colonizados por estes mesmos micro-organismos. (Figura 2).

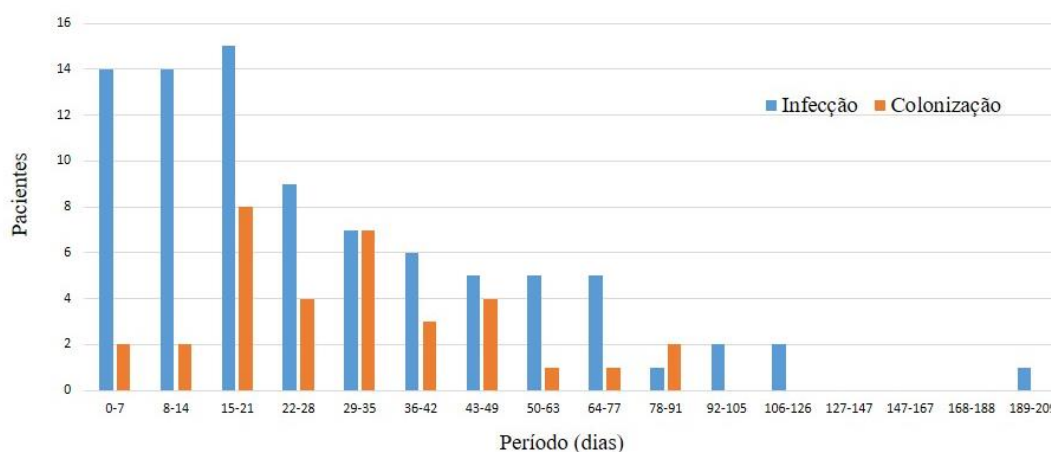


Figura 2. Duração em dias entre a admissão do paciente e o desenvolvimento de colonização ou infecção por KPC

O consumo de antimicrobianos variou durante o período de estudo. Em média, o DDD de colistina foi de 13,15/1000 pacientes-dia, 3,74/1000 pacientes-dia para amicacina, 68,34/1000 pacientes-dia para ceftriaxone, 103,91/1000 pacientes-dia para cefepime, 14,05/1000 pacientes-dia para ertapenem, 36,87/1000 pacientes-dia para meropenem, 13,91/1000 pacientes-dia para imipenem, 5,42/1000 pacientes-dia para levofloxacina e 12,44/1000 pacientes-dia para ciprofloxacina. Observou-se, ainda, alto consumo de antimicrobianos na UTI de adultos durante o período de investigação, com destaque de colistina, cefepime e meropenem (Tabela 6). Não foi observada correlação positiva entre o aumento na incidência de amostras de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos e o consumo de antimicrobianos.

Tabela 6. Consumo de antibióticos em DDD/1000 pacientes-dia no HC-UFU e na UTI de adultos durante o período de setembro de 2014 a agosto de 2015

Antimicrobiano	Hospital todo												
	2014						2015						
	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Média
Colistina	11,54	10,79	20,79	12,26	28,97	15,50	13,96	9,40	7,20	10,41	13,17	3,78	13,15
Amicacina	5,10	6,33	5,96	5,15	6,08	2,16	1,40	1,60	2,33	0,32	3,66	4,78	3,74
Ceftriaxone	40,51	42,77	62,05	67,77	109,55	48,15	82,10	54,23	113,65	60,06	85,24	53,97	68,34
Cefepime	77,44	144,04	116,06	112,31	107,29	88,94	100,00	67,34	152,76	70,71	112,50	97,58	103,91
Ertapenem	17,24	23,95	16,09	9,68	11,60	10,92	7,69	4,62	22,58	11,54	18,42	14,33	14,05
Meropenem	31,49	53,75	45,99	32,13	63,35	32,68	33,17	18,46	34,54	29,89	33,47	33,51	36,87
Imipenem	10,80	16,98	15,91	12,86	20,92	16,33	16,42	8,57	19,57	10,91	12,05	5,60	13,91
Levofloxacin	4,81	10,67	6,99	6,95	3,97	2,95	5,15	1,92	9,18	2,88	3,60	6,02	5,42
Ciprofloxacina	10,78	18,64	14,26	5,92	17,98	15,48	14,64	7,32	6,45	9,00	15,38	13,49	12,44

Antimicrobiano	Unidade de Terapia Intensiva de Adultos												
	2014						2015						
	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Média
Colistina	164,07	103,58	229,26	121,51	255,19	167,06	181,00	130,37	81,72	156,29	162,37	42,65	149,59
Amicacina	15,56	8,60	3,89	23,66	39,25	8,93	11,29	5,00	1,61	0,00	23,12	28,49	14,12
Ceftriaxone	126,11	132,26	71,11	170,43	276,34	157,14	159,14	170,00	106,45	67,78	149,46	122,04	142,36
Cefepime	398,33	515,59	341,67	330,65	198,39	211,31	329,03	272,78	187,10	183,89	321,51	254,30	295,38
Ertapenem	38,89	78,49	63,33	19,35	15,05	28,57	11,83	27,78	72,04	68,89	70,97	15,05	42,52
Meropenem	241,67	527,69	360,00	172,31	422,85	258,63	289,25	186,39	190,86	315,56	260,22	119,09	278,71
Imipenem	91,67	42,74	38,61	43,28	62,63	95,54	72,85	48,89	72,85	89,44	104,84	53,76	68,09
Levofloxacin	32,22	38,71	5,56	32,26	0,00	20,24	2,15	14,44	40,86	16,67	10,75	13,98	18,99
Ciprofloxacina	45,78	25,81	25,33	26,67	74,19	45,24	56,99	15,33	10,32	43,11	30,11	41,29	36,68

Os resultados dos testes de susceptibilidade aos antibióticos para as amostras recuperadas entre os 101 episódios de infecção por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos são mostrados na tabela 7. A resistência a ceftriaxone e cefepime foi mais frequente com 87,13% e 85,15%, respectivamente, seguindo-se para piperacilina/tazobactam (83,17%) e ampicilina (81,18%). A maioria (86,13%) das amostras estudadas apresentaram perfil de multirresistência e, entre aquelas amostras de colonização, 11,11% foram resistente à colistina (Tabela 7).

Tabela 7. Perfil de resistência aos antimicrobianos dos microrganismos da família Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos

Antimicrobiano	Amostras resistentes N=188 (%)
	Infeção N= 101 (53,72)
Amicacina	9 (8,91)
Ampicilina	82 (81,18)
Cefepime	86 (85,15)
Cefoxitina	64 (63,37)
Ceftriaxone	88 (87,13)
Ciprofloxacina	73 (72,28)
Colistina	6 (5,94)
Gentamicina	48 (47,52)
Piperacilina/Tazobactam	84 (83,17)
Tigeciclina	9 (8,91)

Observou-se que a ocorrência amostras de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos e produtoras do gene *bla_{KPC}* por 1000 pacientes-dia, foram mais altas do que o limite estabelecidos, de 3σ acima da média das infecções/colonizações, confirmando dois surtos (Figura 3). A aquisição de *K. pneumoniae* sensível a colistina (ColS-KPC) foi 0,93/1000 pacientes-dias no início de maio/2015, e caiu para 0,39/1000 pacientes-dia em junho/2015. No início de julho/2015, a taxa de *K. pneumoniae* produtora de KPC, e resistente à colistina (ColR-KPC), foi de 0,81/1000 pacientes-dia e caiu para 0,19/1000 pacientes-dia no fim do mês, quando foi observado o fim dos dois surtos.

A análise da clonalidade das amostras recuperadas durante os surtos pela técnica de PFGE mostrou ausência de relação entre as mesmas. A análise das amostras correspondentes ao surto por *K. pneumoniae* resistente à colistina evidenciou serem estreitamente relacionadas. Seis amostras tiveram perfil idênticos (pulsotipo A), i.e, o pulsotipo A1 difere em 3 bandas do pulsotipo A (Figura 4).

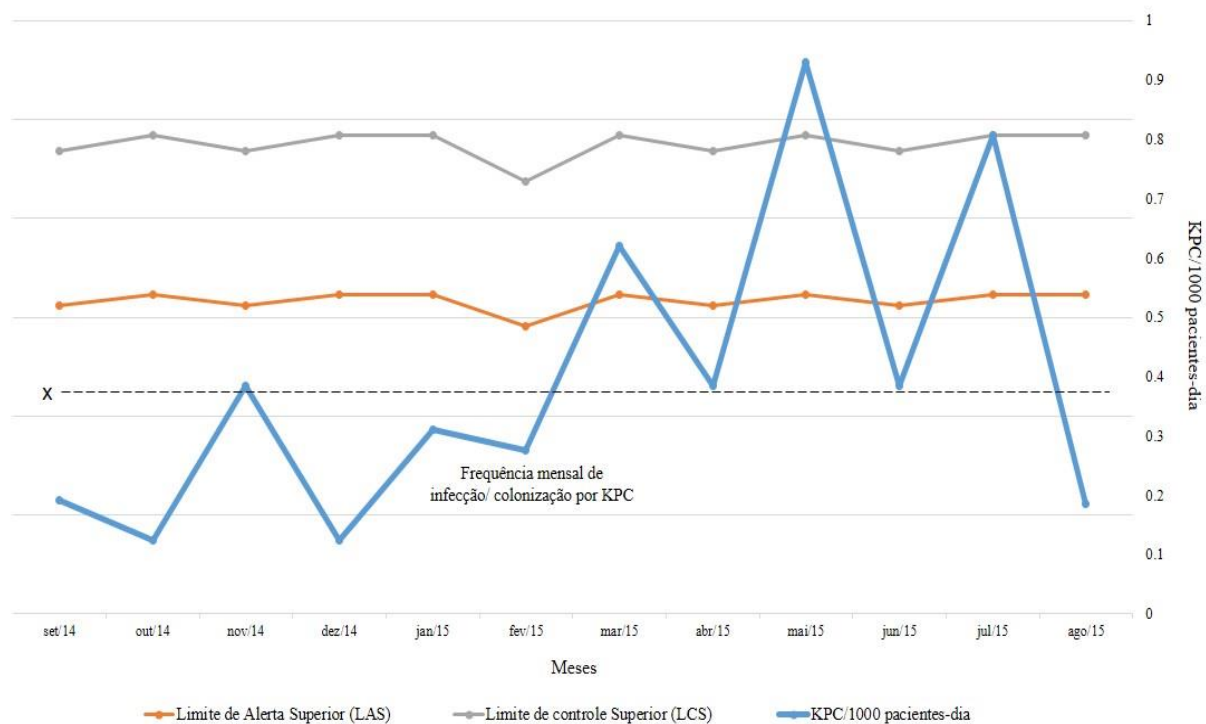


Figura 3. Nível endêmico de colonização e infecção por KPC por 1000 pacientes-dia de setembro de 2014 a agosto de 2015

