

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**Graduação em Ciências Biológicas**

INGRID GUIMARÃES DE OLIVEIRA

**SUPEREXPRESSÃO DE BOMBA DE EFLUXO E CARBAPENEMASES EM  
ISOLADOS DE ENTEROBACTERIACEAE DE UM HOSPITAL MUNICIPAL  
MINEIRO**

Uberlândia - Minas Gerais

2019

INGRID GUIMARÃES DE OLIVEIRA

**SUPEREXPRESSÃO DE BOMBA DE EFLUXO E CARBAPENEMASES EM  
ISOLADOS DE ENTEROBACTERIACEAE DE UM HOSPITAL MUNICIPAL  
MINEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges  
Departamento de Microbiologia (DEMIC)  
Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM)

Uberlândia - Minas Gerais

2019

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por ter me permitido chegar até aqui, com o dom da paciência e perseverança frente às dificuldades da graduação.

À minha orientadora, Lizandra Borges, a quem admiro desde a primeira aula da disciplina de Microbiologia, pela sua excelente didática, paciência, conselhos nos momentos em que mais precisava, e principalmente por aceitar me orientar.

À técnica do laboratório Claudete Freitas, sempre prestativa e gentil.

Aos meus colegas de laboratório.

À minha família, minha mãe Ana, meu pai Sérgio, minha irmã Natália, minha avó Luzia e minhas primas Jéssica e Ana Paula por me incentivarem a cursar uma graduação, e me escutarem nos momentos em que me desesperava.

Ao meu avô Ivaldo, que faleceu antes mesmo de eu começar a graduação. Espero que ele se sinta orgulhoso por mim, de onde estiver.

Ao meu amor, Bruno Fonseca, por não me deixar desanimar mesmo quando tudo parecia perdido, e por sempre tentar me restabelecer a calma nesses períodos finais da graduação.

A todos os meus amigos, que a graduação me trouxe principalmente Olivar, Mariella, Geise, Vitor e Neilson, por sempre me ajudarem e me apoiarem nos momentos difíceis.

À minha amiga Karol, por sempre me dar conselhos e por nunca me deixar desistir.

À minha amiga Victória que está sempre disposta a me ouvir e me incentivar sempre que preciso.

Ao Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro, por fornecer as amostras ao LABAC, me permitindo realizar este trabalho.

## RESUMO

As bactérias da família Enterobacteriaceae fazem parte da microbiota normal intestinal humana, mas são constantemente encontradas como agentes oportunistas por serem causadoras de infecções hospitalares como pneumonias e septicemias. Entre as espécies clinicamente importantes associadas à infecções graves, destaca-se *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, principalmente quando relacionadas à resistência aos antimicrobianos, incluindo carbapenêmicos e quinolonas. Este estudo teve como objetivo pesquisar a presença de bomba de efluxo à carbapenêmicos e quinolonas e a comparação com a produção de carbapenemases, em amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* do Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro. Que foi realizado, por meio de testes fenotípicos em 36 amostras clínicas de *K. pneumoniae* e 3 de *E. coli*, isoladas nos anos de 2015 à 2017, a presença de carbapenemases pelo teste do disco combinado e superexpressão de bomba de efluxo em meio de cultura com os inibidores CCCP e PAβN. Das amostras obtidas, houve maior prevalência em pacientes homens e idosos, com infecções de corrente sanguínea e pneumonias, internados em UTI e de culturas de vigilância nas unidades não críticas, no ano de 2017. Em *K. pneumoniae*, 2 amostras foram detectadas a presença de bomba para quinolona, estas com perfil XDR e com expressão de MBL e KPC. Todas as amostras foram resistentes à quase todas as classes de antimicrobianos, exceto à Polimixina B, incluindo 28 amostras de XDR. Embora a maioria das amostras fosse negativa para superexpressão de bomba de efluxo, isso leva a crer que existem outros mecanismos de resistência envolvidos, ou coprodução de diferentes destes. Com isto o desenvolvimento de pesquisas neste contexto, dado que, a multirresistência pode ser ocasionada pelo uso inadequado dos antimicrobianos, e podem ser evitadas com capacitação no gerenciamento do uso racional de antimicrobianos e medidas simples como a higienização das mãos e limpeza do ambiente, podem contribuir com os dados epidemiológicos e medidas de intervenção mais pontuais.

**Palavras chave:** enterobactérias; multirresistência; bomba de efluxo; carbapenemases; infecção hospitalar.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	5
2. OBJETIVOS .....	8
2.1. OBJETIVO GERAL .....	8
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
3.1. LOCAL DE ESTUDO .....	9
3.2. AMOSTRAS .....	9
3.3. ANÁLISE DO ANTIBIOGRAMA .....	9
3.4. ENSAIO DE INIBIÇÃO DA BOMBA .....	10
3.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS E ÉTICA DO ESTUDO .....	10
4. RESULTADOS .....	12
5. DISCUSSÃO .....	19
6. CONCLUSÃO .....	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
8. ANEXO .....	30

## 1. INTRODUÇÃO

A família Enterobacteriaceae é representada por bactérias classificadas como bacilos Gram negativos, não esporulados, com motilidade variável, oxidase negativos e fermentadores de glicose. Também conhecidas como enterobactérias, porque pertencem a microbiota normal do intestino de seres humanos e muitos outros animais, além disso, podem ser frequentemente encontradas em locais como água, solo e plantas. Dentre as espécies mais importantes clinicamente, pode-se destacar *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, bactérias patogênicas oportunistas, responsáveis por causar diferentes infecções, inclusive as de origem hospitalar como pneumonias, infecções do trato urinário e sepsis (CHAGAS, 2011; LOPES et al., 2012).

A multirresistência aos antibióticos é classificada em perfis multirresistente (MDR), extensivamente resistente (XDR) e panresistentes (PDR), que foram definidos em não susceptibilidade a pelo menos um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos, a pelo menos um agente em todas as categorias e a todos os agentes em todas as categorias, respectivamente. A multirresistência é preocupante nessas espécies visto que dificulta o tratamento. É comum o relato de resistência em especial aos beta-lactâmicos em Enterobacteriaceae, por serem as principais Gram negativas produtoras de beta-lactamases, como as de espectro estendido (ESBL), e carbapenemase do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), que também é frequente, sendo responsável pela resistência aos carbapenêmicos e à quase todos os tipos de antibióticos disponíveis (MOREIRA; FREIRE, 2011; SANTOS, 2018).

As principais beta-lactamases produzidas por essas espécies são as do tipo AmpC, ESBL, e carbapenemases, especialmente MBL (metalo-beta-lactamases) e KPC. As beta-lactamases do tipo AmpC, também conhecidas como cefamicinases, são responsáveis pela degradação de antibióticos como penicilinas (cefotaxima) e cefalosporinas de 1ª e 2ª geração e não são inibidas pelo ácido clavulânico. As beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) podem ser responsáveis pela resistência a cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, consideradas de amplo espectro e geralmente inibidas pelo ácido clavulânico. Já as carbapenemases, que são enzimas que conferem resistência aos carbapenêmicos e têm potencial para degradar quase todos os beta-lactâmicos, especialmente as do tipo MBL e KPC são responsáveis pela resistência à carbapenêmicos como meropenem, imipenem e ertapenem, podendo também inativar cefalosporinas, penicilinas e o aztreonam, além disso, não são inibidas pelo ácido clavulânico (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; ROSA, 2014; ANDRADE; DARINI, 2017).

