

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE FENOTÍPICA DE ENZIMAS β -LACTAMASES EM

Pseudomonas aeruginosa

Débora Carla Teixeira Rodrigues

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG

Outubro – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE FENOTÍPICA DE ENZIMAS β -LACTAMASES EM

Pseudomonas aeruginosa

Débora Carla Teixeira Rodrigues

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges
Instituto de Ciências Biomédicas
Orientadora

Monografia apresentada à Coordenação
do curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Licenciatura em
Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG

Outubro – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE FENOTÍPICA DE ENZIMAS β -LACTAMASES EM

Pseudomonas aeruginosa

Débora Carla Teixeira Rodrigues

Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges
Instituto de Ciências Biomédicas
Orientadora

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em / / 2017.

Prof. Dra. Celine de Melo
Instituto de Biologia
Coordenador (a) do Curso

Uberlândia - MG

Outubro – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE FENOTÍPICA DE ENZIMAS β -LACTAMASES EM
Pseudomonas aeruginosa

Débora Carla Teixeira Rodrigues

Aprovado pela banca Examinadora em: 28 / 07 / 2017 Nota: 90 pontos

Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 28 de julho de 2017.

"Determinação coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho."

Dalai Lama

**“Dedico este trabalho a Deus, que nos criou
e foi criativo nesta tarefa, a minha família
que sempre me apoio em todos os momentos
ao meu namorado e ao meu maior presente
que esta por vir”.**

Agradecimentos

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial à Profa. Dr. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges por toda sua paciência e compreensão, uma das responsáveis pela realização deste trabalho.

Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus pais amados (Rosângela e Elias), a minha vó (Maria e Judite) aos meus irmãos (Felipe e Denise) ao meu querido e companheiro cachorro (Billy) e a todos que me deram apoio nos meus momentos de mais indecisão e medo.

E o que dizer de você MATHEUS! Obrigado por existir e fazer parte da minha vida, por está presente nos momentos mais difíceis por me apoiar, por enxugar minhas lágrimas e por me buscar todos os dias na faculdade, você foi imprescindível para esta etapa final em minha vida.

Valeu apenas toda a distância e o sofrimento, as renúncias... Os domingos sem ti ver... Hoje estamos colhendo junto o fruto do nosso empenho e iremos construir a nossa família.

Aos meus amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constante. A todos os funcionários do laboratório de Microbiologia, principalmente a Claudete de Freitas que me auxiliou muito, aos estagiários (Thauanny) que me auxiliaram no desenvolvimento da minha pesquisa, obrigado a todos pelo convívio e amizade.

A todos aqueles que estiveram e estão próximos a mim, fazendo a minha vida valer cada vez mais a pena. Agradeço também a toda equipe do Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, por ceder as amostras para avaliação.

Agradeço aos integrantes da minha banca por aceitarem participar da minha defesa e pelo muito que vão acrescentar ao meu trabalho e colaborar com o meu desenvolvimento.

Muito Obrigado!

RESUMO

A resistência aos antimicrobianos em *Pseudomonas aeruginosa* está principalmente associada à produção de enzimas pertencentes ao diversificado grupo das β -lactamases. Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos bem como a produção de β -lactamases por meio de testes fenotípicos, realizados em 44 amostras de *P. aeruginosa*, resistentes aos carbapenêmicos, recuperadas de pacientes internados no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia. Obteve-se que 2,3% dos isolados expressavam enzimas do tipo AmpC, 14% ESBL, 13% metalo- β -lactamases, com produção concomitante de AmpC, ESBL e metalo- β -lactamase em 27,3% dos isolados. Sendo todas classificadas ora como multirresistentes (MDR) (36,4%), extensivamente resistentes (XDR) (59,1%), pan-resistente (PDR) (2,3%) e sensível a diversos antimicrobianos. A ocorrência de infecções por *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos foi diversa considerando a idade e o local de internação, mas com proporção de resistência dentro e fora das UTIs igual para todos, inclusive os antimicrobianos. A presença de bactérias multirresistentes é um problema grave, tanto pela morbidade e mortalidade associadas, diminuição no tratamento e disseminação hospitalar.

Palavras-chaves: Infecção hospitalar, *Pseudomonas aeruginosa*, β -lactamases.

Sumário

1.	Introdução.....	2
2.1	Objetivo Geral	8
2.2	Objetivos Específicos	8
3.	Metodologia	9
3.1	Desenho do estudo.....	9
3.2	Reativação das Amostras.....	9
3.2.1	Armazenamento das amostras.....	9
3.2.2	Descongelamento	9
3.3	Antibiograma	10
3.4	Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos através do método de disco-difusão.....	Erro! Indicador não definido.
3.4.1	ESBL.....	10
3.4.2	AmpC	11
3.4.3	Teste do Duplo-Disco.....	11
3.5	Análise de dados.....	11
4.	Comitê de Ética	12
5.	Resultados	13
6.	Discussão.....	18
7.	Conclusão.....	23
8.	Referências bibliográficas	24
	ANEXO.....	28

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Distribuição do perfil das amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , quanto os dados demográficos dos pacientes e distribuição das infecções.....	12
Tabela 2 - Perfil de resistência das 44 amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , frente às classes e drogas de antimicrobianos.....	13
Tabela-3 Relação entre as amostras de <i>P.aeruginosa</i> MDR e XDR e sua distribuição espacial no Hospital e maternidade Municipal de Uberlândia, na cidade de Uberlândia, Minas Gerais.	14
Tabela 4 – Perfil de resistência das amostras de <i>P. aeruginosa</i> produtoras de β -lactamases.....	15

1. Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam uma grande preocupação das agências de vigilância e dos comitês de controle de infecção hospitalar, devido ao elevado índice de morbimortalidade aos usuários do sistema de saúde, principalmente em unidades de terapia intensiva (UTI) (MACHADO et al., 2011). Apesar dos esforços para melhorar os métodos de prevenção e de controle, a sua prevalência permanece elevada, constantemente associada a bactérias multirresistentes tais como *Pseudomonas aeruginosa* (WILLIAMS et al., 1999).