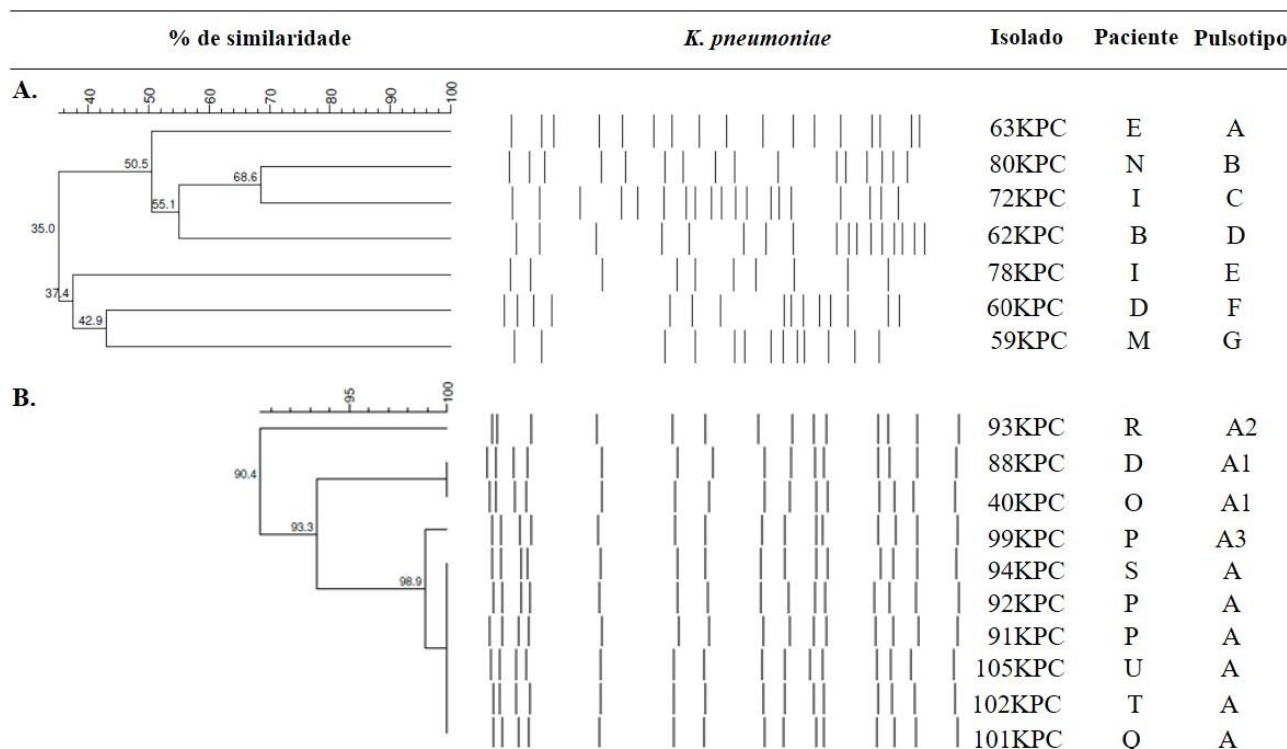


Figura 4. Dendrograma UPGMA dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* recuperados dos dois surtos usando coeficiente de Dice abaixo de 1,25% de tolerância e 0,5% de otimização. Um coeficiente de similaridade de 80% foi escolhido para definir os pulsotipos. **A.** Isolados do surto do mês de maio (susceptíveis a colistina). **B.** Isolados do surto de cepas resistentes a colistina.

As infecções por *K. pneumoniae* produtoras de KPC aumentaram significativamente no mês de março/2015, evidenciando um surto na fase inicial predominantemente por amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, produtora de KPC e sensível a colistina (ColS-KPC), seguindo-se de um segundo surto associado a amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, produtora de KPC e sensível a colistina (ColR-KPC). Houve um alto consumo de antibióticos no período, entretanto, após o isolamento da primeira amostra resistente a colistina, houve uma pequena diminuição no consumo deste antibiótico na UTI de adultos (Tabela 8).

Tabela 8. Frequência do gene *bla_{KPC}* em amostras de *K. pneumoniae* sensíveis e resistente à colistina, e sua relação com o consumo do antibióticos na UTI de adultos do HC-UFU durante o período de estudo

Meses/ano	Nº de episódios (Hospital todo)	Nº de episódios (UTI de adultos)	Isolados testados/ <i>bla_{KPC}</i> ⁺	ColR-KPC (%)	Consumo de antibióticos ^a	
					Colistina	Carbapenêmicos ^b
Set/14	8	4	3/3	0	164,07	372,22
Out/14	3	2	2/2	0	103,58	648,92
Nov/14	12	8	8/5	0	229,26	461,94
Dez/14	12	5	3/2	0	121,51	234,95
Jan/15	14	9	2/2	0	255,19	500,54
Fev/15	5	4	4/2	0	167,06	382,74
Mar/15	16	6	9/6	1 (16,7)	181,00	373,92
Abr/15	8	3	5/4	0	130,37	263,06
Mai/15	22	19	14/14	1 (5,6)	81,72	335,75
Jun/15	17	14	6/6	3 (20,0)	156,29	473,89
Jul/15	21	12	17/7	5 (38,5)	162,37	436,02
Ago/15	7	3	4/3	0	42,65	187,90

ColR-KPC, *K. pneumoniae* resistente a colistina, ^aConsumo de antibióticos na UTI de adultos durante o período de estudo, expresso em DDD/1000 pacientes-dia, ^bMeropenem, Imipenem e Ertapenem.

As características dos pacientes envolvidos nestes surtos (ColS-KPC e ColR-KPC) estão nas tabelas 9 e 10. No total, durante o primeiro surto ocorrido no mês de maio (ColS-KPC), foram detectados 14 pacientes, correspondendo a 1 caso de infecção (paciente A), 8 de colonizações (pacientes F, E, C, J, K H, N e G) e, 3 casos (pacientes D, B e I), o paciente estava tanto colonizado e infectado concomitantemente. Os pacientes estavam infectados e/ou colonizados principalmente por *K. pneumoniae*, entretanto, houve um episódio de pneumonia causada por *E. aerogenes* (paciente I) e outro de infecção urinária por *E. cloacae* (paciente L), por amostras que expressavam o gene *bla_{KPC}*. A metade dos pacientes (7/14) estava internada na UTI de adultos, e 1 paciente na UTI neonatal (Tabela 9).

No que se refere ao surto por amostras de *K. pneumoniae* resistentes a colistina (ColR-KPC), foram diagnosticados 9 pacientes, correspondendo a 13 episódios. Entre os pacientes, 4 estavam infectados (pacientes O, D, P e Q), 3 colonizados (pacientes R, T e V) e 2 infectados e colonizados (pacientes S e U). Todos os pacientes estavam internados na UTI de adultos, com exceção do paciente Q, que estava na Clínica Cirúrgica. A taxa de mortalidade foi alta (4/9), incluindo principalmente pacientes com infecções graves (Tabela 10). A concentração inibitória mínima (CIM) de colistina foi alta para todas amostras, acima de 32 µg/mL, conforme observado na Tabela 11.

Tabela 9. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção e/ou colonização por amostras de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos e produtoras de KPC, isoladas no HC-UFU em maio de 2015

Paciente	Idade (anos)	Diagnóstico	Data de isolamento	Sítio	Isolado	Unidade	Tempo de internação (dias)	Terapia prévia	Tratamento	Evolução
A	18	Linfoma	02/05	Sangue	<i>K. pneumoniae</i>	Oncologia	95	LVX, VAN, IPM	LVX, VAN, IPM, AMK	Alta
M	71	Hipertensão, insuficiência renal, diabetes	02/05	Urina	<i>K. pneumoniae</i>	Clínica Médica	131	–	–	Alta
			02/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	Clínica Médica	131	–	–	
D	69	Doença Chagas, HIV, HBV	04/05 26/05	Trato respiratório Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	66	TEC, CLI, CRO, CIP, CPM, PTZ SUT, COL, TIG	SUT, PTZ, MEM, TEC	Óbito
F	97	Pneumotórax	05/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	23	CRO, PTZ, TEC, TIG, COL, MEM	MEM	Óbito
B	48	Artrite reumatoide	05/05 30/05	Mucosa anal Urina	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	112	CPM, TEC, OXA, MEM VAN, PTZ	ERT	Alta
E	60	Politrauma	05/05 12/05	Mucosa anal Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	31	CPM, CLI, PTZ, TEC, ERT	–	Óbito
C	34	Amputação de perna	05/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>		82	AMS, CFZ, PTZ, OXA, TEC, IPM, SUT, LVX	–	Alta
I	63	Neoplasia cerebral	12/05 19/05 20/05 28/05	Sangue Mucosa anal Trato respiratório Mucosa anal	<i>E. aerogenes</i> <i>E. aerogenes</i> <i>E. aerogenes</i> <i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	67	CFZ, VAN, MEM	MEM, VAN, TEC	Óbito
L	50	Pneumonia, estado vegetativo	17/05	Urina	<i>E. cloacae</i>	Pronto Socorro	14	PTZ	MEM, VAN, TEC	Óbito
J	77	Acidente vascular cerebral	18/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	54	PTZ, VAN, IPM, CFZ	–	Óbito
			29/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto			–	
K	91	Necrose dos dedos do pé	21/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	Cirúrgica	9	PTZ	PTZ	Alta
H	52	Insuficiência respiratória	26/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	UTI adulto	38	CRO, CLI, PTZ, OXA, ERT	–	Alta
N	0,17	Abdome agudo	29/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	UTI neonatal	20		MEM, TEC	Alta
G	62	Insuficiência renal	26/05	Mucosa anal	<i>K. pneumoniae</i>	Clínica Médica	41	PTZ, VAN, AMS, OXA, CPM,	PTZ, TEC	Óbito

HIV; do inglês *Human Immunodeficiency virus*, HBV; Hepatite B virus, UTI; Unidade de Terapia Intensiva, LVX; Levofloxacina, VAN; Vancomicina, IPM; Imipenem, TEC; Teicoplanina, CLI; Clindamicina, CRO; Ceftriaxone, CIP; Ciprofloxacina, CPM; Cefepime, PTZ; Piperacilina-Tazobactam, SUT; Sulfametoxazol, COL; Colistina, TIG; Tigeciclina, MEM; Meropenem, OXA; Oxacilina, ERT; Ertapenem, AMS; Ampicilina-Sulbactam, CFZ; Cefazolina, AMK; ampicilina.