Além da produção de beta-lactamases, a superexpressão de bombas de efluxo é outro mecanismo o qual consiste em um complexo de três estruturas em Gram negativas: uma

proteína transportadora localizada na membrana interna, uma proteína periplasmática de ligação e uma proteína de canal, que está presente na membrana externa. Esse complexo é capaz de exportar os fármacos para fora do citoplasma bacteriano (LOMOVSKAYA; BOSTIAN, 2006). O principal sistema de efluxo comum à *K. pneumoniae* e *E. coli* é o da família RND (*Resistance Nodulation Cell Division*), que utilizam o gradiente de prótons para forçar o efluxo, cujos substratos comuns são beta-lactâmicos, quinolonas, tetraciclina, tigeciclina e cloranfenicol (MOREIRA et al., 2009; SRINIVASAN et al., 2014; ANES et al., 2015).

A família RND apresenta os genes *OqxAB* (*OqxA* e *OqxB*), mediados pelo plasmídeo pOLA52, responsáveis por garantir resistência às quinolonas, e *AcrAB* que garantem resistência às cefalosporinas, tetraciclina e também às quinolonas. Em *AcrAB*, há o acoplamento da proteína transportadora *AcrB* com a proteína de ligação *AcrA*, que estão presentes na membrana interna, e se ancoram na porina TolC, presente na membrana externa, criando um canal de saída de antimicrobianos diretamente para o lado externo da célula, sem passar pelo periplasma (YUAN et al., 2012; NODARI; BARTH, 2016).

A presença das proteínas KpgABC (da família ABC - superfamília cassete de ligação de ATP) e KpnEF (da família SMR – small multidrug resistance) em *K. pneumoniae*, está relacionada com a redução da sensibilidade à tigeciclina e à ceftriaxona, respectivamente. As bombas das famílias MFS e SMR também apresentam atividade contra quinolonas e estão presentes em isolados de *Serratia marcescens* (MARCHETTI, 2010; SRINIVASAN; RAJAMOHAN, 2013; NODARI; BARTH, 2016).

É possível verificar a existência de bombas de efluxo através da técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) ou pela utilização de testes fenotípicos como inibidores como carboxilciadina m-clorofenilhidrazona (CCCP) e fenilalanina-arginina  $\beta$ -naftilamina (PA $\beta$ N), desacopladores da força próton motiva, que se incorporados em meio de cultura, irão interromper o gradiente de prótons da membrana, inibindo o efluxo dos antibióticos, mostrando um perfil de sensibilidade. A resistência das enterobactérias aos carbapenêmicos pode não estar relacionada aos sistemas de efluxo, mas sim, às modificações na expressão de porinas como *OmpF* em *E. coli*, e os inibidores, podem assim ter efeito contrário em espécies produtoras de enzimas carbapenemases, sendo que, ao invés de intensificar o efeito dos carbapenêmicos, pode aumentar sua resistência contra esses medicamentos (MARCHETTI, 2010; YUAN et al., 2012; LORENZONI, 2018).

O inibidor mais estudado das bombas de efluxo bacterianas é o PA $\beta$ N. Essa substância, descoberta em 2001, é capaz de inibir as principais bombas de efluxo em bacilos Gram negativos (a saber, MexABOprM, MexCD-OprJ e MexEF-OprN em *Pseudomonas aeruginosa*,

e AcrAB-TolC em *E. coli*). A utilização clínica dessa substância, no entanto, ainda não é possível devido à sua toxicidade (SAW et al., 2016; BENEDETTO TIZ et al., 2018).

O tratamento das infecções causadas pelas enterobactérias tem se tornado difícil, devido aos mecanismos de resistência a grande parte dos antimicrobianos, como os beta-lactâmicos (cefalosporinas, penicilinas e aztreonam), incluindo os carbapenêmicos (meropenem, ertapenem e imipenem), e as quinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina e levofloxacina) que costumavam ser bastante utilizados no tratamento de infecções por Enterobacteriaceae. A multirresistência faz com que sobrem poucas opções terapêuticas, como os medicamentos polimixinas B e E, que são bastante tóxicos aos rins e ao sistema nervoso (MONTEIRO, 2011; ROSA, 2014).

A resistência aos antibióticos se deve a alguns fatores de risco, como por exemplo, o uso inadequado dos antimicrobianos e a suspensão do tratamento antes do tempo estabelecido (VIEIRA; PICOLI, 2015). O uso incorreto pode selecionar amostras resistentes, limitando o tratamento, podendo levar o paciente a óbito (WANNMACHER, 2004). É muito importante que a prescrição seja adequada, podendo até ser um antibiótico de amplo espectro, à primeira vista, até que exames comprovem o melhor fármaco, e realizar o descalonamento. E outras medidas de prevenção das infecções hospitalares, através da higienização das mãos dos profissionais de saúde, esterilização dos instrumentos e limpeza do ambiente, e a implantação das culturas de vigilância epidemiológica. A partir dessas medidas, é então possível reduzir a seleção de bactérias multirresistentes e as infecções desencadeadas por elas (OLIVEIRA; PAULA, 2012; OLIVEIRA et al., 2016; FERREIRA, 2017).

Levando em conta que *K. pneumoniae* e *E. coli* possuem resistência à maior parte dos antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções, principalmente aos carbapenêmicos e quinolonas, o tratamento acaba por ser limitado às polimixinas, que são mais tóxicas aos rins e ao sistema nervoso. Fatores como o uso inadequado dos antibióticos e a escassez de medidas de prevenção das infecções nos hospitais, acabam por selecionar as cepas resistentes, o que dificulta ainda mais o tratamento. O estudo da superexpressão de bomba de efluxo por essas cepas resistentes, por meio da experimentação de diferentes tipos de inibidores, visa à pesquisa dos mecanismos de resistência e assim decidir sobre o tratamento e medidas de contenção da disseminação.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Pesquisar a presença de bomba de efluxo e carbapenemases, em amostras resistentes aos carbapenêmicos de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* isoladas no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes à carbapenêmicos e quinolonas por meio da análise do antibiograma;
- Verificar a superexpressão de bomba de efluxo para carbapenêmico e quinolona, em amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* utilizando inibidores;
- Verificar a produção de carbapenemases em amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli*;
- Relacionar o perfil de resistência e o mecanismo de resistência com os dados sociodemográficos dos pacientes internados do Hospital Municipal.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. LOCAL DE ESTUDO

- O Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro, localizado na Zona Sul de Uberlândia, é um hospital geral, de média complexidade, que possui 258 leitos, nos quais 45 são de UTI (adulto e neonatal), e tem capacidade para 900 saídas por mês. Atende especialidades clínicas e cirúrgicas, além de maternidade;
- Tem o apoio de um laboratório de Análises Clínicas particular que presta serviços a ele, fazendo o diagnóstico das infecções e o antibiograma.

#### 3.2. AMOSTRAS

- As amostras estão estocadas à -20°C no Laboratório de Bacteriologia Clínica (LABAC) da Universidade Federal de Uberlândia. Foram utilizadas amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* previamente selecionadas com resistência a pelo menos um dos carbapenêmicos e de diferentes sítios de infecções isoladas nos anos de 2015 a 2017.