Os bacilos Gram negativos não fermentadores da glicose (BGN-NF) são de ampla distribuição na natureza e no ambiente hospitalar, porque apresentam tolerância a condições físicas variadas (umidade, temperatura e pH) e podem colonizar transitoriamente a pele de seres humanos saudáveis e outros sítios úmidos do corpo, incluindo orofaringe, mucosa nasal, axilas e períneo (FIGUEIREDO et al., 2009). *Pseudomonas aeruginosa* é um dos BGN-NF mais importante, pois apresenta elevada taxa de resistência e conseqüentemente, são escassas as opções terapêuticas, para tratamento de infecções graves causadas por esse microrganismo (GALES et al., 2009). Ao longo dos anos, estes patógenos têm adquirido diversos mecanismos de resistência aos antimicrobianos e desinfetantes e, portanto são consideradas bactérias respostáveis por elevadas taxas de mortalidade assim como difícil controle no ambiente hospitalar (PELEG et al., 2008). Frequentemente tem sido associadas às infecções polimicrobianas, com outras bactérias Gram negativas ou anaeróbias estritas (ZAVASCKI et al., 2005).

O desenvolvimento do quadro infeccioso em ambiente hospitalar depende de fatores tanto relacionados ao paciente quanto ao patógeno, incluindo longo tempo de permanência

nas unidades hospitalares, exposição a procedimentos invasivos como ventilação mecânica, cateter arterial e venoso, cirurgias, quimioterápicos em pacientes transplantados, além do uso de antibióticos de forma inapropriada (MACHADO et al., 2011).

Estudos de vigilância com abrangência em todo o território brasileiro revelaram que os microrganismos Gram negativos são os patógenos mais frequentemente associados às infecções da corrente sanguínea, do que Gram positivos (58,5% e 35,4%, respectivamente), sendo a *P. aeruginosa* responsável por 8,9% dessas infecções e com taxa de mortalidade de 61,5% (WILLIAMS et al., 1999).

A *P. aeruginosa* é uma causa frequente de infecções de pele, como foliculite e canal auditivo (ouvido), e é encontrada comumente em unidade de queimados e de terapia intensiva (GONÇALVES et al., 2009). Além disto, está associada à pneumonia, tendo como principais fatores de risco a idade avançada, uso de ventilação mecânica e traqueostomia (ANDRADE et al., 2006). Entre os antimicrobianos usados para o tratamento das infecções por *P. aeruginosa* estão penicilinas (piperacilina), cefalosporinas (ceftazidima, cefepima), carbapenêmicos (imipenem, meropenem), monobactâmicos (aztreonam), aminoglicosídeos (gentamicina, tobramicina, ampicacina) e fluoroquinolonas (ciprofloxacina) (PEREIRA et al., 2005).

Diferentes tipos de β -lactamases são classificados em dois esquemas principais o Bush-Jacoby-Medeiros (BUSH et al., 1995; BUSH-JACOBY, 2010 e Ambler (AMBLER et al., 1980; DALMARCO, BLATT, CÓRDOVA; 2006). De acordo com a classificação de Ambler as classes A, B, C e D, agem por um mecanismo baseado em resíduo de serina para inativação da droga, enquanto as da classe B ou metalo- β -lactamases (MBLs) requerem zinco para sua atividade catalítica, e operam através de um mecanismo completamente diferente (AMBLER et al., 2001). As β -lactamases de origem cromossômica são universais em algumas espécies bacterianas, enquanto que, as de origem plasmidial são variáveis, permitindo que esses elementos sejam transferidos entre espécies (AMBLER et al., 1980).

Com o surgimento dos carbapenêmicos como escolha terapêutica empírica no tratamento de infecções graves por *P. aeruginosa*, o uso desta classe tem sido ameaçado pelo aumento da incidência de β -lactamases que podem hidrolisar estes antimicrobianos, e pela disseminação de clones multirresistentes (GALES et al., 2003). Alterações de proteínas de membrana externa (porinas), hiperexpressão de bombas de efluxo, alteração nas proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) e produção de β -lactamases, que são mecanismos que podem estar relacionados à resistência aos β -lactâmicos em *P. aeruginosa* (ANDRADE et al., 2011).

Cepas produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) frequentemente apresentam resistência aos antimicrobianos de importância clínica, como penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos e quinolonas (BRADFORD, 2001; SPANU et al., 2002). Os principais produtores desta enzima são: *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (CASSETTARI et al., 2006) e o principal forma de transmissão são as mãos dos profissionais de saúde, entre pacientes e o profissional de saúde e o meio ambiente, sendo o principal reservatório o trato intestinal (HOSOGLU et al., 2007). As ESBLs são enzimas transmitidas ou codificadas por plasmídeos, como as famílias: Temoniera (TEM), Sulfidril variável (SHV) e Oxacilinase (OXA), variantes mais isoladas, apesar do surgimento de outros tipos (SIROT et al., 1987). Como resultados mais de 370 variantes naturais de ESBLs diferentes já são conhecidos (STÜRENBURG et al., 2005).

As β -lactamases tipo AmpC são enzimas produzidas por genes de localização cromossômica ou plasmidial e conferem resistência às cefalosporinas de terceira geração, como cefotaxima, ceftazidima e ceftriaxona e aos inibidores das β -lactamases (NORDAMNN et al., 2007). Cepas produtoras de AmpC são normalmente multirresistentes e encontram-se disseminadas dentro do ambiente hospitalar e na comunidade através de transmissão horizontal (HANSON et al., 2008). A dificuldade de detecção fenotípica das cepas produtoras de AmpC impede a estimativa da prevalência destas enzimas, sendo uma barreira

para o controle da sua disseminação (DIAS et al., 2008). Assim, a investigação molecular da produção de AmpC plasmidial é um importante instrumento para se conhecer a diversidade dos mecanismos de resistência apresentados (THOMSON et al., 2001).

As MBLs são β -lactamases pertencentes à classe B de Ambler ou à classe 3 de Bush-Jacoby-Medeiros hidrolisam todos os β -lactâmicos comercialmente disponíveis, sendo a única exceção o monobactam e aztreonam (BUSH et al 1998). Essas enzimas caracterizam-se por necessitarem de dois íons divalentes, usualmente zinco, como co-fator para atividade catalítica, por terem a mesma estrutura tridimensional e por apresentarem resíduos conservados, os quais são responsáveis pela interação da enzima com cátions divalentes. Atualmente são conhecidas 9 subclasses de MBL adquiridas: sendo as enzimas principais IMP, VIM, SPM, GIM, AIM, KHM, DIM, TBM e NDM.