Tabela 10. Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecção e colonização por amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC e resistentes à colistina isoladas no HC-UFU em 2015

Paciente	Idade (anos)	Diagnóstico	Data de isolamento	Sítio	Unidade	Tempo de internação (dias)	Terapia prévia	Tratamento	Evolução
O	47	Hipertensão	18/03	Líquor	UTI adulto	85	CFZ, CPM, VAN, MEM, COL	MER	Óbito
D	69	Doença de Chagas, HIV, HBV	30/05	Trato respiratório	UTI adulto	66	TEC, CLI, CRO, CIP, CPM, PTZ, SUT, MEM, TIG, COL	–	Óbito
P	63	Hérnia inguinal	25/06	Secreção de ferida	UTI adulto	62	PTZ, TEC, MEM, COL, TIG, LVX, IPM	TIG, COL, IPM	Óbito
Q	67	Insuficiência renal, Epilepsia	22/06 02/07	Ponta de cateter Mucosa anal	UTI adulto	34	CFZ, CPM, VAN, TEC, CFZ, CPM, VAN, TEC, TIG, MEM, AMK	TIG, MER, AMK, COL –	Óbito
R	52	Fratura cervical	14/07	Urina	Cirúrgica	58	CFZ, CPM, IMP, TEC, COL, VAN	–	Alta
S	36	Traumatismo craniano	15/07	Mucosa anal	UTI adulto	33	CFZ	CRO, CPM, VAN	Alta
T	22	Ferimento por arma de fogo	15/07	Mucosa anal	UTI adulto	22	CFZ, CFP, VAN, MEM	–	Alta
U	58	Politrauma	13/07 14/07 20/07 28/07	Trato respiratório Mucosa anal Sangue Mucosa anal	UTI adulto	58	TEC, AMS	AMK, MER, TEC, CFZ	Alta
V	65	Embolia e trombose	21/07	Mucosa anal	UTI adulto	25	PTZ	PTZ	Alta

HIV; do inglês *Human Immunodeficiency virus*, HBV; Hepatite B virus, UTI; Unidade de Terapia Intensiva, CFZ; Cefazolina, CPM; Cefepime, VAN; Vancomicina, MEM; Meropenem, COL; Colistina, TEC; Teicoplanina, CLI; Clindamicina, CRO; Ceftriaxone, CIP; Ciprofloxacina, PTZ; Piperacilina-Tazobactam, SUT; Sulfametoxazol, TIG; Tigeciclina, LVX; Levofloxacina, IPM; Imipenem, AMK; Amicacina, AMS; Ampicilina-sulbactam.

Tabela 11. Concentração inibitória mínima das amostras de *K. pneumoniae* resistentes à colistina, isoladas na Unidade de Terapia Intensiva no mês de julho de 2015

Paciente	Amostra	CIM ¹ (µg/mL)
O	40KPC	128
D	88KPC	32
P	91KPC	64
	92KPC	64
Q	93KPC	32
	94KPC	32
R	99KPC	32
S	101KPC	64
T	102KPC	128
U	105KPC	64

¹Concentração inibitória mínima

Foi observado que os pacientes foram frequentemente transferidos entre os leitos da UTI de adultos e a Figura 5 mostra a sequência destes eventos durante o período de estudo. No dia 18 de março de 2015, foi isolado na UTI de adultos (leito número 17) o primeiro episódio de *K. pneumoniae* resistente a colistina no HC-UFG. A amostra foi isolada a partir de uma cultura de líquido, após uma neurocirurgia de uma paciente de 47 anos (paciente O), a qual deu entrada no hospital devido a uma neoplasia cerebral. A terapia prévia incluiu cefazolina, cefepime, vancomicina, meropenem e polimixina B. Em culturas prévias da mesma paciente, foram isolados *Staphylococcus aureus* no trato respiratório e *A. baumannii* no trato respiratório, corrente sanguínea e líquido. Após o dia 18 de março, a paciente foi transferida para o leito número 12 e para o leito 28, onde foram isoladas mais duas amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC, uma proveniente de líquido e outra de colonização, ambas susceptíveis às polimixinas. A paciente foi então novamente transferida (leito 23) no dia 9 de abril e evoluiu para óbito no dia seguinte.

Após o primeiro de caso de *K. pneumoniae* resistente às polimixinas, o próximo episódio foi identificado apenas no final do mês de maio, em um paciente de 69 anos, portador do vírus HIV (*Human Immunodeficiency virus*) e da Doença de Chagas. Este ficou acometido na UTI de adultos no leito 13, sendo posteriormente transferido para o leito 28. Culturas prévias deste paciente identificaram amostras de *K. pneumoniae* sensível a colistina no trato respiratório e corrente sanguínea. Após nova transferência para o leito 24, um episódio de colonização por *K. pneumoniae* sensível a colistina foi

identificado e, no dia 30 de maio, foi detectado o isolado resistente a colistina, a partir de uma cultura de secreção traqueal. Outras culturas, do dia 2 de junho, identificaram colonização e infecção por *K. pneumoniae* sensível a colistina, e o paciente evoluiu para óbito no dia 14 de junho.

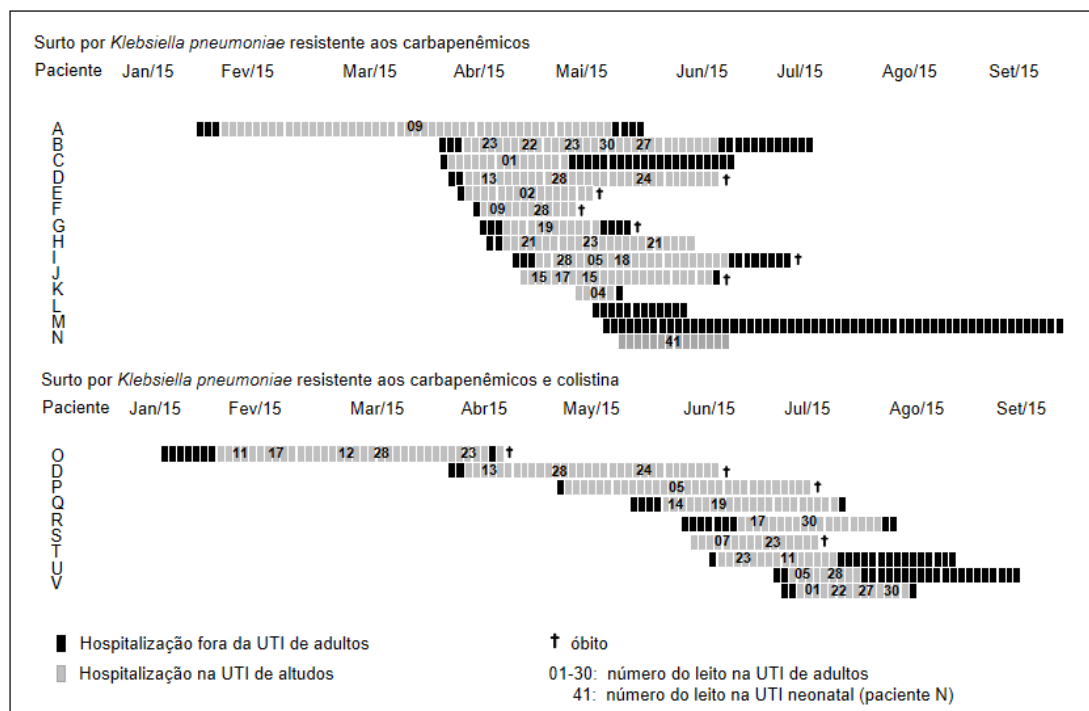


Figura 5. Linha do tempo da internação dos pacientes infectados e/ou colonizados envolvidos nos surtos

6. DISCUSSÃO

A emergência e disseminação de resistência aos antibióticos da classe dos β -lactâmicos entre microrganismos da família Enterobacteriaceae e outros bacilos Gram-negativos tornou-se problema crescente no ambiente hospitalar a partir deste século, resultando em aumento significativo nas taxas de resistência às cefalosporinas de 3^a e 4^a geração e, mais recentemente, aos carbapenêmicos (IZADPANAH; KHALILI, 2015; MORRILL et al., 2015). No momento, as IRAS causadas por estas bactérias é motivo de enorme preocupação em todo o mundo, especialmente em pacientes internados em hospitais de países em desenvolvimento, onde as taxas de mortalidade e os custos são extremamente elevados e significantes, principalmente quando cepas multirresistentes são implicadas (ZARRILLI et al., 2004; HIRSCH; TAM, 2010; FALAGAS et al., 2014). A emergência de amostras de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos, especialmente daquelas produtoras de KPC, representa ameaça grave nos hospitais, devido às opções limitadas de tratamento e seu potencial de disseminação rápida (WHO, 2011; SNITKIN, 2013; YAMAMOTO; POP-VICAS, 2014).

Hoje, entre os microrganismos da família Enterobacteriaceae, os representantes do gênero *Klebsiella* spp. são mais prevalentes como causadores de IRAS (CDC, 2013). A resistência destas bactérias aos carbapenêmicos aumentou significativamente na Europa, conforme relatado pelo ECDC, variando de 4,6% em 2010 para 8,3% em 2013 (ECDC, 2014). Entre os países da América Latina, o Brasil relata frequências de 17,3% de amostras apresentando este perfil de resistência nos hospitais (JONES et al., 2013).