#### 3.3. ANÁLISE DO ANTIBIOGRAMA

- No antibiograma fornecido pelo hospital foram obtidos: o local da internação (UTI ou não UTI); o sexo e a idade do paciente no momento do exame; a origem da amostra (hemocultura, ponta de cateter, secreção traqueal, urina, secreção inguinal ou outro) e perfil de resistência aos seguintes antibióticos: Amicacina, Gentamicina, Tobramicina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Sulfametoxazol/Trimetropim, Ampicilina, Ceftriaxona, Cefoxitina, Cefepime, Ceftazidima, Amoxicilina/Ácido clavulânico, Piperacilina/Tazobactam, Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Aztreonam, Cloranfenicol, Tetraciclina e Polimixina B. Amostras com perfil intermediário foram consideradas resistentes, para fins epidemiológicos.
- As amostras foram classificadas quanto ao perfil de resistência em MDR (multirresistente), XDR (extensivamente resistente) e PDR (panresistente), segundo MAGIORAKOS et al. (2012).

### 3.4. ENSAIO DE INIBIÇÃO DA BOMBA

- As amostras foram descongeladas e cultivadas em TSA (*Tryptic Soy Agar*), incubada a 37°C por 24 horas, para obtenção de colônias isoladas;
- Foram preparadas suspensões de *K. pneumoniae* e *E. coli* em soluções salinas (NaCl a 0,85%), a partir de colônias isoladas do cultivo em TSA, ajustados para a escala 0,5 de McFarland e de acordo com essa escala, foi observada a turvação do meio ( $10^8$  UFC/mL);
- Foi preparado Ágar Mueller-Hinton sem inibidores e com os seguintes inibidores de bomba de efluxo, que foram: carboxilciadina m-clorofenilhidrazona (CCCP) e fenilalanina-arginina  $\beta$ -naftilamina (PA $\beta$ N) na concentração de 12,5 $\mu$ M/mLcada (GEORGIOS et al.,2014; SAW et al.,2016);
- Com um suabe, as suspensões de *K. pneumoniae* e *E. coli* foram uniformemente espalhadas nos meios de cultura Mueller-Hinton com e sem inibidores em uma placa de petri para cada isolado e tipo de inibidor;
- Discos de meropenem foram utilizados para o inibidor CCCP e Ciprofloxacina para PA $\beta$ N, que foram colocados na superfície do ágar (com e sem inibidores), e levemente pressionados;
- O ensaio foi incubado por 18 a 24 horas, em uma temperatura de 37°C;
- Os resultados foram interpretados: havendo a diferença de 5 mm ou mais no tamanho do halo com o inibidor, comparado com o sem inibidor, foi indicativo de produção de bomba de efluxo para carbapenêmicos e/ou quinolonas, conforme o ensaio.

### 3.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS E ÉTICA DO ESTUDO

- Com base em dados já obtidos de testes para MBL e KPC realizados teste de sinergismo, dispo de discos de meropenem (10 $\mu$ g) e os inibidores Ácido etileno diamino tetracético (EDTA - 0,1M) e Ácido Fenil Borônico (AFB-40mg/mL) (DORIGONI, 2019), em seguida relacionados com os resultados do teste fenotípico de inibição de bomba de efluxo.
- Os dados foram tabulados em planilha do Excel® (Microsoft) e as análises estatísticas realizadas por meio do teste de Qui-quadrado ou Exato de Fischer, quando o número foi menor que 5 (cinco), considerando o Intervalo de Confiança de 95% e  $P \leq 0,05$  e o programa BioEstat 5.3 (Mamirauá, Brasil).

- Este estudo utilizou amostras do projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia sob o nº 463.877/13.

#### 4. RESULTADOS

Este estudo recuperou 39 amostras, sendo 36 de *K. pneumoniae* e 3 de *E. coli* no período de 2015 a 2017. A distribuição dos pacientes foi maior para o sexo masculino (56,4%), com idade avançada, em especial entre 51 e 75 anos (61,5%), distribuídas mais em 2017 (71,8%) e de culturas de vigilância (64,1%) (Tabela 1).

Comparando os dados obtidos de pacientes internados na UTI e fora da unidade crítica, obteve-se que as infecções de corrente sanguínea (42,9%) e pneumonia (57,1%) foram mais prevalentes na UTI e cultura de vigilância (78,1%) em não UTI ( $P < 0,05$ ).

Quanto à distribuição dos pacientes colonizados e/ou infectados com *K. pneumoniae*, esta foi mais isolada no ano de 2017 (77,8%) e *E. coli* em 2015 (66,7%) (Tabela 1).

Comparando os dados da produção de bomba de efluxo para carbapenêmico e quinolona, e a produção de carbapenemases (KPC e MBL) foram iguais para ambas as espécies. No entanto, a presença fenotípica de bomba para quinolona e KPC foi verificada apenas em *K. pneumoniae* (Tabela 1).

**Tabela 1** – Características de *K. pneumoniae* e *E. coli* relacionadas aos dados demográficos e local de internação dos pacientes, variáveis de isolamento das amostras, produção de bomba de efluxo e carbapenemases em isolados no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

<b>Variáveis/Amostras</b>	<b>Total</b> N = 39 (%)	<b><i>K. pneumoniae</i></b> N = 36 (%)	<b><i>E. coli</i></b> N = 3 (%)	<b>P (IC 95%)</b>	<b>UTI</b> N = 7 (%)	<b>Não UTI</b> N = 32 (%)	<b>P (IC 95%)</b>
<b>Sexo</b>							
Feminino	17 (43,6)	15 (41,7)	2 (66,7)	0,81	2 (28,6)	15 (46,9)	0,64
Masculino	22 (56,4)	21 (58,3)	1 (33,3)	0,81	5 (71,4)	17 (53,1)	0,64
<b>Idade</b>							
0 – 25 anos	1 (2,6)	1 (2,8)	0	0,10	1 (14,3)	0	0,39
26 – 50 anos	3 (7,7)	3 (8,3)	0	0,54	0	3 (9,4)	0,95
51 – 75 anos	24 (61,5)	21 (58,3)	3 (100)	0,41	4 (57,1)	20 (62,5)	0,86
≥ 76 anos	11 (28,2)	11 (30,6)	0	0,64	2 (28,6)	9 (28,1)	0,66
<b>Ano</b>							
2015	4 (10,3)	2 (5,6)	2 (66,7)	0,0182*	1 (14,3)	3 (9,4)	0,76
2016	7 (17,9)	6 (16,7)	1 (33,3)	0,95	0	7 (21,9)	0,41
2017	28 (71,8)	28 (77,8)	0	0,0272*	6 (85,7)	22 (68,8)	0,66
<b>Síndrome infecciosa</b>							
Infecção da Corrente Sanguínea	5 (12,8)	4 (11,1)	1 (33,3)	0,83	3 (42,9)	2 (6,3)	0,0455*
Pneumonia	5 (12,8)	5 (13,9)	0	0,83	4 (57,1)	1 (3,1)	0,0012*
Infecção Urinária	4 (10,3)	4 (11,1)	0	0,70	0	4 (12,5)	0,76
Cultura de Vigilância	25 (64,1)	23 (63,9)	2 (66,7)	0,59	0	25 (78,1)	0,0005*

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; KPC: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*; MBL: metalo-beta-lactamase; \*:P≤ 0,05; IC: intervalo de confiança.