Diferente de outros países cujas MBLs predominantes são IMP e VIM, no Brasil a enzima mais prevalente é a SPM-1 (São Paulo metalo- β -lactamase) (PICOLE et al., 2008), cuja a disseminação epidêmica foi evidenciada por Gales et al. (2003), que identificou genes *bla*_{SPM-1} em isolados de *P. aeruginosa* provenientes de municípios de diferentes regiões do país. Até recentemente a enzima SPM-1 só havia sido encontrada em *P. aeruginosa* e parecia estar restrita ao Brasil, entretanto em 2010, foi publicado o primeiro relato de infecção causada por *P. aeruginosa* SPM-1, isolada em 2007 de um paciente suíço quem havia recebido atendimento em um hospital universitário de Recife (SALABI et al., 2010).

Há também outro subgrupo em particular de β -lactamase do tipo carbapenemase, as metalo- β -lactamases (Classe B), produzidas principalmente por *Pseudomonas aeruginosa*, que conferem resistência aos carbapenêmicos (imipenem e meropenem), os quais constituem as principais drogas para o tratamento de Gram negativos multirresistentes (MASUDA et al., 1992). Em isolados de *P. aeruginosa* produtores de MBL no Brasil, tem sido relatada a presença de IMP e VIM, porém o principal problema se concentra em isolados produtores de

enzimas SPM-1, que parecem ser endêmicos e responsáveis por altos índices de mortalidade (FILHO et al., 2002).

As cepas bacterianas que produzem as enzimas do tipo KPC/ESBL da classe A de Ambler e 2b de Bush-Jacob-Medeiros são resistentes à amoxicilina e à ticarcilina e apresentam susceptibilidade reduzida a piperacilina. Essas enzimas são inibidas por outros β -lactâmicos denominados de inibidores de β -lactamase como sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico. Assim, as cepas que as produzem são sensíveis às associações dos β -lactâmicos mais inibidores de β -lactamases (LIVERMORE et al., 1991).

A primeira classe de largo espectro a ser identificada das β -lactamases (ESBLs), ocorreu na Europa em 1980, com a capacidade de hidrolisar e causar resistência às penicilinas, às cefalosporinas (cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima, cefepime e cefpiroma) e monobactâmicos (aztreonam). Não são ativas contra as cefamicinas (cefotetan e cefoxitina), aos inibidores das β -lactamases e carbapenêmicos. Essas enzimas são mediadas por genes de plasmídios e são derivadas das enzimas TEM-1, TEM-2, SHV-1, PER-1 e VEB-1 (LOPES et al., 2011). A existência de *P. aeruginosa* produtora de ESBL representa um grande desafio na prática clínica (PICAO et al., 2007). Paralelamente, a utilização de imipenem ou meropenem para o tratamento de infecções causadas por *P. aeruginosa* produtoras de ESBL pode estimular a seleção de amostras que apresentem alto grau de resistência a essas drogas, favorecendo assim o surgimento de cepas multirresistentes. Por último, os testes disponíveis para detectar a produção de ESBL no laboratório clínico não apresentam alta eficácia quando aplicados a *P. aeruginosa* (GALES et al., 2007).

Há também as β -lactamases conhecidas como cefalosporinases cromossômicas ou AmpC, que são enzimas codificadas por genes de origem cromossômica ou plasmidial. As AmpC mediadas por plasmídeos são derivadas das enzimas *bla*_{CMY}, *bla*_{MIR}, *bla*_{MOX}, *bla*_{LAT}, *bla*_{FOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{ACT}, *bla*_{ACC} e *bla*_{CFE}. Essas β -lactamases são capazes de hidrolisar

penicilinas, monobactâmicos e cefalosporinas de até 3^o geração, inclusive cefamicinas, sendo que a resistência à cefoxitina é o principal marcador da expressão de AmpC (JACOBY et al., 1991).

As β -lactamases da classe C são produzidas por vários membros da família Enterobacteriaceae, incluindo as espécies *Enterobacter*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, assim como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* produzindo cefalosporinases, que se manifesta de maneira constitutiva, em níveis baixos e não apresenta ação contra os outros antibióticos β -lactâmicos (NORMARK et al., 1986).

Outras β -lactamases com efeito nos carbapenêmicos são codificadas por genes de origem cromossômica ou plasmidial. As carbapenemases de origem cromossômica são derivadas de genes SME, NMC e IMI e descritas nas espécies *Serratia marcescens* e *Enterobacter cloacae*. Já as carbapenemases de origem plasmidial são derivadas dos genes KPC e GES e descritas na espécie *Klebsiella pneumoniae*, mas também são encontradas em outras espécies da família Enterobacteriaceae, além de BGN-NF, como *P. aeruginosa* (QUINN et al., 1988).

Sabe-se que há um aumento do número de relatos de linhagens produtoras de β -lactamases e a disseminação de genes de resistência, em uma ampla variedade de microrganismos, em diferentes regiões geográficas (BERTONCHELI et al., 2008). Isto torna importante a detecção dessas enzimas, para que medidas de controle de infecção hospitalar possam ser implementadas (BERTONCHELI et al., 2008).

Dessa forma a análise das principais enzimas que tem interferido progressivamente no perfil de resistência aos antibióticos mais usados na prática clínica e para tratamento de infecções por *P. aeruginosa*, comparados com os fatores que contribuem para a sua alta prevalência, tem como propósito melhorar o direcionamento da terapia empírica, diminuindo a seleção e disseminação de patógenos multirresistentes.

2. Objetivos

2.1 *Objetivo Geral*

Avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos em *P. aeruginosa* bem como a expressão de β -lactamases, com base em testes fenótipos.

2.2 *Objetivos Específicos*

Avaliar a ocorrência de infecções por *P. aeruginosa* em pacientes de UTI e não-UTI, bem como o perfil de resistência;

Classificar as amostras em multirresistente (MDR), extensivamente resistente (XDR) e pan-resistente (PDR) aos antimicrobianos;

Detectar a presença dos seguintes fenótipos de resistência: ESBL (β -lactamase de espectro ampliado), pelo método de disco de aproximação, AmpC induzido, pelo teste “D” e metalo- β -lactamases, pelo teste de duplo disco.

3. Metodologia

3.1 *Desenho do estudo*

Foi realizado um estudo retrospectivo transversal por meio de um levantamento de 44 amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes aos carbapenêmicos, no período de agosto de 2013 a agosto de 2015, isolados em infecções de corrente sanguínea e pneumonia.