Apesar dos estudos apontarem maior prevalência de KPC em amostras de *K. pneumoniae*, no nosso estudo encontramos o gene *bla_{KPC}* também em três outras espécies de Enterobacteriaceae: *E. coli*, *E. aerogenes* e *E. cloacae*. Não foi encontrado o gene *bla_{KPC}* em 25.41% das amostras (31/122). Pode ser que nestas cepas haja associação com outros mecanismos intrínsecos de resistência, além de outros genes não avaliados neste estudo. Adicionalmente, nenhuma destas amostras apresentou os genes *bla_{VIM}*, *bla_{IMP-1}*, e *bla_{NDM-1}*, que poderiam explicar a resistência aos carbapenêmicos. Foi observada resistência elevada de fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, bem como a outros β -lactâmicos. Esse perfil pode ser justificado pela co-existência de diferentes mecanismos de resistência nestas amostras (RUPPÉ; WOERTHER; BARBIER, 2015).

Em relação a *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, a sua frequência em alguns hospitais brasileiros é alta, como relatado por Seibert e colaboradores (2014)

e Oliveira e colaboradores (2015). Na nossa série, Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos foi prevalente em todo hospital e, entre os episódios, 77% foi por *K. pneumoniae*. A partir do primeiro isolamento de *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos, em setembro de 2014, 68% dos casos (17/25) evoluíram para o óbito num prazo de 14 dias após o isolamento desta cepa.

Da mesma forma, taxas de mortalidade variando de 30% a 67% foram relatadas por outros pesquisadores (FALAGAS et al., 2007; BORER et al., 2009; ROTTIER et al., 2012; ADAMS-SAPPER et al., 2015, CAMPOS et al., 2016; GARBATI; SAKKIJHA; ABUSHAHEEN, 2016), refletindo as opções terapêuticas limitadas para em estas infecções, além de ressaltar a importância da resistência ocasionada pela pressão seletiva por uso empírico de antimicrobianos, terapia inadequada e gravidade de doenças de base como fatores de risco para pior evolução dos pacientes. Nossos resultados mostraram taxa elevada (30,1%) de mortalidade dos pacientes com IRAS em 30 dias, estando independentemente associada a pacientes em hemodiálise e com infecção de corrente sanguínea. Além disso, os nossos dados ratificaram a maioria dos fatores de risco citados na literatura como relacionados à mortalidade por essas infecções, pela análise univariada, incluindo idade, procedimentos invasivos (ventilação mecânica, traqueostomia e sonda nasogástrica ou nasoenteral), uso prévio de glicopeptídeos, e terapia combinada, incluindo polimixinas (PATEL et al., 2008; GUPTA et al., 2011; BHARGAVA et al., 2014; MARTIROSOV; LODISE, 2015). Entretanto, a terapia inadequada nos pacientes que evoluíram para o óbito não foi significativa, embora a curva de Kaplan-Meier evidenciasse uma menor probabilidade de sobrevivência e em menor tempo. Vários estudos relacionados com infecções hospitalares tem destacado a gravidade do paciente e a resistência aos antimicrobianos associada a terapêutica empírica inadequada como importantes preditores de morte nestes pacientes (ZARKOTOU et al., 2011; FALAGAS et al., 2014).

A terapia específica e adequada destas infecções instituída com base no resultado de testes de susceptibilidade *in vitro*, é usualmente realizada através da combinação de antimicrobianos, incluindo drogas como carbapenêmicos, aminoglicosídeos, polimixinas e tigeciclina (QURESHI et al., 2012; DAIKOS et al., 2014). Nos regimes nos quais os carbapenêmicos estão incluídos a taxa de mortalidade mais baixa, indicando uma atividade sinérgica entre as drogas (DAIKOS et al., 2011; TUMBARELLO et al., 2012; PETROSILLO et al., 2013).

Nos pacientes com infecção por amostras com resistência às polimixinas, recomenda-se associação de dois ou três antibióticos (carbapenêmico + aminoglicosídeo + tigeciclina), entretanto, as polimixinas apresentam alta toxicidade como efeito colateral, e a tigeciclina não é recomendada para infecções de corrente sanguínea (VANDUIN et al., 2013). Neste estudo, menos da metade dos pacientes (40%) utilizou combinação de antibióticos, sendo que em apenas 13% foi incluída a colistina.

Geralmente, em países em desenvolvimento, a densidade de utilização de antibióticos é mais elevada, particularmente em unidades de cuidados intensivos (MOREIRA et al., 2013). Este alto consumo de antimicrobianos resulta na pressão seletiva de antibióticos, o principal responsável pela emergência de amostras resistentes e multirresistentes, que somado a existência de clones dominantes e falhas nas práticas básicas de prevenção e controle de infecções justificam a disseminação deste microrganismo no ambiente hospitalar (DAVIES; DAVIES, 2010; TERNENT et al., 2015; IREDELL; BROWN; TAGG, 2016). Na nossa investigação, o consumo de antibióticos, incluindo carbapenêmicos e polimixinas, foi muito alto durante todo o período estudado. Quando esses dados são comparados ao de outros hospitais, bem como de outros países, observamos um consumo menor de carbapenêmicos (36,9/1000 pacientes-dia) e colistina (0,15/1000 pacientes-dia) em países europeus (DUMARTIN et al., 2010; GIANI et al., 2015). A necessidade de melhorar o uso de antibióticos é urgente em todo mundo e deve haver maior difusão dos programas de gerenciamento do uso dos mesmos nos hospitais (DiDIODATO et al, 2016). Entretanto, as mudanças na política de uso de antibióticos nos hospitais representa um desafio de grande complexidade.

Atualmente, tem sido observado aumento na produção de ESBLs por BGN em pacientes hospitalizados, resultando na maior prescrição de carbapenêmicos, e consequente emergência de resistência a esta classe de β -lactâmicos e usualmente associada a multirresistência (BAE et al., 2015; BARAN; AKSU, 2016). No momento, a principal opção terapêutica para o tratamento de infecções por estas bactérias são as polimixinas, mas sua maior utilização tem resultado no surgimento de amostras resistentes a estes antimicrobianos (BOGDANOVICH et al., 2011; MEZZATESTA et al., 2011, CAPONE et al, 2013).

Os nossos resultados evidenciam a ocorrência de dois surtos devido a *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos e produtoras de KPC, sendo o primeiro por amostras susceptíveis a colistina (ColS-KPC) e o segundo por resistentes a este

antibiótico (ColR-KPC), durante o período investigado. Os surtos incluíram sobretudo pacientes internados na UTI de adultos, nos meses de maio e julho de 2015, observando-se frequências destes isolados ultrapassando o limite de controle superior correspondente a taxa de endemicidade para a unidade.

Embora a situação epidemiológica quanto a presença de infecções por amostras de *K. pneumoniae* produtoras de KPC seja endêmica em muitos hospitais do país, no tocante a ocorrência daquelas resistentes a colistina há poucos dados (GASPAR et al., 2015; CAMPOS et al, 2016). Ao nosso conhecimento, o surto ColR-KPC, cuja amostra epidêmica foi resistente a colistina foi o primeiro a ser relatado no Brasil. Em outros países, surtos tão importante quanto este também tem sido relatados em UTIs, e relacionados com o aumento na prescrição de polimixinas, em pacientes com condições clínicas mais graves e submetidos a procedimentos invasivos, condições que favorecem a emergência destes microrganismos e são fatores de risco de colonização e/ou infecção dos pacientes (BOGDANOVICH et al., 2011; CAPONE et al., 2012). Dados recentes recuperados da UTI de adultos do HC-UFRJ evidenciam taxas muito elevadas de bactérias resistentes aos antibióticos (SABINO et al. 2016), particularmente relacionado com o alto consumo dos mesmos (MOREIRA et al., 2013; PORTO et al., 2013; DANTAS et al, 2014).

No total, os 24 pacientes incluídos nos dois surtos apresentaram diversas comorbidades, destacando-se cardiopatias, neoplasias, acidentes vasculares e diabetes, além de traumas e cirurgias, sendo que na sua maioria a internação foi superior 30 dias. No segundo surto, devido a ColR-KPC, juntamente com um maior número de infecções (6/9) em relação ao de colonizações, a evolução foi pior (4/6), em pacientes que utilizaram colistina previamente ao isolamento da amostra resistente.

Surto mono ou policlonais causados por amostras destes microrganismos foram descritos em hospitais de diversos países, e são usualmente caracterizadas por disseminação rápida na unidade (BOGDANOVICH et al., 2011; CAPONE et al., 2012; MAMMINA et al., 2012). Os nossos dados evidenciam que o surto por ColR-KPC foi por um clone dominante (clone A), enquanto o atribuído à amostras ColS-KPC foi policlonal (clones A – G). Como mostram os nossos resultados, em que a amostra epidêmica responsável pelo segundo surto contaminou oito pacientes dentro do período de dois meses. Os resultados evidenciam também que houve relações temporal e espacial na unidade, uma vez que alguns pacientes ocuparam o mesmo leito durante a internação.

Adicionalmente, falhas quanto a medidas básicas de prevenção e controle de infecções, como a baixa adesão a higienização das mãos pelos profissionais de saúde da unidade favorecem a disseminação dessas amostras (BORGES et al., 2006). A contenção dos surtos só foi possível com a medida extrema de fechamento da UTI de adultos no mês de julho de 2015. Após isso, não foram observadas novas transmissões.

As bactérias pertencentes ao gênero *Klebsiella* spp. são mais prevalentes no ambiente hospitalar do que outros coliformes, incluindo na superfície das mãos e de pisos e outros locais pode ser potencialmente um reservatório durante a ocorrência de surtos (ROCHA et al., 2013; WETERINGS et al., 2015) como sugerem os nossos dados, sobretudo em relação ao uso de leitos inadequadamente limpos e/ou desinfetados. A maioria dos pacientes ocupou os leitos 28 ou 23 da UTI de adultos. A disseminação deste amostra epidêmica provavelmente através das mãos de profissionais de saúde da unidade propiciou a contaminação cruzada dos pacientes infectados e/ou colonizados.

Além disso, a importância da rápida expansão do clone dominante de ColR-KPC na unidade não pode ser enfatizada. A linhagem deste clone através da técnica de MLST (*Multilocus Sequence Typing*) não foi determinada, mas há relatos de uma disseminação entre continentes daquela do tipo ST258 (ANDRADE et al., 2011; WOODFORD et al., 2011; MUNOZ-PRICE et al., 2013; MAVROIDI et al., 2016).