**Tabela 1** – Características de *K. pneumoniae* e *E. coli* relacionadas aos dados demográficos e local de internação dos pacientes, variáveis de isolamento das amostras, produção de bomba de efluxo e carbapenemases em isolados no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

<b>UTI</b>	-	6 (16,7)	1 (33,3)	0,95	-	-	-
<b>MDR</b>	11 (28,2)	10 (27,8)	1 (33,3)	0,64	4 (57,1)	7 (21,9)	0,15
<b>XDR</b>	28 (71,8)	26 (72,2)	2 (66,7)	0,64	3 (42,8)	25 (78,1)	0,15
<b>Bomba para carbapenêmico</b>	0	0	0	-	0	0	-
<b>Bomba para quinolona</b>	2 (5,1)	2 (5,6)	0	0,34	0	2 (6,2)	0,78
<b>KPC</b>	19 (48,7)	19 (52,8)	0	0,24	3 (42,8)	16 (50,0)	0,94
<b>MBL</b>	11 (28,2)	10 (27,8)	1 (33,3)	0,64	1 (14,3)	10 (31,2)	0,66

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase ; MBL: metalo-beta-lactamase; \*:  $P \leq 0,05$ ; IC: intervalo de confiança.

Utilizando a classificação de multirresistência (28,2%) e extensivamente resistente (71,8%) das duas espécies analisadas, a distribuição das comparações foram iguais para ambas. A produção de bomba de efluxo para quinolona e MBL foram mais observadas nas amostras XDR, sendo 2 amostras positivas para bomba de efluxo, representando 7,1% e 10 amostras MBL, representando 35,7% (Tabela 2). Nas amostras positivas para bomba para quinolona, uma apresentou superexpressão à MBL, e a outra à KPC, sendo ambas isoladas de culturas de vigilância. Não houve produção de PDR.

Acerca da resistência aos antimicrobianos, além da resistência aos carbapenêmicos, foram também a tobramicina (79,5%), ciprofloxacina (89,7%), levofloxacino (79,5%), ampicilina (97,4%), ceftriaxona (97,4%), cefoxitina (92,3%), cefepime (100%), ceftazidima (97,4%), amoxicilina/ác.clavulânico (97,4%), piperacilina/tazobactam (87,2%) e aztreonam (100%). Comparando o perfil de resistência das amostras de UTI e não UTI, não houve diferença estatística significativa na resistência.

As duas amostras de *K. pneumoniae* que no teste fenotípico foram positivas para bomba de efluxo para quinolona apresentavam resistência a ciprofloxacina e levofloxacina.



**Tabela 2** – Comparativo e classificação de resistência nas amostras isoladas e perfil de resistência aos antimicrobianos quanto ao local de internação no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

<b>Variáveis</b>	<b>Total</b> N = 39 (%)	<b>MDR</b> N = 11 (%)	<b>XDR</b> N = 28 (%)	<b>P (IC 95%)</b>	<b>UTI</b> N = 7 (%)	<b>Não UTI</b> N = 32 (%)
<b>Sexo</b>						
Feminino	17 (43,6)	4 (36,4)	13 (46,4)	0,83	2 (28,6)	15 (46,9)
Masculino	22 (56,4)	7 (63,6)	15 (53,6)	0,83	5 (71,4)	17 (53,1)
<b>Idade</b>						
0 – 25 anos	1 (2,6)	1 (9,1)	0	0,62	1 (14,3)	0
26 – 50 anos	3 (7,7)	0	3 (10,7)	0,64	0	3 (9,4)
51 – 75 anos	24 (61,5)	7 (63,6)	17 (60,7)	0,84	4 (57,1)	20 (62,5)
≥ 76 anos	11 (28,2)	3 (27,3)	8 (28,6)	0,75	2 (28,6)	9 (28,1)
<b>Ano</b>						
2015	4 (10,3)	2 (18,2)	2 (7,1)	0,66	1 (14,3)	3 (9,4)
2016	7 (17,9)	0	7 (25,0)	0,17	0	7 (21,9)
2017	28 (71,8)	9 (81,8)	19 (67,9)	0,63	6 (85,7)	22 (68,8)
<b>Síndrome infecciosa</b>						
Infecção da Corrente Sanguínea	5 (12,8)	2 (18,2)	3 (10,7)	0,92	3 (42,9)	2 (6,3)
Pneumonia	5 (12,8)	2 (18,2)	3 (10,7)	0,92	4 (57,1)	1 (3,1)
Infecção Urinária	4 (10,3)	2 (18,2)	2 (7,1)	0,66	0	4 (12,5)
Cultura de Vigilância	25 (64,1)	5 (45,5)	20 (71,4)	0,24	0	25 (78,1)

MDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em  $\geq 3$  categorias antimicrobianas; XDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em todas as categorias antimicrobianas, exceto  $\leq 2$  categorias; \*:  $P \leq 0,05$ ; IC: intervalo de confiança.

**Tabela 2** – Comparativo e classificação de resistência nas amostras isoladas e perfil de resistência aos antimicrobianos quanto ao local de internação no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

<b>Bomba para carbapenêmicos</b>	0	0	0	-	0	0
<b>Bomba para quinolonas</b>	2 (5,1)	0	2 (7,1)	0,91	0	2 (6,2)
<b>MBL</b>	11 (28,2)	1 (9,1)	10 (35,7)	0,20	1 (14,3)	10 (31,2)
<b>KPC</b>	19 (48,7)	8 (72,7)	11(39,3)	0,12	3 (42,8)	16 (50,0)
<b>Antimicrobianos</b>						
<b>Aminoglicosídeos</b>						
Amicacina	1 (2,6)	0	1 (3,6)	0,39	0	1 (3,1)
Tobramicina	31 (79,5)	5 (45,4)	26 (92,8)	0,27	4 (57,1)	27 (84,4)
Gentamicina	22 (56,4)	2 (18,2)	20 (71,4)	0,70	3 (42,9)	19 (59,4)
<b>Quinolonas</b>						
Ciprofloxacina (fluoroquinolona)	35 (89,7)	7 (63,6)	28 (100)	0,28	5 (71,4)	30 (93,8)
Levofloxacino (quinolona)	31 (79,5)	6 (54,5)	25 (89,3)	0,94	5 (71,4)	26 (81,3)
<b>Sulfazotrim</b>						
Sulfametoxazol/Trimetropim	28 (71,8)	4 (36,4)	24 (85,7)	0,15	3 (42,9)	25 (78,1)
<b>Penicilina</b>						
Ampicilina	38 (97,4)	10 (90,9)	28 (100)	0,39	6 (85,7)	32 (100)
<b>Cefalosporinas</b>						
Ceftriaxona	38 (97,4)	11 (100)	27 (96,4)	0,39	7 (100)	31 (96,9)
Cefoxitina	36 (92,3)	9 (81,8)	27 (96,4)	0,95	6 (85,7)	30 (93,8)

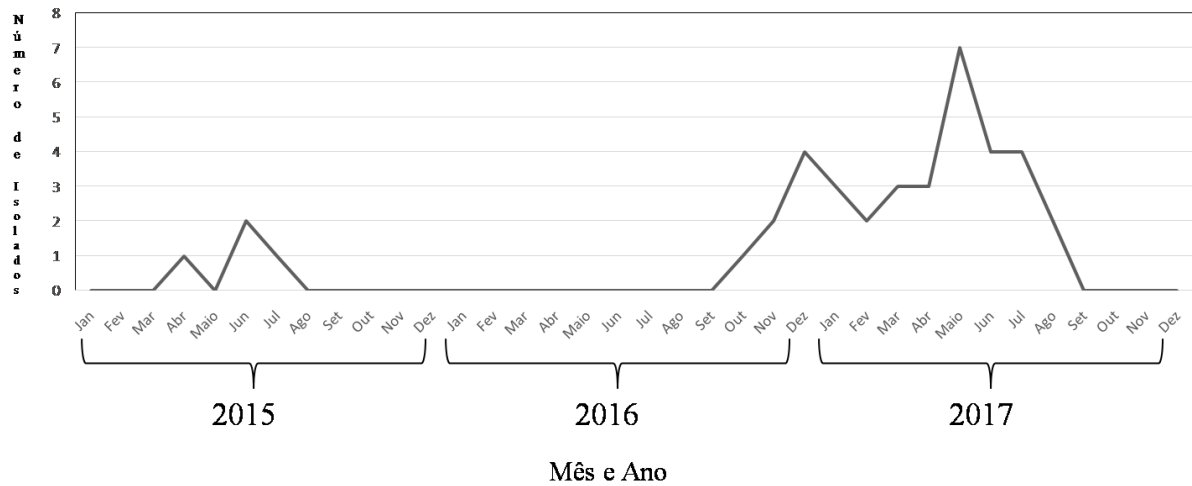
MDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em  $\geq 3$  categorias antimicrobianas; XDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em todas as categorias antimicrobianas, exceto  $\leq 2$  categorias; \*:  $P \leq 0,05$ ; IC: intervalo de confiança.