Foram utilizadas as definições segundo Magiorakos et al. (2012) como:

MDR: (Multi/droga/ resistente) resistente a mais ou menos e igual a um agente em três ou mais categorias antimicrobianas;

XDR: (Extensivamente resistente) resistente a um ou mais agentes em todos, exceto duas ou menos categorias;

PDR: (Pan- Resistente) resistente a todos os agentes antimicrobianos.

3.2 *Reativação das Amostras*

3.2.1 Armazenamento das amostras

As amostras foram estocadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI), acrescido de 15% de glicerol em freezer a -20°C, no Laboratório de Bacteriologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia.

3.2.2 Descongelamento

Todas as amostras selecionadas foram reativadas por esgotamento por estria em Agar *Pseudomonas*, incubadas à 37°C por 24 horas, para obtenção de colônias isoladas.

3.3 *Antibiograma*

As amostras foram submetidas a testes de susceptibilidade aos antimicrobianos pelos métodos de disco-difusão (Kirby- Bauer), concentração inibitória mínima (CIM) ou os mais recentes por Espectrometria de massa (Maldi-Tof®) para os seguintes antimicrobianos: Amicacina, Ampicilina-Sulbactam, Aztreonam, Cefepime, Levofloxacina, Ceftazidima, Ciprofloxacina, Gentamicina, Piperacilina-Tazobactam, Tobramicina, Tetraciclina, Ceftriaxona, Imipenem, Meropenem, e Polimixina B. Todos os testes foram realizados pelo laboratório credenciado ao hospital e os resultados recuperados para este estudo.

3.4 *Preparo do inóculo*

As suspensões bacterianas preparadas em solução salina a 0,85% e ajustadas á escala 0,5 de McFarland foram semeadas na superfície de Ágar Mueller Hinton, com o auxílio de um swab estéril. Após este procedimento, quando a superfície do ágar estivesse seca, discos de antimicrobiano foram dispensados sobre a superfície, com o auxílio de uma pinça estéril, fazendo uma leve pressão sobre os mesmos para fixá-los ao meio, como recomendadas pelo CLSI (2014).

3.4.1 ESBL

A produção de ESBL foi avaliada pelas técnicas fenotípicas de duplo difusão ou disco-aproximação, por meio da utilização dos seguintes discos ceftazidima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), aztreonam (10 µg), cefepime (30 µg) e amoxicilina com ácido clavulânico (10/100 µg), este no centro da placa e distante a 20 mm (de centro a centro) dos demais antibióticos, incubados a 37°C por até 24 horas o aumento do diâmetro do halo de inibição ou o

aparecimento da zona fantasma, distorção do halo ao redor do disco do β -lactâmico combinado, demonstrando sinergismo, indica a presença de uma amostra produtora de ESBL (NEVES et al., 2011).

3.4.2 AmpC

A detecção de β -lactamases do tipo AmpC, foi realizada por meio do teste D, onde foram utilizados discos de ceftazidima (30 μ g), cefoxitina (30 μ g) e ceftriaxona (30 μ g), dispostos nesta ordem e equidistantes 20 mm (de centro a centro) de cada antibiótico, incubado à 37°C por até 24 horas. Sendo caracterizada presença de um antagonismo entre o indutor (cefotaxima) e um dos substratos caracterizando a forma de um D, como teste positivo (ANDRADE et al., 2007).

3.4.3 Teste do Duplo-Disco

A suspensão da bactéria foi inoculada sobre a superfície de placas de Ágar Muller-Hinton, com auxílio de swab estéril e então colocado um disco branco inoculado com 5 μ l de solução de EDTA 0,5 M, posicionado a uma distância de 10 mm do disco de ceftazidima e imipenem, e então incubado por 24 horas a 37°C (NEVES et al., 2011).

O resultado foi considerado positivo para presença metalo- β -lactamases (MBL) quando observada distorção e ou/ aumento no halo de inibição do antimicrobiano onde houver a difusão do agente quelante (EDTA) (NEVES et al., 2011).

3.5 *Análise de dados*

As análises foram realizadas por tabulação dos dados e testes de sensibilidade em uma planilha do Excel (Microsoft[®]). Foram realizados os testes estatísticos de Qui-quadrado (Tabela 2x2) ou Exato de Fisher, quando o n foi igual ou menor que 5, considerando o intervalo de confiança de 95% e $P \leq 0,05$, utilizando o programa BioEstat 5.3.

4. Comitê de Ética

Este estudo faz parte de um estudo maior que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Uberlândia, sob o registro número 463.877 de 2013 (ANEXO I).

5. Resultados

Foram recuperadas um total de 44 amostras clínicas de *P. aeruginosa*, sendo 30 de pacientes internados nas UTIs e 14 pacientes de outras unidades não de terapia intensiva.

P. aeruginosa foi causador de infecções em 50% dos pacientes de ambos os sexos feminino e masculino, destacando a idade entre 51 e 75 anos (52,3%). A maioria das infecções ocorreu no ano de 2013 (63,6%) predominando as pneumonias (72,7%).

A ocorrência de infecção em indivíduos menores de 25 anos foi maior fora da UTI ($P=0,0027$), porém, entre idade de 51 a 75 anos a ocorrência foi maior dentro das UTIs ($P=0,0088$). Como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição do perfil das amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, quanto os dados demográficos dos pacientes e distribuição das infecções.

Variáveis	UTI	Não UTI	P	Total
	N = 30 (%)	N = 14 (%)	(IC 95%)	N = 44 (%)
Sexo				
F	16 (53,3)	6 (42,9)	0,51	22 (50,0)
M	14 (46,7)	8 (57,1)	0,51	22 (50,0)
Idade				
0 – 25 anos	0 (0,0)	3 (21,4)	0,027*	3 (6,8)
26 – 50 anos	4 (13,3)	2 (14,3)	1,000	6 (13,6)
51 – 75 anos	20 (66,7)	3 (21,4)	0,0088*	23 (52,3)
≥ 76 anos	6 (20,0)	6 (42,9)	0,11	12 (27,3)
2013	18 (60,0)	10 (71,4)	0,46	28 (63,6)
2014	9 (30,0)	3 (21,4)	0,55	12 (27,3)
2015	3 (10,0)	1 (7,1)	0,75	4 (9,1)
Sítio/infecção				
Sangue	10 (33,3)	2 (14,3)	0,18	12 (27,3)
Pulmão	20 (66,7)	12 (85,7)	0,18	32 (72,7)

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; F: Feminino; M: Masculino; IC: Intervalo de confiança; *: estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$).