7. CONCLUSÕES

O estudo documentou a presença de infecções de natureza hospitalar por amostras de KPC configurando uma situação de endemidade no início da investigação evoluindo posteriormente para a ocorrência de um surto por *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos, produtora de KPC e seguindo-se num segundo surto resultante de uma amostra epidêmica de *K. pneumoniae* resistente a colistina. Adicionalmente, os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- A frequência de amostras produtoras de KPC foi alta, mas a existência do mecanismo de inativação enzimática por metalo- β -lactamase (*bla*_{VIM}, *bla*_{IMP-1} e *bla*_{NDM-1}) entre as amostras não foi detectada;
- Nossos resultados mostraram taxa elevada (30,1%) de mortalidade dos pacientes com IRAS em 30 dias, estando independentemente associada a pacientes em hemodiálise e com infecção de corrente sanguínea, bem como sua associação com terapia inapropriada;
- Dois surtos foram caracterizados e abordaram o importante problema da disseminação de cepas ColR-KPC em UTIs de adultos no Brasil;
- Os dados obtidos evidenciam a importância da pressão seletiva de antibióticos, particularmente de colistina, no favorecimento de mutantes resistente e na emergência de resistência à mesma;
- A persistência da amostras no meio ambiente ficou evidente pela frequência em que pacientes os utilizaram o mesmo leito foram infectados;
- A importância de falhas nas práticas básicas de prevenção e controle facilitando a transmissão cruzada do agente também contribuíram para a ocorrência dos dois surtos, que só foram controlados pela medida extrema do fechamento da unidade a novas internações.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS-SAPPER, S.; NOLEN, S.; DONZELLI, G.F.; LAL, M.; CHEN, K.; DA SILVA, L.H.J.; MOREIRA, B.M.; RILEY, L.W. Rapid Induction of High-Level Carbapenem Resistance in Heteroresistant KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 3281-3289, 2015.

AMBLER, R. P. The structure of β -lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 289, p. 321–331, 1980.

ANDRADE, L.N.; CURIAO, T.; FERREIRA, J.C.; LONGO, J.M.; CLÍMACO, E.C.; MARTINEZ, R.; BELISSIMO-RODRIGUES, F.; BASILE-FILHO, A.; EVARISTO, M.A.; DEL PELOSO, P.F.; RIBEIRO, V.B.; BARTH, A.L.; PAULA, M.C.; BAQUERO, F.; CANTÓN, R.; DARINI, A.L.; COQUE, T.M. Dissemination of *bla*_{KPC-2} by the spread of *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among Enterobacteriaceae species in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3579-3583, 2011.

ANDRADE, S.S.; JONES, R.N.; GALES, A.C., SADER, H.S. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin American medical centers: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, p. 140-1, 2003.

ARDUINO, S.M.; QUIROGA, M.P.; RAMÍREZ, M. S.; MERKIER, A.K.; ERRECALDE, L.; DI MARTINO, A.; SMAYEVSKY, J.; KAUFMAN, S.; CENTRÓN, D. Transposons and integrons in colistin-resistant clones of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* with epidemic or sporadic behaviour. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. Pt 10, p. 1417-1420, 2012.

BAE, I.K.; KANG, H.K.; JANG, I.H.; LEE, W.; KIM, K.; KIM, J.O.; JEONG, H.S.; LEE, K. Detection of Carbapenemases in Clinical Enterobacteriaceae Isolates Using the VITEK AST-N202 Card. **Infection & Chemotherapy**, v. 47, n. 3, p. 167-174, 2015.

BAQUERO, F.; TEDIM, A.P.; COQUE, T.M. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 15, 2013.

BARAN, I.; AKSU, N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in Turkey. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 15, n. 1, p. 1, 2016.

BAUMGART, A.M.; MOLINARI, M.A.; SILVEIRA, A.C. Prevalence of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in high complexity hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 433–436, 2010.

BECEIRO, A.; TOMÁS, M.; BOU, G. Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 2, p. 185-230, 2013.

BEIRÃO, E.M.; FURTADO, J.J.D.; GIRARDELLO, R.; FERREIRA-FILHO, H.; GALES, A.C. Clinical and microbiological characterization of KPC-producing

Klebsiella pneumoniae infections in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 15, p. 69-73, 2011.

BELL, B.G.; SCHELLEVIS, F.; STOBBERINGH, E.; GOOSSENS, H.; PRINGLE, M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014.

BHARGAVA, A.; HAYAKAWA, K.; SILVERMAN, E.; HAIDER, S.; ALLURI, K.C.; DATLA, S.; MARCHAIM, D. Risk factors for colonization due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients exposed to long-term acute care and acute care facilities. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 35, n. 04, p. 398-405, 2014.

BISWAS, S.; BRUNEL, J.M.; DUBUS, J.C.; REYNAUD-GAUBERT, M. ROLAIN, Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 10, n. 8, p. 917-934, 2012.

BOGDANOVICH, T.; ADAMS-HADUCH, J.M.; TIAN, G.B.; NGUYEN, M.H.; KWAK, E.J.; MUTO, C.A.; DOI, Y. Colistin-resistant, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to the international epidemic clone ST258. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 4, p. 373-376, 2011.

BORER, A.; SAIDEL-ODES, L.; RIESENBERG, K.; et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 30, n. 10, p. 972-976, 2009.

BORGES, L.F.A.; SILVA, B.L.; GONTIJO-FILHO, P.P. Hand washing: Changes in the skin flora. **American Journal of Infection Control**, v. 35, n. 6, p. 417-420, 2007.

CAMPOS, A.C.; ALBIERO, J.; ECKER, A.B.; KURODA, C.M.; MEIRELLES, L.E.F.; POLATO, A.; TOGNIM, M.C.B.; WINGETER, M.A.; TEIXEIRA, J.J.V. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K pneumoniae*: A systematic review. **American Journal of Infection Control**, 2016.

CAPONE, A.; GIANNELLA, M.; FORTINI, D.; MELENDRI, M.; BALLARDINI, M.; VENDITTI, M.; BORDI, E.; CAPOZZI, D.; BALICE, M.P.; TARASI, A.; PARISI, G.; LAPPÀ, A.; CARATTOLI, A.; PETROSILLO, N. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, p. E23-E30, 2013.

CAPUANO, V.S.C. **Estudo comparativo de métodos fenotípicos e biomoleculares para determinação de resistência a antibióticos em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de coiro e carcaça de bovinos e produtos cárneos**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Vital signs: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 62, p. 165-70, 2013.

CEZARIO, R.C.; MORAIS, L.D.D.; FERREIRA, J.C.; COSTA-PINTO, R.M.; DA COSTA, D.A.L.; GONTIJO-FILHO, P.P. Nosocomial outbreak by imipenem-resistant metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an adult intensive care unit

in a Brazilian teaching hospital. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.27, n. 5, p.269-274, 2009.

CHEN, L.; MATHEMA, B.; CHAVDAL, K.D.; DeLEO, F.R.; BONOMO, R.A.; KREISWIRTH, B.N. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. **Trends in Microbiology**, 2014.

CORNAGLIA, G.; AKOVA, M.; AMICOSANTE, G.; CANTÓN, R.; CAUDA, R.; DOCQUIER, J.D.; EDELSTEIN, M.; FRÈRE, J.M.; FUZI, M.; GALLINI, M. GIAMARELLOU, H. GNIADKOWSKI, M.; KONCAN, R.; LIBISCH, B.; LUZZARO, F.; MIRIAGOU, V.; NAVARRO, F.; NORDMANN, P.; PAGANI, L. PEIXE, L.; POIREL, L.; SOULI, M.; TACCONELLI, E.; VATOPOULOS, A.; ROSSOLINI, G.M.; ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS). Metallo-beta-lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 29, p. 380–388, 2007.

DAIKOS, G.L.; MARKOGIANNAKIS, A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 1135–1141, 2011.

DAIKOS, G.L.; TSAOUSI, S.; TZOUVELEKIS, L.S.; ANYFANTIS, I.; PSICHOGIOU, M.; ARGYROPOULOU, A.; STEFANOU, I.; SYPSA, V.; MIRIAGOU, V.; NEPKA, M.; GEORGIADOU, S.; MARKOGIANNAKIS, A.; GOUKOS, D.; SKOUTELIS, A. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections: Lowering Mortality by Antibiotic Combination Schemes and the Role of Carbapenems. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 4, p. 2322–2328, 2014.

DANTAS, R.C.; FERREIRA, M.L.; GONTIJO-FILHO, P.P.; RIBAS, R.M. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. **Journal of Medical Microbiology**, v.63, n.12, p.1679-1687, 2014.

DAVIES J, DAVIES D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v. 74, p. 417–33, 2010.

DESHPANDE, L. M.; JONES, R. N.; FRITSCH, T. R.; SADER, H. S. Occurrence and Characterization of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000–2004). **Microbial Drug Resistance**, v. 12, n. 4, p. 223- 230, 2006.

DIDIODATO, G.; McARTHUR, L.; BEYENE, J.; SMIEJA, M.; THABANE, L. Evaluating the impact of an antimicrobial stewardship program on the length of stay of immune-competent adult patients admitted to a hospital ward with a diagnosis of community-acquired pneumonia: A pragmatic clinical trial. In: **IDWeek 2015**. Idsa, 2015.

DYAR, O.J.; PAGANI, L.; PULCINI, C. Strategies and challenges of antimicrobial stewardship in long-term care facilities. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 1, p. 10-19, 2015.

EL SALABI, A.; BORRA, P.S.; TOLEMAN, M.A.; SAMUELSEN, Ø.; WALSH, T. R. Genetic and biochemical characterization of a novel metallo- β -lactamase, TMB-1, from an *Achromobacter xylosoxidans* strain isolated in Tripoli, Libya. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n.5, p. 2241-2245, 2012.

EUROPEAN CENTER FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. ECDC. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. **Annual report of the European antimicrobial resistance surveillance network (EARS-Net)**. Stockholm: ECDC; 2014. Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>. Acesso em 14 de Agosto de 2015.