**Tabela 2** – Comparativo e classificação de resistência nas amostras isoladas e perfil de resistência aos antimicrobianos quanto ao local de internação no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.

Cefepime	39 (100)	11 (100)	28 (100)	-	7 (100)	32 (100)
Ceftazidima	38 (97,4)	10 (90,9)	28 (100)	0,39	6 (85,7)	32 (100)
<b>Betalactâmicos + inibidor</b>						
Amoxicilina + Ácido clavulânico	38 (97,4)	11 (100)	27 (96,4)	0,39	7 (100)	31 (96,9)
Piperacilina + Tazobactam	34 (87,2)	8 (72,7)	26 (92,8)	0,45	5 (71,4)	29 (90,6)
<b>Carbapenens</b>						
Imipenem	31 (79,5)	9 (81,8)	22 (78,6)	0,94	5 (71,4)	26 (81,2)
Meropenem	34 (87,2)	9 (81,8)	25 (89,3)	0,45	5 (71,4)	29 (90,6)
Ertapenem	38 (97,4)	10 (90,9)	28 (100)	0,39	7 (100)	31 (96,9)
<b>Monobactâmicos</b>						
Aztreonam	39 (100)	11 (100)	28 (100)	-	7 (100)	32 (100)
<b>Cloranfenicol</b>	29 (74,4)	5 (45,4)	24 (85,7)	0,77	6 (85,7)	23 (71,9)
<b>Tetraciclina</b>	16 (41,0)	2 (18,2)	14 (50)	0,24	1 (14,3)	15 (46,9)
<b>Polimixina B</b>	0	0	0	-	0	0

MDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em  $\geq 3$  categorias antimicrobianas; XDR: não susceptibilidade a  $\geq 1$  agente em todas as categorias antimicrobianas, exceto  $\leq 2$  categorias; \*:  $P \leq 0,05$ ; IC: intervalo de confiança.

O período de maior isolamento destes microrganismos ocorreu no ano de 2017, seguido do ano de 2015, como é possível observar no gráfico (Figura 1). Já em 2016, o número de isolados somente começou a crescer em seus últimos 4 meses, contribuindo com maior número de isolamentos.



**Figura 1** - Distribuição por período do isolamento de enterobactérias no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro.  
Fonte: Ingrid Guimarães de Oliveira.

## 5. DISCUSSÃO

As enterobactérias são microrganismos muito frequentes como causadores de síndromes infecciosas, embora presentes na microbiota do intestino humano apresentam espécies de notória importância clínica como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, que são bactérias oportunistas que acometem pacientes com defesas imunológicas enfraquecidas, e causam infecções graves incluindo as de origem hospitalar, como as pneumonias (CHAGAS, 2011). A resistência à grande parte dos antimicrobianos, incluindo carbapenêmicos e quinolonas é devido a fatores como o uso elevado dos antimicrobianos, o que têm dificultado o tratamento e o limitado a fármacos mais tóxicos ao organismo como as polimixinas (MONTEIRO, 2011; ROSA, 2014; VIEIRA; PICOLI, 2015).

Neste estudo, foram incluídos isolados dos microrganismos *K. pneumoniae* e *E. coli*, em um hospital de atendimento exclusivo pelo Sistema Único de Saúde, em uma cidade polo no estado de Minas Gerais, em que 10% das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (OBSERVAÇÃO DOS PESQUISADORES). Obteve-se maior distribuição das ocorrências em pacientes do sexo masculino e de grupos etários avançados. Segundo Lorenzoni (2018) em seu estudo epidemiológico de Gram negativos multirresistentes, como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *E. coli* e *K. pneumoniae*, também ocorreu maior prevalência de isolados em pacientes do sexo masculino, com idades acima de 60 anos.

Segundo Ferreira (2017), a partir de seu estudo sobre análise de antibiogramas de pacientes internados de um hospital, constatou que pacientes do sexo masculino e idades acima dos 60 anos apresentaram cepas com maior resistência aos antimicrobianos. Isso pode ser devido à busca de tratamentos de saúde por homens somente em situações mais graves. E ainda, segundo Izaias et al. (2014) houve incidência média mensal de mais de 3% de infecções hospitalares em idosos do que em pacientes não idosos. Isso se justifica devido à suscetibilidade dos pacientes mais vulneráveis às infecções, pois apresentam com maior frequência alterações imunológicas, patologias crônico-degenerativas, cicatrização tecidual e circulação sanguínea deficientes, favorecidos pela própria senescência. Portanto, os dados obtidos neste estudo coincidem com a literatura em questão.

A maior prevalência de infecções graves como pneumonia (57,1%) e infecções de corrente sanguínea (42,9%) nas Unidades de Terapia Intensiva, já era esperada, pois, de acordo com Padrão et al. (2010), isso ocorre devido aos diversos procedimentos invasivos realizados nas UTI, como por exemplo, pacientes em ventilação mecânica, que por passarem muito tempo acamados propicia o acúmulo de secreções nas vias aéreas, e as infecções de corrente sanguínea

podem ser desencadeadas secundariamente à outro tipo de infecção inicial. No Brasil, 12,4% das infecções de corrente sanguínea são por *K. pneumoniae*, para as pneumonias, esta espécie representa na América Latina 10,2% dos patógenos isolados (SILVA, ESTEVES, 2017).

Em unidades não críticas (Não UTI) houve prevalência das culturas de vigilância (78,1%), que tem o intuito de monitorar o aparecimento de bactérias multirresistentes na colonização dos pacientes, em sítios não estéreis (GAEDICKE, 2018). No estudo de Pinto et al. (2014) houve uma maior prevalência de isolados de Enterobacteriaceae resistentes à carbapenêmicos, em culturas de vigilância, assim como as amostras utilizadas neste estudo, mais especificamente de suabe retal (51,9%). E o estudo citado anteriormente, reforça a importância das culturas de vigilância, dado que, os pacientes colonizados podem ser reservatórios das bactérias resistentes funcionando como fonte de infecção e sendo facilmente transmitidos pelas mãos dos profissionais de saúde.