Quando avaliado o perfil de resistência das amostras de *P. aeruginosa*, destaca-se a resistência à levofloxacina em 91%, ciprofloxacina de 88,6%, gentamicina de 81,8%, Piperacilina associado à Tazobactam e cefepime, com 75% cada. A resistência aos carbapenêmicos foi de 100%, mas era critério de inclusão das amostras. A proporção de

resistência dentro e fora da UTI foi igual para todos os antimicrobianos e classes ($P>0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2- Perfil de resistência das 44 amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, frente às classes e drogas de antimicrobianos.

Antimicrobiano	UTI	Não UTI	P	Total
	N= 30 (%)	N= 14 (%)	IC (95%)	N= 44 (%)
Cefalosporinas (betalactâmicos)	24 (80,0)	11 (78,6)	0,91	35 (79,5)
Cefepime	23 (76,7)	10 (71,4)	0,70	33 (75,0)
Ceftazidima	19 (63,3)	10 (71,4)	0,59	29 (65,9)
Betalactâmicos + inibidor	25 (83,3)	11 (78,6)	0,70	36 (83,7)
Piperacilina + Tazobactam	23 (76,7)	10 (71,4)	0,70	33 (75,0)
Ticarcilina + Ác. Clavulânico	24 (82,8)	10 (71,4)	0,39	34 (79,1)
Carbapenens (betalactâmicos)	30 (100,0)	14 (100,0)	-	44 (100,0)
Imipenem	29 (96,7)	14 (100,0)	0,48	34 (97,7)
Meropenem	29 (96,7)	14 (100,0)	0,48	34 (97,7)
Monobactâmicos (Aztreonam)	21 (70,0)	11 (78,6)	0,55	32 (72,7)
Aminoglicosídeos	24 (80,0)	12 (85,7)	0,64	36 (81,8)
Amicacina	12 (40,0)	6 (42,9)	0,85	18 (40,9)
Gentamicina	24 (82,8)	12 (85,7)	0,64	36 (81,8)
Fluorquinolonas	28 (96,6)	12 (85,7)	0,41	41 (93,3)
Ciprofloxacina	27 (90,0)	12 (85,7)	0,67	39 (88,6)
Levofloxacina	24 (82,8)	13 (92,9)	0,97	40 (91,0)
Polimixina B	0 (0,0)	1 (7,1)	0,13	1 (2,3)

UTI: Unidade de terapia intensiva; IC: Intervalo de confiança.

As amostras foram classificadas em multirresistentes (36,4%) e extensivamente resistentes em (59,1%), com 2,3% sensíveis a quase todas as classes. Para as amostras das UTIs encontrou-se 60,0% de XDR, enquanto fora delas os MDR em 36,4%, como observado na Tabela 3. A proporção de MDR e XDR foi à mesma dentro e fora da UTI (P=0,61) e apenas uma amostra tinha o perfil de ser PDR (pan-resistente).

Tabela 3- Relação entre as amostras de *P.aeruginosa* MDR e XDR e sua distribuição espacial no Hospital e maternidade Municipal de Uberlândia, na cidade de Uberlândia, Minas Gerais.

Variáveis	UTI	Não UTI	P	Total
	N = 30 (%)	N = 14 (%)	(IC 95%)	N = 44 (%)
MDR	12 (40,0)	4 (28,6)	0,61	16 (36,4)
XDR	18 (60,0)	8 (57,1)	0,85	26 (59,1)
Sensível	0 (00,0)	1 (7,1)	0,13	1 (2,3)
PDR	0 (00,0)	1(7,1)	0,13	1 (2,3)

UTI: Unidade de terapia intensiva; IC: Intervalo de confiança; XDR: Extensivamente resistente; MDR: Multirresistente; PDR: Pan- resistente.

Encontramos em 2,3% dos isolados de *P. aeruginosa* o mecanismo de AmpC, 13,6% de ESBL e 13,4% de Metallo- β -lactamase. A análise dos dados não demonstrou diferença na prevalência de infecções por *P. aeruginosa* se compararmos os resultados da UTI e Não UTIs, sendo a ocorrência de MBL+ ESBL em 25,0% e MBL+ AmpC em 13,6%. Os três perfis em uma mesma amostra, ocorreu em 27,3% e nenhum destes perfis fenotípicos na maioria das amostras (79,5%), como mostrado na tabela 4.

Tabela 4 – Perfil de resistência das amostras de *P. aeruginosa* produtoras de β -lactamases.

Produção de enzimas (β-lactamases)	UTI N = 30 (%)	Não UTI N = 14 (%)	P (IC 95%)	Total N = 44 (%)
AmpC	1 (3,3)	0 (0,0)	0,48	1 (2,3)
ESBL	4 (13,3)	2 (14,3)	0,93	6 (13,6)
MBL	3 (10,0)	2 (14,3)	0,67	5 (13,4)
AmpC+ESBL	5 (16,7)	2 (14,3)	0,84	7 (15,9)
AmpC+MBL	4 (13,3)	2 (14,3)	0,93	6 (13,6)
ESBL+MBL	7 (23,3)	4 (13,3)	0,70	11 (25,0)
AmpC + ESBL + MBL	8 (26,7)	4 (28,6)	0,89	12 (27,3)
nenhuma das três	25 (83,3)	10 (71,4)	0,36	35 (79,5)

UTI: Unidade de terapia intensiva; IC: Intervalo de confiança; ESBL: β -lactamase de espectro estendido; AmpC: β -lactamase AmpC; MBL: metalo- β -lactamase.

6. Discussão

No Brasil, a Portaria N°2.616/1998 do Ministério da Saúde considera as IRAS como um risco significativo à saúde dos usuários dos serviços hospitalares, definindo-as como qualquer infecção adquirida após a admissão do paciente no serviço de saúde, manifestadas após admissão, ou quando relacionada a procedimentos invasivos (BRASIL, 1998).