FALAGAS, M.E.; MICHALOPOULOS, A. Polymyxins: old antibiotics are back. **The Lancet**, v. 367, n. 9511, p. 633-634, 2006.

FALAGAS, M.E.; RAFAILIDIS, P.I.; KOFTERIDIS, D.; VIRTZILI, S.; CHELVATZOGLOU, F.C.; PAPAIOANNOU, V.; MARAKI, S.; SAMONIS, G. 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.

FALAGAS, M.E; TANSARLI, G.S; KARAGEORGOPOULOS, D.E; VARDAKAS, K.Z. Deaths Attributable to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 7, p. 1 -6, 2014.

FRANCO, M.R.G.; CAIAFFA-FILHO, H.H.; BURATTINI, M.N.; ROSSI, F. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. **Clinical Science**, v. 65, n. 9, p. 825–9, 2010.

GALES, A. C.; TORRES, P. L.; VILARINHO, D. S. O.; MELO, R. S.; SILVA, C. F. L.; CEREDA, R. F. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 4, p. 267-271, 2004.

GALETTI, R. **Estudo de *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de metalo-beta-lactamases e de genes envolvidos na resistência aos carbapenêmicos** [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2010. 49 p.

GARBATI, M.A.; SAKKIJHA, H.; ABUSHAHEEN, A. Infections due to Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae among Saudi Arabian Hospitalized Patients: A Matched Case-Control Study. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-9, 2016.

GASPAR, G.G.; BELLISSIMO-RODRIGUES, F. ANDRADE, L.N.D.; DARINI, A.L.; MARTINEZ, R. Induction and nosocomial dissemination of carbapenem and polymyxin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 483-487, 2015.

GASPAR, G.G.; BELLISSIMO-RODRIGUES, F.; ANDRADE, L.N.D.; DARINI, A.L.; MARTINEZ, R. Induction and nosocomial dissemination of carbapenem and polymyxin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 483-487, 2015.

GIANI, T.; ARENA, F.; VAGGELLI, G.; CONTE, V.; CHIARELLI, A.; DE ANGELIS, L.H.; FORNAINI, R.; GRAZZINI, M.; NICCOLINI, F.; PECILE, P.; ROSSOLINI, G.M. Large nosocomial outbreak of colistin-resistant, carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* traced to clonal expansion of an *mgrB* deletion mutant. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, p. 3341-3344, 2015.

GILBERT, D.N.; SANDE, M.A.; MOELLERING, R.C.; ELIOPOULOS, G.M. **The Sanford guide to antimicrobial therapy**. 37 ed. Sperryville: Antimicrobial Therapy Incorporated, 2007.

GUH, A.Y.; BULENS, S.N.; MU, Y.; JACOB, J.T.; RENO, J.; SCOTT, J.; WILSON, L.E.; VAETH, E.; LYNFIELD, R.; SHAW, K.M.; VAGNONE, P.M.S.; BAMBERG, W.M.; JANELLE, S.J.; DUMYATI, G.; CONCANNON, C.; BELDAVS, Z.; CUNNINGHAM, M. CASSIDY, M.; PHIPPS, E.C.; KENSLOW, N.; TRAVIS, T.; LONSWAY, D.; RASHEED, K.; LIMBAGO, B.M.; KALLEN, A.J. Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in 7 US Communities, 2012-2013. **Journal of American Medical Association**, v. 314, n. 14, p. 1479-1487, 2015.

GULEN, T.A.; GUNER, R.; CELIKBILEK, N.; KESKE, S.; TASYARAN, M. Clinical importance and cost of bacteremia caused by nosocomial multi drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 38, p. 32–35, 2015.

GUPTA, N.; LIMBAGO, 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.

HAMMOUDI, D.; AYOUB-MOUBARECK, C.; AIRES, J.; ADAIME, A.; BARAKAT, A.; FAYAD, N.; HAKIME, N.; HOUMANI, M.; ITANI, T.; NAJJAR, Z.; SULEIMAN, M.; SARRAFIM, R.; KARAM-SARKIS, D. Countrywide spread of OXA-48 carbapenemase in Lebanon: surveillance and genetic characterization of carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in 10 hospitals over a one-year period. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 29, p. 139–144, 2014.

HAMZAN, N.I.; YEAN, C.Y.; RAHMAN, R.A.; HASAN, H.; RAHMAN, Z.A. Detection of *bla*_{IMP-4} and *bla*_{NDM-1} harboring *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Malaysia. **Emerging Health Threats**, 8:26011, 2015.

HAYAKAWA, K.; MARCHAIM, D.; DIVINE, G.W.; POGUE, J.M.; KUMAR, S.; LEPHART, P.; RISK, K.; SOBEL, J.D.; KAYE, K.S. Growing prevalence of *Providencia stuartii* associated with the increased usage of colistin at a tertiary health care center. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 9, p. e646-e648, 2012.

HIRSCH, E. B.; TAM, V. H. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. **Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research**, v. 10, p. 441–451, 2010.

IREDELL, J.; BROWN, J.; TAGG, K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. **BMJ**, v. 352, p. h6420, 2016.

IZADPANAH, M.; KHALILI, H. Antibiotic regimens for treatment of infections due to multidrug-resistant Gram-negative pathogens: An evidence-based literature review. **Journal of Research in Pharmacy Practice**, v. 4, n. 3, p. 105–114, 2015.

JINDAL AK, PANDYA, M.K, KHAN, M.I.D., Antimicrobial resistance: A public health challenge, **Medical Journal Armed Forces India**, 2014.

JOHANSEN, H. K.; MOSKOWITZ, S. M.; CIOFU, O.; PRESSLER, T.; HOIBY, N. Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 7, n. 5, p. 391–397, 2008

JONES, R.N.; GUZMAN-BLANCOB, M. GALES, A.C.; GALLEG0, B.; CASTRO, A.L.L.; MARTINO, M.D.V.; VEGAF, S.; ZURITA, J.; CEPPARULOH, M.; CASTANHEIRA, M. Susceptibility rates in Latin American nations: report from aregional resistance surveillance program (2011). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 672–681, 2013.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C.J.; WINN, W.C.J. **Bacilos Gram-negativos não-fermentadores. Diagnóstico Microbiológico-Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi, p. 264-329, 2001.

KONTOPOULOU, K.; PROTONOTARIOU, E.; VASILAKOS, K.; KRITI, M.; KOTELI, A.; ANTONIADOU, E.; SOFIANOU, D. Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 beta-lactamase resistant to colistin. **Journal of Hospital Infection**, v. 76, n. 1, p. 70-73, 2010.

LEAVITT, A.; NAVON-VENEZIA, S.; CHMELNITSKY, I.; SCHWABER, M.J.; CARMELI, Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, p. 3026-3029, 2007.

LEAO, L.A.N.O.; PASSOS, X.S.; REIS, C.; VALADAO, L.M.A.; SILVA, A.R.R.; PIMENTA, F.C. Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes críticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 5, p. 537-540, 2007.

LODISE, T.P.J.R.; PATEL N.; KWA, A.; GRAVES, J.; FURUNO, J.P; GRAFFUNDER, E.; LOMAESTRO, B.; MCGREGOR, J.C. Predictors of 30-day mortality among patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: impact of delayed appropriate antibiotic selection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 10,p. 3510–3515, 2007.

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D.L.; RICE, L.B.; STELLING J.; STRUELENS, M.J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.

MAMMINA, C.; BONURA, C.; DI BERNARDO, F.; ALEO, A.; FASCIANA, T.; SODANO, C.; SAPORITO, M.A.; VERDE, M.S.; TETAMO, R.; PALMA, D.M. Ongoing spread of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in different wards of an acute general hospital, Italy, June to December 2011. **Euro Surveillance**, v. 17, p. 1-4, 2012.

MARTIROSOV, M.; LODISE, T.P. Emerging trends in epidemiology and management of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 2015.

MAVROIDI, A.; KATSIARI, M.; LIKOUSI, S.; PALLA, E.; ROUSSOU, Z., NIKOLAOU, C.; PLATSOUKA, E.D. Characterization of ST258 Colistin-Resistant, bla KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Greek Hospital. **Microbial Drug Resistance**, 2016.

McARTHUR, A.G, WAGLECHNER, N.; NIZAM, F.; YAN, A.; AZAD, M.A; BAYLAY, A.J.; BHULLAR, K.; CANOVA, M.J; DE PASCALE, G.; EJIM, L.; KALAN, L.; KING, A.M.; KOTEYA, K.; MORAR, M.; MULVEY, M.R.; O'BRIEN, J.S.; PAWLOWSKI, A.C.; PIDDOCK, L.J.V; SPANOGIANNOPOULOS, P.; SUTHERLAND, A.D.; TANG, I.; TAYLOR, P.L.; MAULIK, T.; WANG, W.; YAN, M.; YU, T.; WRIGHT, G.D. The Comprehensive Antibiotic Resistance Database. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 7, p. 3348-3357, 2013.

McGOWAN, J.E.Jr. Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use? **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 63, n. 3, p. 253-268, 1987.

McLAUGHLIN, M. ADVINCULA, M.R.; MALCZYNSKI, M.; QI, C.; BOLON, M.; SCHEETZ, M.H. Correlations of antibiotic use and carbapenem resistance in Enterobacteriaceae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 10, p. 5131-5133, 2013.

MENDES, R.E.; CASTANHEIRA, M.; PIGNATARI, A.C.; GALES, A.C. Metallo- β -lactamases. **Journal of Pathology and Laboratory Medicine**, v.42, n. 2, p.103-113, 2006.

MERKIER, A. K.; RODRIGUEZ, M.C.; TOGNERI, A.; BRENGI, S.; OSUMA, C.; PICHEL, M.; CASSINI, M.H. Outbreak of a cluster with epidemic behavior due to *Serratia marcescens* after colistin administration in a hospital setting. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 7, p. 2295-2302, 2013.

MEYER, E.; JONAS, D.; SCHWAB, F.; RUEDEN, H. GASTMEIER, P.; DASCHNER, F.D. Design of a Surveillance System of Antibiotic Use and Bacterial Resistance in German Intensive Care Units (SARI). **Infection**, v. 47, n. 4, p. 208-215, 2003.