Quanto à distribuição dos pacientes colonizados e/ou infectados com a bactéria *K. pneumoniae*, esta foi mais isolada no ano de 2017 (77,8%) e *E. coli* em 2015 (66,7%). Assim como Gavronski (2017), a partir da análise de enterobactérias resistentes à carbapenêmicos, isoladas de um hospital entre outubro de 2015 a setembro de 2016, a espécie mais encontrada foi *K. pneumoniae*, representando 84,2% do total de isolados, sendo que *E. coli* representou apenas 1,3%. Segundo Perna et al. (2015) de acordo com dados de programas de vigilância, a prevalência de isolamento de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL nos hospitais brasileiros é de cerca de 50%. Essa espécie também apresenta comumente a carbapenemase KPC, de fácil disseminação, que confere resistência a todos os beta-lactâmicos, incluindo carbapenêmicos e aztreonam, limitando o tratamento, muitas vezes a glicilciclina (SEIBERT et al., 2014).

Em Fernandes (2017), no estudo do perfil fenotípico e genético de enterobactérias produtoras de carbapenemase, que foram *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *K. pneumoniae* e *E. coli*, observou-se que 74,3% das amostras eram positivas para KPC, enquanto 0,6% foram para MBL. Já no trabalho de Moayednia et al. (2014) houve prevalência de MBL em *Klebsiella* spp (2,6%) e *E. coli* (0,3%) hospitalares, no entanto em amostras não hospitalares, não houve a produção de MBL.

A produção de carbapenemases (KPC e MBL) não apresentou diferença estatística entre as espécies estudadas. No entanto, mais da metade das amostras de *K. pneumoniae* apresentavam a carbapenemase do tipo KPC, com resistência a carbapenêmico e ao monobactâmico. De acordo com Miranda et al. (2018) esta enzima foi descrita pela primeira vez em 1996, isolado de *K. pneumoniae*, entretanto pode também ser encontrada em outras enterobactérias. Essa carbapenemase tem alto potencial de disseminação, por ser codificada por

plasmídeos, o que facilita a transferência do gene entre as espécies, além de conseguir hidrolisar os carbapenêmicos. A *K. pneumoniae* produtora de KPC tem disseminação mundial, associada às infecções graves principalmente em UTI, possuindo opções terapêuticas limitadas de tratamento, sendo, portanto, preocupante para a Saúde Pública.

A presença fenotípica de bomba para quinolona foi verificada apenas em amostras de *K. pneumoniae* com perfil XDR, obtidas de cultura de vigilância, no ano de 2016. Também foi mais observado nesta espécie a presença de KPC e mais MBL nesta espécie, do que em *E. coli*. Conforme Santos (2018), que analisou o perfil fenotípico e genotípico de enterobactérias resistentes aos beta-lactâmicos, também houve predominância de perfis XDR, representando 68,5% das espécies, sendo que, mais de 80% das amostras eram resistentes à carbapenêmicos, pois tipicamente estes apresentam perfis de resistência XDR. Dienstmann (2010) destaca que KPC costuma ser mais prevalente em *K. pneumoniae*.

Com relação aos dados da produção de bomba de efluxo para carbapenêmico e quinolona, foram detectadas apenas duas amostras em *Klebsiella pneumoniae* (5,6%). Restrepo & Arias (2015) ressaltam que em Enterobacteriaceae não foi observada na resistência aos carbapenêmicos relação com as bombas de efluxo. Já Padilla et al. (2010) testaram o sistema de efluxo AcrAB em *K. pneumoniae* e concluíram que, a deficiência de *acrB* levou à maior suscetibilidade à quinolonas, já que a superexpressão desse gene, devido à mutações no *acrR* foi citada em outros trabalhos como causadora da resistência à ciprofloxacina. E que o uso do inibidor de bomba de efluxo, CCCP, alterou a sobrevivência em relação à Polimixina, diminuição dos CIM (concentração inibitória mínima) em outros antimicrobianos como eritromicina, tetraciclina, cloranfenicol, aminoglicosídeos e beta-lactâmicos, com exceção dos carbapenêmicos. Isso os levou a crer que esse sistema de efluxo, associado a outros mecanismos de resistência, como às ESBL ou à perda de porinas, podem colaborar com a multirresistência.

Segundo Moreira et al. (2008) a principal dificuldade em encontrar presença de bomba de efluxo por meio de testes fenotípicos é que o sistema de efluxo poderia funcionar em níveis indetectáveis, potencializando outros mecanismos de resistência, podendo apenas diminuir a suscetibilidade aos fármacos, nem sempre culminando em resistência antimicrobiana a níveis clinicamente importantes. E, além disso, a multirresistência pode ser oriunda de vários sistemas de efluxo droga específica, e não necessariamente de um único sistema de efluxo multidroga.

Muitas espécies de Enterobacteriaceae têm apresentado resistência à grande parte dos antimicrobianos disponíveis, fato preocupante para a Saúde Pública. A resistência aos carbapenêmicos tem aumentado com o passar dos anos, e o uso exacerbado de quinolonas pode

ter contribuído para o desenvolvimento de resistência a este fármaco (MONTEIRO, 2011; ROSA, 2014).

Neste estudo, foi verificada resistência à maior parte dos antimicrobianos testados, sendo as amostras com resistência de 100% à cefepime e aztreonam, apresentando mais de 90% de resistência à amoxicilina/ác.clavulânico, ceftazidima, ampicilina, ceftriaxona e cefoxitina; e entre 70 a 90% de resistência à ciprofloxacina, piperacilina/tazobactam, tobramicina e levofloxacino. Segundo Mota et al. (2018), que analisou a resistência de Gram negativas de uma UTI, *K. pneumoniae* apresentou de 80 a 100% de resistência à ampicilina, 30 a 40% à ceftazidima, ciprofloxacina e gentamicina, e 50 a 70% para um antimicrobiano da classe das cefalosporinas. Já em *E. coli* a resistência à ampicilina e ciprofloxacina foi de 50 a 70%, e de 30 a 40% à ácido nalidíxico, trimetropim/sulfametoxazol, norfloxacina, cefuroxima, ceftriaxona, cefepime e cefalotina.

Devido ao grande problema da resistência antimicrobiana, foi elaborada, mais recentemente, uma estratégia de gestão clínica do uso dos antimicrobianos, o “*Antimicrobial Stewardship Program*”, que foi definido no protocolo da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA), e que consiste na racionalização do uso de antimicrobianos por meio do descalonamento, rotação de antibióticos (troca frequente dos antimicrobianos), terapia de antecipação (tratar pacientes com alto risco de infecções oportunistas antes mesmo do surgimento dos primeiros sinais clínicos delas), restrição de medicamentos (restringir medicamentos disponíveis), pré-autorização, ajuste da dose através da farmacocinética e farmacodinâmica dos antibióticos e um programa educacional de conscientização para os médicos sobre o uso adequado dos antimicrobianos. Esse conjunto de medidas visa à diminuição e prevenção da resistência, e o uso adequado dos antibióticos (BRASIL, 2017; CABRAL et al., 2018).

O programa da gestão clínica dos antimicrobianos é de extrema importância para ser colocado em prática, visto que, é crescente a resistência aos fármacos disponíveis, e os próprios antimicrobianos acabam por selecionar as cepas resistentes, devido ao seu uso inadequado, pois nem sempre ocorre o descalonamento, sendo comumente utilizados antibióticos de amplo espectro para tratar a maioria das infecções. Seria ideal que houvesse a prescrição adequada levando em conta cada tipo de infecção e cada agente causador, para diminuir o máximo possível a seleção de cepas resistentes, a partir da certeza do antimicrobiano ao qual o patógeno das colonizações ou infecções seja sensível.