Um estudo realizado em hospitais da Bélgica, em pacientes com IRAS, revelou que o maior foco de infecção comumente era o trato respiratório, seguido pela infecção da corrente sanguínea (VICENT et al., 2003). Porém também são relatados casos de infecções do trato urinário, meningites, infecções de feridas cirúrgicas, epidermites, endocardites e celulites (ERBAY et al., 2003). Assemelhando-se a outro estudo, a pneumonia predominou, com taxa de 29%, seguida de 27% da infecção de corrente sanguínea, 17% do trato urinário, 11% relacionados aos uso de cateter central e 9% de sítio cirúrgico (BRADFORD et al., 2001). Neste estudo também revelaram dados de episódios de infecções do trato respiratório, como as mais predominantes em 73%, e as infecções de corrente sanguínea responderam a 28%.

A infecção respiratória é ocasionada, principalmente, devido à imunossupressão do paciente, inoculação do patógeno no trato respiratório ou à alta virulência do microrganismo (SNYDER et al., 2007). É considerada a principal causa de óbitos, variando entre 20% a 70%, sendo a mortalidade menor nos casos de bactérias sensíveis aos medicamentos e associada ao pior prognóstico quando causado por *P. aeruginosa* (RODRIGUES et al., 2010).

Dados da literatura demonstram que a idade dos pacientes de 56 a 97 anos coincide com uma maior prevalência de infecções hospitalares (BLOT et al., 2002). No presente estudo, houve maior prevalência de indivíduos infectados por *P. aeruginosa* com idade de 0 a 25 anos, nas enfermarias ou ambulatórios ($P=0,027$), porém a maior prevalência de infecções nas UTIs foram em pacientes de idade avançada ($P=0,0086$).

O perfil de infecções que ocorre em UTI se diferencia das que ocorrem em outros setores, não somente devido à frequência e sítio de infecção, como também pelos microrganismos envolvidos. O hospital estudado conta com 258 leitos, entre os quais 45 são de tratamento intensivo, e apresentou maior número de amostras com perfil XDR (60%).

Neste estudo encontrou-se taxas de resistência entre isolados de *P. aeruginosa* acima de 80% para cefalosporinas de 3ª e 4ª geração e fluorquinolonas, taxas maiores do que as relatadas por Caselli e colaboradores (2010), demonstraram frequências de resistência de 18% para fluorquinolonas e aproximadamente 30% para as cefalosporinas de 3ª e 4ª geração. Já os β-lactâmicos associado a inibidor e aminoglicosídeos apresentaram taxas ainda mais elevadas. Dantas (2011) mostrou que isolados de *P. aeruginosa* foram resistentes a ceftadizima e/ou carbapenêmicos em 59,6% e esses apresentaram altas taxas de resistência ao aztreonam, cefepime, gentamicina e fluorquinolonas. No entanto apenas 18% dos microrganismos foram resistentes a amicacina e não houve resistência a Polimixina B.

As polimixinas são antibióticos polipeptídicos com potente ação sobre várias bactérias Gram negativas. O seu uso foi praticamente abandonado entre 1970 e 1980, em virtude do aparecimento de drogas com menor toxicidade, pois o seu principal efeito adverso é a nefrotoxicidade, e com a ausência de novos antimicrobianos para combater esses patógenos, renovou-se o interesse pelas mesmas nos últimos anos. Atualmente, somente as polimixinas B e E são usadas na prática clínica, a última conhecida como colistina com menor nefrotoxicidade, sendo um dos compostos mais estudados e utilizados (MENDES et al., 2009). No presente estudo, surpreendentemente encontrou-se resistência à Polimixina B em 2,3% na mesma cidade e anos depois do estudo de Dantas (2011).

O conhecimento do perfil de resistência aos antimicrobianos das bactérias, de um hospital é essencial para orientar o tratamento adequado aos pacientes. Isso é especialmente importante para os mais graves, já que o tratamento normalmente é instituído antes do

resultado das culturas (MEYER et al., 2011). *P. aeruginosa* é considerada um dos patógenos mais problemáticos entre as bactérias Gram negativas causadoras de infecções hospitalares, principalmente por sua extraordinária capacidade de aquisição, emergência e disseminação de resistência (LIVERMORE et al., 1991).

Atualmente, as principais β -lactamases de interesse clínico são as de espectro estendido (ESBL), metalo- β -lactamase (MBL) e β -lactamases de classe C (AmpC) (MEYER et al., 2011). Tem sido descrito a presença de um grupo particular de β -lactamases com um largo espectro de atividade, estas enzimas pertencem à classe B de Ambler, que são codificadas por genes plasmidiais sendo conhecidas como metalo- β -lactamase (MBL) por fazerem parte de um único grupo entre as β -lactamases que necessitam de cátions divalentes (Zn^{2+}) no seu sítio ativo, para servirem como cofatores enzimáticos no mecanismo de inibição destes antibióticos (JACOBY et al., 2005). A produção de metalo- β -lactamase é o principal mecanismo de resistência encontrado em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* (CIPRIANO et al., 2007). Nossos dados mostram a produção desta enzima em 13% desses isolados.

Dados do SENTRY apontam resistência elevada e crescente aos carbapenêmicos entre algumas amostras de *P. aeruginosa* de sangue em hospitais da América Latina, incluindo o Brasil, relatando taxas no ano de 1997 de 23% e 17% para imipenem e meropenem, respectivamente (GALES et al., 2012). Há estudos que relatam que o fenótipo de resistência é justificado pela presença de um ou mais genes de resistência a outras classes de antibióticos como fluorquinolonas e aminoglicosídeos (CEZARIO et al., 2009).

Os carbapenêmicos são considerados os mais potentes antimicrobianos usados no tratamento de infecções por *P. aeruginosa* devido a sua estabilidade a hidrólise ocasionada pela maioria das β -lactamases, incluindo as de espectro ampliado (ESBLs) e também por apresentarem uma maior capacidade de penetração na maioria dos sítios de infecção (LIVERMORE et al., 1991). Não sendo indicados com primeira escolha de tratamento

empírico de infecções comunitárias e hospitalares, pois devem ser utilizados apenas no tratamento que exista uma forte suspeita de microbiota aeróbia e anaeróbia ou infecções causadas por microrganismos MDR (MITT et al., 2009).