MEZZATESTA, M.L.; GONA, F.; CAIO, C.; PETROLITO, V.; SCIORTINO, D.; SCIACCA, A.; SANTANGELO, C.; STEFANI, S. Outbreak of KPC-3-producing, and colistin-resistant, *Klebsiella pneumoniae* infections in two Sicilian hospitals. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 9, p. 1444-1447, 2011.

MIRIAGOU, V.; CORNAGLIA, G.; EDELSTEIN, M.; GALANI, I.; GISKE, C.G.; GNIADKOWSKI, M. MALAMOU-LADA, E.; MARTINEZ-MARTINEZ, L.; NAVARRO, F.; NORDMANN, P.; PEIXE, L.; POURNARAS, S.; ROSSOLINI, G.M.; TSAKRIS, A.; VATOPOULOS, A.; CANTÓN, R. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, p. 112–122, 2010.

MOFFATT, J.H.; HARPER, M.; HARRISON, P.; HALE, J.D.; VINOGRADOV, E.; SEEMANN, T.; HENRY, R.; CRANE, B.; ST MICHEL, F.; COX, A.D.; ADLER, B.; NATION, R.L.; LI, J.; BOYCE, J.D. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n. 12, p. 4971-4977, 2010.

MONTEIRO, J.; SANTOS, A.F.; ASENSI, M.D.; PEIRANO, G.; GALES, A.C. First Report of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, p. 333-334, 2009.

MOREIRA, M.R.; GUIMARÃES, M.P.; RODRIGUES, A. A. A.; GONTIJO-FILHO, P. P. Antimicrobial use, incidence, etiology and resistance patterns in bacteria causing ventilator-associated pneumonia in a clinical-surgical intensive care unit. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 1, p. 39-44, 2013.

MORRILL, H.J.; POGUE, J.M.; KAYE, K.S.; LAPLANTE, K.L. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 2, p. 1-15, 2015.

MUNOZ-PRICE, L.S.; POIREL, L.; BONOMO, R.A.; SCHWABER, M.J.; DAIKOS, G.L.; CORMICAN, M.; CORNAGLIA, G.; GARAU, J.; GNIADKOWSKI, M.; HAYDEN, M.K.; KUMARASAMY, K.; LIVERMORE, D.M.; MAYA, J.J.; NORDMANN, P. PATEL, J.B. PATERSON, D.L. PITOUT, J.; VILLEGAS, M.V.; WANG, H.; WOODFORD, N.; QUINN, J.P. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 9, p. 785-796, 2013.

NAAS, T.; NORDMANN, P.; VEDEL, G.; POYART, C. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 10, p. 4423-4424, 2005.

NAAS, T.; CUZON, P.G.; VILLEGAS, M.V.; LARTIGUE, M.F.; NORDMANN, P. Genetic structures at the origin of acquisition of the β -lactamase *bla*_{KPC} gene. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 1257-1263, 2008.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. **American Journal of Infection Control**, v. 32, p. 470-485, 2004.

NORDMANN, P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Overview of a major public health challenge. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, p. 51–56, 2014.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global Spread of Carbapenemase producing Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, 2011.

NUNES, F. **Determinantes genéticos de virulência bacteriana e sua relação com as infecções urinárias como causa primária de bacterémias** [dissertação]. Lisboa: Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 2009. 38 p.

OLIVEIRA, M.S.; DE ASSIS, D.B.; FREIRE, M.P.; BOAS DO PRADO, G.V., MACHADO A.S.; ABDALA, E. PIERROTTI, L.C, MANGINI, C.; CAMPOS L.; CAIAFFA-FILHO, H.H.; LEVIN, A.S. Treatment of KPC-producing Enterobacteriaceae: suboptimal efficacy of polymyxins. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 2, p. 179.e1–179.e7, 2015.

PATEL, G.; HUPRIKAR, S.; FACTOR, S.H.; JENKINS, S.G.; CALFEE P. Outcomes of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and impact of antimicrobial and adjunctive therapies. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, p. 1099–1106, 2008.

PATEL, G.; HUPRIKAR, S.; FACTOR, S.H.; JENKINS, S.G.; CALFEE, D.P. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 12, p. 1099-1106, 2008.

PAVEZ, M.; MAMIZUKA, E.M.; LINCOPAN, N. Early Dissemination of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Brazil. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 53, n. 6, p. 2702-2702, 2009.

PELEG, A. Y.; 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.

PEREIRA, P.S.; ARAUJO, C.F.M.; SEKI, L.M.; ZAHNER, V.; CARVALHO-ASSEF, A.P.D.A.; ASENSI, M.D. Update of the molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil: spread of clonal complex 11 (ST11, ST437 and ST340). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 2, p. 312-316, 2013.

PETROSILLO, N.; GIANNELLA, M.; LEWIS, R.; VIALE, P. Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the state of the art. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, p. 159–177, 2013.

PILLONETTO, M.; AREND, L.; VESPERO, E.C.; PELISSON, M.; CHAGAS, T.P.G.; CARVALHO-ASSEF, A.P.D.; ASENSI, M.D. The first report 1 of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* ST 25 in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p. AAC. 03444-14, 2014.

POIREL, L.; RODRIGUES-MARTINEZ, J.M.; NAIEMI, N.; DEBETS-OSSENKOPP, Y.J.; NORDMANN, P. Characterization of DIM-1, an integron-encoded metallo-beta-lactamase from a *Pseudomonas stutzeri* clinical isolate in the Netherlands. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n.6, p.2420-2424, 2009.

POLLETT, S.; MILLER, S.; HINDLER, J.; USLAN, D.; CARVALHO, M.; HUMPHRIES, R.M. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a health care system in Los Angeles, California, from 2011 to 2013. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, p. 4003–4009, 2014.

PORTO, J.P.; SANTOS, R.O.; GONTIJO-FILHO, P.P.; RIBAS, R.M. Active surveillance to determine the impact of methicillin resistance on mortality in patients with bacteremia and influences of the use of antibiotics on the development of MRSA infection. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 6, p.713-718, 2013.

POTTUMARTHY, S.; MOLAND, E.S.; JERETSCHKO, S.; SWANZY, S.R.; THOMSON, K.S.; FRITSCH, T.R. NmcA carbapenem-hydrolyzing enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, p. 999–1002, 2003.

QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 440–58, 2007.

QURESHI, Z.A.; PATERSON, D.L.; POTOSKI, B.A.; KILAYKO, M.C.; SANDOVSKY, G.; SORDILLO, E.; POLSKY, B.; ADAMS-HADUCH, J.M.; DOI, Y. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiorit of combination antimicrobial regimens. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, p. 2108-2113, 2012.

RASMUSSEN, B.A.; BUSH, K.; KEENEY, D.; YANG, Y.; HARE, R.; O’GARA, C.; MEDEIROS, A.A. Characterization of IMI-1 β -lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, p. 2080–2086, 1996.

ROCHA, L.A.; RIBAS, R.M.; DARINI, A.L.C.; GONTIJO-FILHO, P.P. Relationship between nasal colonization and ventilator-associated pneumonia and the role of the environment in transmission of *Staphylococcus aureus* in intensive care units. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 12, p. 1236-1240, 2013.

RODRIGUES, E.; RICHTMANN, R. **IRAS: Infecção relacionada à assistência à saúde-Orientações Práticas**. São Paulo: Sarvier, 2008.

ROTTIER, W. C.; AMMERLAAN, H.S.M.; BONTEN, M.J.M. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 6, p. 1311–1320, 2012.

RUPPÉ, E.; WOERTHER, P.L.; BARBIER, F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. **Annals of intensive care**, v. 5, n. 1, p. 1-15, 2015.

SABINO, S.S.; FONTES, A.M.S.; GONTIJO-FILHO, P.P.; RIBAS, R.M. Incidência de infecção hospitalar em pacientes internados numa unidade de terapia intensiva clínica cirúrgica de um hospital universitário mineiro: a importância de microrganismos resistentes aos antimicrobianos. In: **XV Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar**, 2015.

SADER, H. S.; BIEDENBACH, D.J.; JONES, R.N. Global patterns of susceptibility for 21 commonly utilized antimicrobial agents tested against 48,440 Enterobacteriaceae in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 47, p. 361-364, 2003.

SADER, H.S.; REIS, A.O.; SILBERT, S.; GALES, A.C. IMPs, VIMs and SPMs: the diversity of metallo- β -lactamases produced by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian hospital. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, p. 73–6, 2005.

SAMONIS, G.; KORBILA, I.P.; MARAKI, S.; MICHAILIDOU, I.; VARDAKAS, K.Z.; KOFTERIDIS, D.; DIMOPOULOU, D.; GKOGKOZOTOU, V.K.; FALAGAS, M.E. Trends of isolation of intrinsically resistant to colistin Enterobacteriaceae and association with colistin use in a tertiary hospital. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 9, p. 1505-1510, 2014.

SANTOS, E.F.; LAURIA-PIRES, L.; PEREIRA, M.G.; SILVA, A.E.; RODRIGUES, I.P.; MAIA, M.O. Use of Antimicrobial Agents in an Intensive Care Unit in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, p. 355-359, 2007.

SATLIN, M.J.; JENKINS, S.G.; WALSH, T.J. The global challenge of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in transplant recipients and patients with hematologic malignancies. **Clinical Infectious Diseases**, p. ciu052, 2014.

SEIBERT, G.; HORNER, R.; MENEGHETTI, B.H.; RIGHI, R.A.; DAL FORNO, N.L.F.; SALLA, A. Nosocomial infections by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (São Paulo)**, v. 12, n. 3, p. 282-286, 2014.

SEKI, M.L.; PEREIRA, O.S.; SOUZA, M.P.A.H.; CONCEIÇÃO M.S.; MARQUES, E.A.; PORTO, C.O.; COLNAGO, E.M.; ALVES, C.F.; GOMES, D.; ASSEF, A, P.; SAMUELSEN, Ø.; ASENSI, M.D. Molecular epidemiology of KPC- 2- producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Brazil: the predominance of sequence type 437. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 70, p. 274-277, 2011.

SEKIGUCHI, J.; MORITA, K.; KITAO, T.; WATANABE, N.; OKAZAKI, M.; MIVOSHI-AKIYAMA, T.; KANAMORI, M.; KIRIKAE, T. KHM-1, a novel plasmid-mediated metallo-beta-lactamase from a *Citrobacter freundii* clinical isolate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.52, n.11, p.4194-4197, 2008.