Além disso, estratégias de prevenção e controle como: as culturas de vigilância, que detectam patógenos emergentes e isolam os pacientes infectados ou colonizados a fim de evitar



a transmissão cruzada, a lavagem das mãos, esterilização de instrumentos e o uso racional dos antimicrobianos, previnem a disseminação dos microrganismos multirresistentes e as infecções hospitalares. As culturas de vigilância são bastante importantes, pois permitem identificar surtos (antes mesmo de sua propagação), áreas e situações de maior risco, e a eficácia das medidas preventivas adotadas, além de funcionarem como rastreamento epidemiológico das principais bactérias resistentes, visa à redução dos índices de mortalidade de pacientes com infecções hospitalares (OLIVEIRA; PAULA, 2012; OLIVEIRA et al., 2016; FERREIRA, 2017).

## 6. CONCLUSÃO

Foram identificadas por meio do antibiograma amostras de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* resistentes aos carbapenêmicos e quinolonas, que apresentaram resistência também à quase todas as outras classes de antimicrobianos, porém, todas sensíveis à Polimixina B.

Quanto às infecções, houve maior prevalência de corrente sanguínea e pneumonia nas UTI, e culturas de vigilância nas não UTI, sendo que as infecções foram mais distribuídas em pacientes homens e com faixas etárias de 51 a 75 anos, no ano de 2017.

Ao verificar a superexpressão de bomba de efluxo e carbapenemases, apenas em *K. pneumoniae* pode-se observar a presença de (19) 52,8% KPC e de bomba para quinolona em apenas duas amostras com perfil XDR obtidas de culturas de vigilância, ou seja, de colonização.

Visto que, a maioria das amostras foi negativa para bomba de efluxo, isso leva a crer na existência de outros mecanismos de resistência que sejam coexistentes às carbapenemases como, por exemplo, a perda de porinas, ou até mesmo a existência de sistemas de efluxo a níveis indetectáveis.

Portanto, a multirresistência e seus vários mecanismos em enterobactérias podem ser ocasionados pela utilização inadequada dos antimicrobianos, pois a falta de medidas de prevenção das infecções são fatores preocupantes à Saúde Pública que devem ser corrigidos para que a seleção de cepas resistentes e sua disseminação seja controlada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que blablabla é esse? **Journal of Infection Control**, Santa Cruz do Sul, v. 6, n. 1, p. 1–29, jan-mar, 2017.
- ANES, J.; MCCUSKER, M. P.; FANNING, S.; MARTINS, M. The ins and outs of RND efflux pumps in *Escherichia coli*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, jun. 2015.
- BENEDETTO TIZ, D.; KIKELJ, D.; ZIDAR, N. Overcoming problems of poor drug penetration into bacteria: challenges and strategies for medicinal chemists. **Expert Opinion on Drug Discovery**, United Kingdom, v. 13, n. 6, p. 497–507, mar. 2018.
- BIOESTAT. Versão 5.3. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, 2019. Disponível em: <<https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/>>. Acesso em: 07 nov. 2019.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diretriz Nacional para Elaboração de Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobianos em Serviços de Saúde**. Brasília, DF: ANVISA, 2017. 90 p.
- CABRAL, L. G.; MENESES, J. P.; PINTO, P. C. F.; FURTADO, G. H. C. Racionalização de antimicrobianos em ambiente hospitalar. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 59–63, jan-mar. 2018.
- CHAGAS, T. P. G. **Deteção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro**. 2011. 147 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.
- DIENSTMANN, R.; PICOLI, S. U.; MEYER, G.; SCHENKEL, T.; STEYER, J. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) em *Enterobacteriaceae* de ambiente hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1, p. 23–27, fev. 2010.
- DORIGONI, G. **Produção de  $\beta$ -lactamases em isolados clínicos de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos**. 2019. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.
- FERNANDES, L. C. **Perfil fenotípico e genético de Enterobactérias produtoras de carbapenemase do tipo KPC em um hospital de Goiânia**. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública) – Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.
- FERREIRA, K. L. A. **Avaliação do Perfil de Resistência de Cultura de Vigilância Epidemiológica para *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp* em um Serviço Hospitalar Universitário**. 2017. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biomedicina) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- GAEDICKE, F. L. **O controle de bactérias multirresistentes através do protocolo de Cultura de Vigilância**. 2018. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialista em

Microbiologia, Micologia e Virologia clínica.) – Academia de Ciências e Tecnologia, Curso de Especialização em Microbiologia, Micologia e Virologia Clínica, Campo Grande, 2018.

GAVRONSKI, S. **Investigação da resistência aos carbapenêmicos em Enterobactérias isoladas em um hospital de Blumenau/SC: detecção laboratorial e aspectos epidemiológicos.** 2017. 158 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

GEORGIOS, M.; EGKI, T.; EFFROSYNI, S. Phenotypic and Molecular Methods for the Detection of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram Negative Nosocomial Pathogens. In: Trends in Infectious Diseases: **Intech**, 23. ed. Croatia: Shailendra K. Saxena, 2014, p. 139-162.

IZAIAS, E. M.; DELLAROZA, M. S. G.; ROSSANEIS, M. A.; BELEI, R. A. Custo e caracterização de infecção hospitalar em idosos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Manguinhos, v. 19, n. 8, p. 3395–3402, ago. 2014.

LOMOVSKAYA, O.; BOSTIAN, K. A. Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic - A vision for applied use. **Biochemical Pharmacology**, Amsterdã, v. 71, n. 7, p. 910–918, 2006.

LOPES, P. M.; QUEIROZ, T. F. F.; RODRIGUES, F. C.; CASTRO, A. S. B. *Escherichia coli* como agente etiológico de infecções do trato urinário em pacientes do município de Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, p. 43–47, 2012.

LORENZONI, V. V. **Epidemiologia e investigação de mecanismos de resistência aos carbapenêmicos e polimixinas em bacilos Gram-negativos multirresistentes.** 2018. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMEYER, G.; LSSONLILJEQUIST, B.; PATERSON, D.L.; RIC, L.B.; STELLING, J.; STRUELENS, M.J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L.; Multidrug-resistant, extensively drugresistant 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, jul, 2012.

MARCHETTI, D. P. **Presença de bombas de efluxo em isolados clínicos e ambientais de *Acinetobacter* spp.** 2010. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MIRANDA, I. F.; DOS SANTOS, M. L.; OLIVEIRA, W. C. S.; OLIVEIRA, M. C. *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase do tipo KPC: disseminação mundial e situação atual no Brasil. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 113–119, dez-fev. 2018-2019.

MOAYEDNIA, R. SHOKRI, D.; MOBASHERIZADEH, S.; BARADARAN, A.; FATEMI, S. M.; MERRIKHI, A. Frequency assessment of  $\beta$ -lactamase enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in patients with urinary tract infection. **Journal of Research in Medical Sciences**, Isfahan, v. 19, n. 1, p. s41–s45, mar. 2014. Supplement 1.

MONTEIRO, A. R. P. **Resistência adquirida a quinolonas em *Enterobacteriaceae* isoladas de suiniculturas portuguesas**. 2011. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

MOREIRA, M. A. S.; FERREIRA, A. B.; TRINDADE, T. F. S. L.; REIS, A. L. O.; MORAES, C. A. Resistência a antimicrobianos dependente do sistema de efluxo multidrogas em *Escherichia coli* isoladas de leite mastítico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 6, p. 1307-1314, dez-jan. 2008.

MOREIRA, V. C.; FREIRE, D. *Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos. In: 6ª MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU DA PUC GOIÁS, 2011, Goiânia. **Artigos**. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2011. Disponível em:

<<http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/VANESSA%20CARVALHO%20MOREIRA.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2019.