As β -lactamases do tipo ESBL são de largo espectro, tendo capacidade de hidrolisar e causar resistência a penicilinas, do grupo Oxacilinas (OXA) (cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftadizima, cefepime, cefpiroma e cefalosporinas) e aos monobactâmicos (aztreonam), não sendo ativas contra carbapenêmicos, cefotetan e cefoxitina (LIVERMORE et al., 1991). Neste estudo foram observadas taxas de quase 14% entre os isolados produtores de ESBL. Sabemos também que a descrição de ESBLs em amostras *P. aeruginosa* é cada vez mais comum, no entanto representa um grande desafio para os laboratórios, já que o teste que é utilizado para sua detecção em enterobactérias não apresentam sensibilidade e especificidade satisfatórias quando aplicados à *P. aeruginosa* (CEZARIO et al., 2009). Essa dificuldade é consequência de diferentes fatores, como a presença de β -lactamases cromossomais do tipo AmpC, que inativam as cefalosporinas de amplo espectro e não são inibidas pelos inibidores de β -lactamases. As enzimas AmpC podem mascarar a presença de ESBL favorecendo a ocorrência de resultados falsos-negativos (SADER et al., 2004).

As β -lactamases do tipo AmpC (grupo 1 da classificação de Bush-Jacoby-Medeiros) são capazes de hidrolisar as cefalosporinas de 1ª e 2ª geração, mais pouco eficazes em hidrolisar as de 3ª e 4ª geração e os carbapenêmicos, cuja produção pode ser constituída ou induzível (JACOBY et al., 2005). A presença do gene de indução está relacionada a resultado de falsa sensibilidade na realização dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (MASUDA et al., 1992). Nesta investigação foi observado uma taxa de 2% das amostras produtoras de AmpC. A produção desta enzima nos microrganismos do grupo CESP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia*) e em *P. aeruginosa* mostram 80,0% e

100%, respectivamente de resistência a cefoxitina, sendo um dos marcadores da AmpC (ZAVASCKI et al., 2005).

A *P. aeruginosa* tem importância clínica por caracterizar a expressão de multirresistência associadas aos antibacterianos, com elevados índices de morbidade e mortalidade (LOPES et al., 2013). Observa-se usualmente a associação da resistência múltipla antibiótica com o aumento do risco de falha no tratamento em pacientes (SUBHA et al., 2003). A disseminação de infecções relacionadas à assistência a saúde (IRAS) frequentemente advém da contaminação cruzada. A via mais comum de transferência de patógenos ocorre pelas mãos de profissionais de saúde e os seus pacientes (BERTONCHELI et al., 2008).

A emergência de bactérias MDR como a *P. aeruginosa* aumentam a necessidade de cuidados extras devendo ser tomados pelos hospitais, como manter as mãos dos profissionais sempre limpas (WILLIAMS et al., 1999). É necessário também reforçar a necessidade de aprimorar as estratégias de prevenção e controle de infecções, incluindo políticas para utilização dos antimicrobianos, com possível isolamento dos pacientes com *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos e uso de EPIs, como recomendados para manter a precaução padrão e segurança do paciente.

7. Conclusão

- A ocorrência de infecções por *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos foi mais expressiva em indivíduos menores de 25 anos, fora da UTI. Porém, naqueles com idade entre 51 a 75 anos foi maior nas UTIs.
- Uma vez que as amostras analisadas são *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos é possível inferir na relação produção de metalo- β -lactamase/resistência aos carbapenêmicos em 13% dos isolados.
- A participação dos seguintes fenótipos de resistência: ESBL, e AmpC induzido, foi de 2,3 e 13,6%, respectivamente.
- A classificação das amostras em MDR e XDR foi em 59 e 36%, respectivamente e apenas uma amostra tinha o perfil Pan- resistente 2,3%.
- A proporção de resistência dentro e fora da UTI foi igual para todos os antimicrobianos.

8. Referências bibliográficas

- AMBLER, R.P. The structure of β -lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**. Londres, v. 16, n. 289 (1036), p.321-331, mai. 1980.
- ANDRADE, D. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. São Paulo, v.18, n.1, p.7-31, mar. 2006.
- ANDRADE, L. N. **Genética de epidemiologia molecular de enterobacterias produtoras de KPC no Brasil**. 2011, 68f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas a Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- BARAN, G. Risk factors for nosocomial imipenemresistant *Acinetobacter baumannii* infections. **International Journal of Infectious Diseases**. Sacramento, v. 12, n.1, p.16-21, set. 2008.
- BERGOGNE B. E. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. **Clinical Microbiology Reviews**, Nottingham, v. 9, n.1, p. 148-165, abr. 1996.
- BERTONCHELI C.M.; HORNER, R. Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Santa Maria, v. 44, n. 4, p. 577-599, dez. 2008.
- BLOT, S. Nosocomial bacteremia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: clinical outcome and length of hospitalization. **Clinical Infectious Diseases**, Belgica, v,34, n.12, p.1600-1606, dez. 2002.
- BOUZA, E. *Pseudomonas aeruginosa*: a multicenter study in 136 hospitals in Spain. **Revista Espanola de Quimioterapia**, Madrid, v. 16, n. 1, p.41-52, mar. 2003.
- BRADFORD, P.A. Extended-Spectrum β - lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clinical Microbiology Reviews**, Nova York, v.14, n.4, p.933-951, out. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 2.616, de 12 de maio de 1998. **Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS)**. Brasília: Diário Oficial da União, 1998.
- BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 39, n. 6, p. 33-1211, jun. 1995.
- CASELLI, D. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in children undergoing chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. **Haematologica**, v.95, n.9, p.1612-161, set. 2010
- CHANOINE-N., M.H. Impact of β -lactamases on the clinical use of β -lactam antibiotics. **International Journal Antimicrobial Agents**, Netherlands, v. 7, n.1 p. 6-21, jun. 1996.

CIPRIANO, R. Co-existence of epidemic colistin-only-sensitive clones *Pseudomonas aeruginosa*, including the bla SPM-1 clone, spread in hospital in a Brazil in Amazon city. **Microbial Drug Resistance**, Manaus, v.13, n.4, p.142-146, ago. 2007.

CLSI. Clinical and laboratory Standard Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard. Twenty third Edition. document M100-S23. USA, 2014.

DANTAS, R. C. C. **Bacteremia Hospitalar por bacilos Gram negativos multirresistentes: Fatores de risco e detecção de ESBL, AmpC e metalo-β-lactamase**. 2011, 54f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia e Imunologia Aplicadas) – Programa de Pós graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

ERBAY , H. Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish university hospital: a 2-year survey. **Intensive Care Medicine**, v.29, p.1482-1488, set, 2003.