SHENOY, K.J.; JYOTI, E.K.; RAYIKUMAR, R. Phenotypic identification & molecular detection of *bla*_{NDM-1} gene in multidrug resistant Gram-negative bacilli in a tertiary care centre. **Indian Journal of Medical Research**. v. 139, n. 4, p. 625–631, 2014.

SHORR, A.F.; MPH, M.D.; TABAK, W.P. et al. Healthcare-associated bloodstream infection: A distinct entity? Insights from a large U.S. database. **Critical Care Medicine**, v. 34, n. 10, p. 2588-2595, 2006.

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

SNITKIN, E.S.; ZELAZNY, A.M.; THOMAS, P.J.; STOCK, F.; HENDERSON, D.K.; PALMORE, T.N.; SEGRE, J.A. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 148, p. 148ra116-148ra116, 2012.

STEIN, A.; RAOULT, D. Colistin: an antimicrobial for the 21st century? **Clinical Infectious Diseases**, v.35, n.7, p. 901-902, 2002.

TANG, S.S.; APISARNTHANARAK, A.; HSU, L.Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2014.

TENOVER, F.C; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.; MURRAY, B.E.; PERSING, D.H.; SWAMINATHAN, B. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 33, n. 9, p. 2233–2239, 1995.

TERNENT, L.; DYSON, R.J.; KRACHLER, A.M., JABBARI, S. Bacterial fitness shapes the population dynamics of antibiotic-resistant and-susceptible bacteria in a model of combined antibiotic and anti-virulence treatment. **Journal of Theoretical Biology**, v. 372, p. 1-11, 2015.

TOWNER, K.J.; LEVI, K.; VLASSIADI, M.; Genetic diversity of carbapenem-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v.14, p.161-167, 2008.

TUMBARELLO, M.; VIALE, P.; VISCOLI, C.; TRECARICHI, E.M.; TUMIETTO, F.; MARCHESE, A.; SPANU, T.; AMBRETTI, S.; GINOCCHIO, F.; CRISTINI, F.; LOSITO, A.R.; TEDESCHI, S.; CAUDA, R.; BASSETTI, M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, p. 943–950, 2012.

TUMBARELLO, M.; TRECARICHI, E.M.; DE ROSA, F.G.; GIANNELLA, M., GIACOBBE, D.R.; BASSETTI, M.; LOSITO, A.R.; BARTOLETTI, M.; DEL BONO, V.; CORCIONE, S.; MAIURO, G.; TEDESCHI, S.; CELANI, L. CARDELLINO, C.S.; SPANU, T.; MARCHESE, A.; AMBRETTI, S.; CAUDA, R.; VISCOLI, C.; VIALE, P. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 7, p. 2133-2143, 2015.

TURTON, F.; WARD, M.E.; WOODFORD, N.; KAUFMANN, M.E.; PIKE, R.; LIVERMORE, D.M., PITT, T.L. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 258, n. 1, p. 72-77, 2006.

VAN DUIN, D.; KAYE, K.S.; NEUNER, E.A.; BONOMO, R.A. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a review of treatment and outcomes. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 75, n. 2, p. 115-120, 2013.

VILLEGAS, M. V.; LOLANS, K.; CORREA, A.; SUAREZ, C.J.; LOPEZ, J.A.; VALLEJO, M.; QUINN, J.P.; COLOMBIAN NOSOCOMIAL RESISTANCE STUDY GROUP. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 2880-2882, 2006.

WALSH, T.R.; TOLEMAN, M.A.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 2, p. 306-325, 2005.

WANG, X.; CHEN, G.; WU, X.; WANG, L.; CAI, J.; CHAN, E.W.; CHEN, S.; ZHANG, R. Increased prevalence of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in hospital setting due to cross-species transmission of the *bla*_{NDM-1} element and clonal spread of progenitor resistant strains. **Frontiers in Microbiology**. v. 6, 2015.

WETERINGS, V.; ZHOU, K.; ROSSEN, J.W.; VAN STENIS, D.; THEWESSEN, E.; KLUYTMANS, J.; VEENEMANS, J. An outbreak of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the Netherlands (July to December 2013), with inter-institutional spread. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 34, p. 1647-1655, 2015.

WOODFORD, N.; TURTON, J.F.; LIVERMORE, D.M. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 35, n. 5, p. 736-755, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Guidelines for ATC classification and DDD assignment. 2015. Disponível em: http://www.whocc.no/atc_ddd_publications/guidelines/. Acesso em 14 de agosto de 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide. Disponível em: http://www.who.int/gpsc/country_work/burden_hcai/en/. 2011. Acesso em 14 de agosto de 2015.

XAVIER, D.E.; PICÃO, R.C.; GIRARDELLO, R.; FEHLBERG, L.C.; GALES, A.C. Efflux pumps expression and its association with porin down-regulation and β -lactamase production among *Pseudomonas aeruginosa* causing bloodstream infections in Brazil. **BMC Microbiology**, v. 10, p. 217- 223, 2010.

YAMAMOTO, M.; POP-VICAS, A. Treatment for infections with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: what options do we still have? **Critical Care**, v. 18, p. 229, 2014.

YANG, Y.; WU, P.; LIVERMORE, D.M. Biochemical characterization of a β -lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems for two *Serratia marcescens* isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, p. 755–8, 1990.

YIGIT, H.; QUEENAN, A.M.; ANDERSON, G.J.; DOMENECH-SANCHEZ, A. BIDDLE, 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, p. 1151–61, 2001.

YIGIT, H.; QUEENAN, A.M.; ANDERSON, G.J.; DOMENECH-SANCHEZ, A. BIDDLE, 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, p. 1151–61, 2001.

YONG, D.; BELL, J.; RITCHIE, B.; PRATT, R.; TOLEMAN, M. A.; WALSH, T. R. A novel sub group metallo- β -lactamase (MBL), AIM-1 emerges in *Pseudomonas aeruginosa* (PSA) from Australia, In: **47th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy** (ICAAC), 2007.

YONG, D.; TOLEMAN, M.A.; GISKE, G.C.; CHO, H.S.; SUNDMAN, K.; WALSH, T.R. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla* (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.53, n.12, p. 5046-54, 2009.

ZANKARI, E.; HASMAN, H.; COSENTINO, S.; VESTERGAARD, M.; RASMUSSEN, S.; LUND, O.; AARESTRUP, F.M.; LARSEN, M.V. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 2640–2644, 2012.

ZARKOTOU, O.; POURNARAS, S.; TSELIOTI, P.; DRAGOUMANOS, V.; PITIRIGA, V.; RANELLOU, K.; PREKATES, A.; THEMELI-DIGALAKI, K.; TSAKRIS, A. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 1798–1803, 2011.

ZARRILLI, R.; CRISPINO, M.; BAGATTINI, M.; BARRETTA, E. DI POPOLO, A. TRIASSI, M.; VILLARI, P. Molecular Epidemiology of Sequential Outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit Shows the Emergence of Carbapenem Resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 3, p.946–953, 2004.

ZAVASCKI, A.P.; BARTH, A.L.; GONÇALVES, A.L.S.; MORO, A.L.D.; FERNANDES, J.F.; MARTINS, A.F.; RAMOS, F.; GOLDANI, L.Z. The influence of metallo- β -lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 387-392, 2006.

ZAVASCKI, A.P.; ZOCCOLIC, C.M.; MACHADO, A.B.M.P.; OLIVEIRA, K.R.P.; SUPERTIE, S.V.; PILGERF, D.A.; CANTARELLI, V.V., BARTH, A.L. KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil: A widespread threat in waiting? **International of Journal Medical Microbiology**, v. 14, n. 6, p. 539-540, 2010.

ZHANEL, G.G.; LOW, D.E. Launching of the CAN-R Web site—the official Web site of the Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. **Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, v. 18, p. 151–152, 2007.

ZURAWSKI, R. M. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Occult Threat in the Intensive Care Unit. **Critical Care Nurse**, v. 34, n. 5, p. 44-51, 2014.

APÊNDICE I

FICHA INDIVIDUAL DE VIGILÂNCIA									
Número			Idade		Gênero			Data da Inclusão na Pesquisa	
Data de Admissão Hospitalar			Diagnóstico de Admissão				Data da 1ª cultura positiva		
Unidade de admissão			Enfermarias onde esteve internado				Evolução		
Comorbidades									
História de Hospitalização e/ou Contato com Centros de Saúde, Asilos (12 meses).	DATA		LOCAL		PERÍODO		Motivo		
	DATA		LOCAL		PERÍODO		Motivo		
	DATA		LOCAL		PERÍODO		Motivo		
ANTIBIOTICOTERAPIA									
Antibiótico	Início	Término	Antibiótico	Início	Término	Antibiótico	Início	Término	
Infecções por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos									
Sítio	Data de Isolamento	LOCAL	Fenótipo	Sítio	Data de Isolamento	LOCAL	Fenótipo		
Cirurgia	DATA	DISPOSITIVOS INVASIVOS							
		() CVC	() VM	() SV	() SNE/SNG	() NPT	ANOTAÇÕES:		


APÊNDICE II

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA





DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Mecanismos de resistência aos antibióticos em microrganismos da família Enterobacteriaceae com susceptibilidade diminuída aos carbapenêmicos e sua disseminação através de clones epidêmicos de alto risco
Pesquisador Responsável: Paulo Pinto Gontijo Filho
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 44734115.2.0000.5152
Submetido em: 13/07/2015
Instituição Proponente: Instituto de Ciências Biomédicas
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_490839

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

Tipo de Documento ^	Situação ^	Arquivo ^	Posto
Informações Básicas do Projeto	Aceito	 PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_490839.pdf	13/07 13:17
Informações Básicas do Projeto	Aceito	 PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_490839.pdf	06/04 20:26
Informações Básicas do Projeto	Aceito	 PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_490839.pdf	07/05 09:37
Informações Básicas do Projeto	Aceito	 PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_490839.pdf	01/05 10:24

LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

Apreciação ^	Pesquisador Responsável ^	Versão ^	Submissão ^	Modificação ^	Situação ^	Exclusiva do Centro Coord. ^	Ações
PO	Paulo Pinto Gontijo Filho	2	13/07/2015	03/09/2015	Aprovado	Não	