MOREIRA, M. A. S.; RODRIGUES, P. P. C. F.; TOMAZ, R. S.; MORAES, C. A. Multidrug efflux systems in *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* obtained from wholesome broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, Brasil, v. 40, n. 2, p. 241–247, abr-jun, 2009.

MOSQUITO, S.; RUIZ, J.; BAUER, J. L.; OCHOA, T. J. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica em *Escherichia coli*. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, Lima, v. 28, n. 4, p. 648-656, out-dez. 2011.

MOTA, F. S.; OLIVEIRA, H. A.; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 3, p. 270-277, jul-set. 2018.

NODARI, C. S.; BARTH, A. L. Resistência a antimicrobianos em Enterobactérias: Foco em Carbapenemases. **Journal of Infection Control**, Santa Cruz do Sul, v. 5, n. 1, jan-mar. 2016. OLIVEIRA, A. C.; PAULA, A. O. Descalonamento de antimicrobiano e custos do tratamento de pacientes com infecção. **Revista Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 25, n. spe2, p. 68-74, jul. 2012.

OLIVEIRA, H. M.; SILVA, C. P. R.; LACERDA, R. A. Políticas de controle e prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde no Brasil: análise conceitual. **Revista da Escola de Enfermagem**, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 505–511, jun-jul. 2016.

PADILLA, E.; LLOBET, E.; DOMÉNECH-SÁNCHEZ, A.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; BENGOCHEA, J.A.; ALBERTÍ, S. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 54, n. 1, p. 177–183, jan. 2010.

PADRÃO, M. C.; MONTEIRO, M. L.; MACIEL, N. R.; VIANA, F. F. C. F.; FREITAS, N. A. Prevalência de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 125–8, mar-abr. 2010.

- PERNA, T. D. G. S.; PUIATTI, M. A.; PERNA, D. H.; PEREIRA, N. M. M.; COURI, M. G.; FERREIRA, C. M. D. Prevalência de infecção hospitalar pela bactéria do gênero *klebsiella* em uma Unidade de Terapia Intensiva. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 119–123, abr-jun. 2015.
- PINTO, F. M.; SIMAS, D. M.; BALDIN, C. P.; LIMBERGER, I. I.; SILVA, R. C. F.; ANTOCHEVIS, L. C.; VIEIRA, F. J.; RIBEIRO, V. B.; MAGAGNIN, C. M.; ROZALES, F. P.; FALCI, D. R. Prevalência de carbapenemases em Enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em quatro hospitais terciários de Porto Alegre. **Clinical & Biomedical Research**, Porto Alegre, v. 34, n. 1, p. 47–52, jan-mar. 2014.
- PULZOVA, L.; NAVRATILOVA, L.; COMOR, L. Alterations in Outer Membrane Permeability Favor Drug-Resistant Phenotype of *Klebsiella pneumoniae*. **Microbial Drug Resistance**, Nova York, v. 23, n. 4, p. 413–420, jun. 2017.
- RESTREPO, A. D. DEL C. F.; ARIAS, C. A. A. Resistencia a los antibióticos beta-lactámicos Carbapenems mediada por el gen blaKPC en *Klebsiella pneumoniae*. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, Bogotá, v. 6, n. 2, p. 109-118, jul-dez. 2015.
- ROSA, T. C. R. A. **Análise de aspectos epidemiológicos e clínicos e caracterização de genes de resistência das Enterobactérias produtoras de carbapenemases em um hospital do Distrito Federal**. 2014. 80 f. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) – Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília, Ceilândia, 2014.
- ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência Bacteriana** – Interpretando o Antibiograma. São Paulo: Atheneu, 2005, p. 66-67.
- SANTOS, A. L. **Perfil fenotípico e genotípico de Enterobactérias resistentes aos beta-lactâmicos**. 2018. 127 f. Dissertação (Mestrado em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) - Programa de Pós-graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.
- SAW, H. T. H.; WEBBER, M. A.; MUSHTAQ, S.; WOODFORD, N.; PIDDOCK, L. J. V. Inactivation or inhibition of AcrAB-TolC increases resistance of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* to carbapenems. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**: British Society for Antimicrobial Chemotherapy. United Kingdom, v. 71, p. 1510–1519, jun. 2016.
- SEIBERT, G.; HÖRNER, R.; MENEGHETTI, B. H.; RIGHI, R. A.; DAL FORNO, N. L. F.; SALLA, A. Infecções hospitalares por Enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em um hospital escola. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 282–286, jul-set. 2014.
- SILVA, T. V.; ESTEVES, D. C. INFECÇÃO HOSPITALAR : a emergência da *Klebsiella pneumoniae*. **Revista Conexão Eletrônica**, Três Lagoas, v. 14, n. 1. p. 92–101, jan-dez. 2017.
- SRINIVASAN, V. B.; RAJAMOHAN, G. KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 57, n. 9, p. 4449–4462, set. 2013.

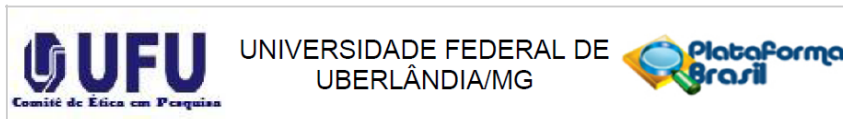
SRINIVASAN, V. B.; SINGH, B. B.; PRIYADARSHI, N.; CHAUHAN, N. K.; RAJAMOHAN, G. Role of novel multidrug efflux pump involved in drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 5, P. 1-10, maio, 2014.

VIEIRA, P. B.; PICOLI, S. U. *Acinetobacter baumannii* Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 19, n. 2, p. 151-156, abr-jun, 2015.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? **Uso Racional de Medicamentos: temas selecionados**, Brasília, v. 1, n. 4, mar. 2004.

YUAN, J.; XU, X.; GUO, Q.; ZHAO, X.; YE, X.; GUO, Y.; WANG, M. Prevalence of the oqxAB gene complex in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, United Kingdom, v. 67, n. 7, p. 1655–1659, jul. 2012.

## 8. ANEXO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EPIDEMIOLOGIA DE MICRORGANISMOS 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

#### Apresentação do Projeto:

Segundo apresenta o protocolo: "A emergência e a disseminação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos tem se tornado um problema comum de saúde pública em instituições de saúde. Além disso, o surgimento alarmante de bactérias multirresistentes pode conduzir a casos clínicos não tratáveis e ao aumento os custos, devido a necessidade de hospitalização prolongada e de uso de drogas mais caras. A epidemiologia auxilia a vigilância destes microrganismos no ambiente hospitalar, contribuindo para a determinação das fontes de contaminação, rastreamento das amostras pertencentes ao mesmo perfil fenotípico, genotípico e evolução das síndromes infecciosas, viabilizando assim a determinação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos epidêmicos ou endêmicos nos hospitais. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de microrganismos multirresistentes, bem como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, na etiopatogenia das infecções nas diferentes unidades de um hospital municipal na cidade de Uberlândia, MG.

Este estudo será realizado a partir das culturas bacterianas positivas e perfil de suscetibilidade e resistência aos antimicrobianos, além de pesquisa dos mecanismos de resistência das amostras de *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus spp.*; *Klebsiella pneumoniae* e outras Enterobactérias; *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Com este estudo espera-se propor

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

#### Situação do Parecer:

Aprovado

#### Necessita Apreciação da CONEP:

Não

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Data para entrega de Relatórios Parciais ao CEP/UFU: dezembro de 2014; dezembro de 2015; dezembro de 2016; dezembro de 2017.

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: dezembro de 2018.

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