FALAGAS, M.E. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post- antibiotic era?. **International Journal of Antimicrobial Agents**. Netherlands, v.29, n.6, p.1482-1488, dez. 2007.

FIGUEIREDO, D. Q. Detecção de metalo-β-lactamases em amostras hospitalares de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Niterói, v.45, n. 3, p. 177-184, jun. 2009.

GALES, A. C. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 13, n.2, p. 90-98, abr. 2009.

GOMEZ, G. J. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremias: analysis of prognostic factors. A prospective study, 1992-1998. **Revista Clinica**, Madrid, v. 204, n. 1, p.6-452, abr. 2004.

GONÇALVES, D.C.P. Detecção de metalo-β-lactamase em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes hospitalizados em Goiânia, Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Goiânia, v. 42, n.4, p.411-414, set.2009.

HANSON, N. D. Molecular characterization of a multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* encoding ESBLs and a plasmid-mediated AmpC. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Washington, v. 44, n. 3, p. 80-377, fev. 1999.

JACOBY, G.A. More extended spectrum β-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Massachusetts, v. 35 n. 9, p.1697-1704, set. 1991.

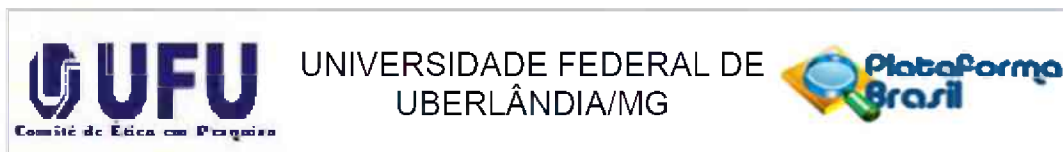
JACOBY, G. A. The new β-lactamases. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v.352 n.4, p.380-391, jan. 2005.

JORGE, H.G.M. Resistência antimicrobiana por extend spectrum β-lactamases (ESBLs) em amostras de *Escherichia coli* isoladas de coelhos. **Revista eletrônica de Análises Clínicas**, São Paulo, v.2, n.3, p. 1-15, mar. 2014.

- KISKA, D.L. and GILLIGAN, P.H. *Pseudomonas*. In: Murray, P.R., BARON, E.J., JORGENSEN, J.H., PFALLER, M.A., and YOLKEN, R.H., (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. **American Society for Microbiology Journals**, Washington, v.1, n.2, p. 719-728, abr. 2003.
- LIVERMORE, D.M. Invalidation for *Pseudomonas aeruginosa* of an accepted model of bacterial permeability to β -lactam antibiotics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Londres, v. 35, n.5, p.916–921, maio.1991.
- LOPES, B. S. Multi-drug resistance profiles and the genetic features of *Acinetobacter baumannii* isolates from Bolivia. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Bolivia, v.7, n.4, p.323-328, abr. 2013.
- MACHADO, G.M. Occurrence and the susceptibility to antimicrobial agents in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* sp. at a tertiary hospital in southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n.2, p. 72-168, Abr. 2011.
- MASUDA, N.; OHYA, S. Cross-resistance to meropenem, cepheems, and quinolones in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Tokyo, v.36, n.9, p. 1847-1851, set. 1992.
- MENDES, C.A. Polimixinas: revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade. **Revista da associação médica e brasileira**, São Paulo, v.55, n.6, p. 752-759, jun. 2009.
- MEYER, G. P. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Porto Alegre, v. 47, n. 1, p.25-31, fev. 2011.
- MITT, P. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia. **The Journal of Hospital Infection**, Estonia, v.71, n.4, p. 365-370, abr, 2009.
- NORMARK, S. Contribution of chromosomal β -lactam resistance in enterobacteria. **Reviews of Infectious Diseases**, Washington, v. 169, n.2, p.292-304, fev.1986.
- NOUÉR, S. A. **Aspectos clínicos e fatores de risco relacionados com colonização ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente**. 2005, 144 f. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Programa de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
- PELEG, A., Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D.L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. **Reviews Clinical Microbiology**, Boston, v.21, n. 3, p.538-582, jul. 2008.
- PEREIRA, M.S. A infecção hospitalar e suas implicações para o cuidar da enfermagem. **Texto Contexto Enfermagem**, Goiânia, v. 14, n.2, p. 7-250, jun. 2005.
- PHILIPPON, L.N. OXA 18, Classe D clavulanic-acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase from *P. aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Espanha, v.41, n.2, p. 2188-2195, jun. 1997.

- QUINN JP, Studemeister AE, DiVincenzo CA, Lerner SA. Resistance to imipenem in *Pseudomonas aeruginosa*: clinical experience and biochemical mechanisms. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, v.10, n. 4, p.8-892, ago. 1988.
- RIBEIRO, J. et al. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 13, n.2, p. 90-98, abr. 2009.
- RODRIGUES, F.A. The profile of antimicrobial utilization in a private hospital. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.15, n.1, p.1239-1247, jun. 2010.
- SNYDER, L; CHAMPNESS, W. Molecular Genetics of bacteria, Terceira edição. **American Society of Microbiology**, Washington, D.C., 2007.
- TOLEMAN, M. A. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 70, n. 2, p. 296-316, jun. 2006.
- TOWNER, K.J, Acinetobacter: an old friend, but a new enemy. **Journal of Hospital Infection**, Atlanta, v. 73, n.2, p.355-363, dez. 2009.
- VICENTE, J.L. Nosocomial infections in adult Intensive Care Units. **The Lancet**, Belgica, v.361, n.9382, p. 2068-2077, ago, 2003.
- WILLIAMS, J.D. β -lactamases and β -lactamase inhibitors. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Netherlands, v. 12, n.1, p. 3-7, ago. 1999.
- ZAVASCKI AP.; C., RP.; GOLDANI, LZ. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a comparative analysis of two case-control studies in hospitalized patients. **Journal of Hospital Infection**, Londres, v. 59, n.2, p. 96-101, fev. 2005.

ANEXO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL E MATERNIDADE MUNICIPAL DR. ODELMO LEÃO CARNEIRO, NA CIDADE DE UBERLÂNDIA, MG

Pesquisador: Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 16186213.8.0000.5152

Instituição Proponente: Instituto de Ciências Biomédicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 463.877

Data da Relatoria: 22/11/2013