



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS

INSTITUTO BIOMÉDICO - IB

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA - DMP

BACHARELADO EM BIOMEDICINA

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A EMERGÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE
Escherichia coli RESISTENTE AOS CARBAPENÊMICOS**

LANA CAROLINA ZAIRE ROMERO

RIO DE JANEIRO

2016

LANA CAROLINA ZAIRE ROMERO

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A EMERGÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE
Escherichia coli RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**

Monografia apresentada à Disciplina de Microbiologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como pré-requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carmen Soares de Meirelles Saramago

RIO DE JANEIRO

2016

LANA CAROLINA ZAIRE ROMERO
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A EMERGÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE
Escherichia coli **RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**

Monografia apresentada à Disciplina de Microbiologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como pré-requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em ___/___/___

Ronaldo Leão Guimarães

Prof. Dr. Agostinho Alves de Lima e Silva

Prof. Dra. Carmen Soares de Meirelles Saramago

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus amados pais, Jorge e Vera por todos os ensinamentos e apoio na realização dos meus sonhos, a quem devo a minha formação profissional e ética, pelo amor e por serem exemplos em tudo na minha vida. Aos meus irmãos pela grande parceria e apoio.

À minha querida avó, Maria José, por suas palavras sábias, por ensinamentos valiosos e por ser um exemplo de coragem para mim e toda minha família.

A toda a minha família, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando em todos os meus planos e decisões e por proporcionar grandes oportunidades e realizações.

Ao meu companheiro e namorado por todo o carinho e amor, por proporcionar os melhores momentos da minha vida e pela parceria, dividindo todo o meu empenho, aflições e entusiasmo quanto ao meu trabalho e profissão.

À Professora, Dra. Carmen Saramago, que aceitou o meu trabalho de braços abertos, pelo apoio, paciência, pelo olhar crítico e detalhista para com este trabalho. A todos os membros da banca por aceitarem meu convite.

Agradeço ao Professor Dr. Ângelo Malaquias, que além de conduzir a disciplina de Fisiologia foi meu Coordenador de curso; pela paciência, orientação, suporte e por acreditar em mim. À Coordenadora atual, Profa. Dra. Patrícia Costa pela compreensão e pela chance da minha vida.

Ao Professor Ronaldo Leão pelo empenho em me ajudar com as pesquisas em Microbiologia, à Dra Jussara Jasku pela orientação e a toda equipe do Laboratório Central de Patologia do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, por todos os ensinamentos práticos e teóricos em análises clínicas, contribuindo enormemente para minha formação profissional e tornaram o meu período de estágio muito agradável.

A todos os professores da UNIRIO, com os quais aprendi ensinamentos valiosos para minha vida profissional e ética. Agradeço aos professores e colegas que me guiaram na área da pesquisa em Microbiologia, aos professores do Departamento de Doenças Infecto-

Parasitárias (DIP) da Escola de Medicina e Cirurgia (EMC) que me inspiraram a seguir no campo da Infectologia e, por último, aos professores e colegas que me receberam como aluna e membro das Comissões de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH) com as quais venho trabalhando.

Aos meus amigos que mesmo sem podermos nos ver com a frequência que gostaríamos, sei que posso sempre contar com o apoio de vocês!

Aos meus colegas de trabalho, com os quais aprendo todos os dias, sendo orientadores e amigos, e que fazem parte do meu dia-a-dia.

A todos os funcionários da UNIRIO que fizeram parte de um período muito importante e decisivo na minha vida

À UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (UNIRIO), por ter possibilitado a mim, concluir o curso de Biomedicina de forma gratuita e com qualidade.

“Now, I have some reason to believe that this was the turning-point of my life, the tide that carried me on, not to fortune but to whatever reputation I have acquired, and which has certainly been to me a never-failing source of much health of body and supreme mental enjoyment”.

(Alfred Russel Wallace, 1905)

RESUMO

Bactérias Gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos, em especial as Enterobacteriaceae (ERC), têm papel de destaque no contexto das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Principalmente relatadas em setores críticos hospitalares, as infecções/colonizações por ERCs têm como fatores de risco as terapias antimicrobianas de amplo espectro e o envelhecimento da população em geral. Por serem frequentemente resistentes a quase todos os antimicrobianos disponíveis, representam um grande desafio terapêutico. Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho destinou-se ao estudo da emergência de mecanismos de resistência à classe de β -lactâmicos, mais especificamente aos carbapenêmicos, na espécie *Escherichia coli* e a sua distribuição global, comparando com dados brasileiros. Também foi objetivo do trabalho discutir os esquemas terapêuticos propostos para o tratamento de infecções causadas por *E. coli* resistente aos carbapenêmicos e as diretrizes para o controle das ERCs nos setores específicos.

Metodologia: Foi feita uma revisão bibliográfica narrativa por meio do levantamento da produção científica disponível, a fim de reunir informações relevantes para atender aos objetivos do presente estudo. Além da busca sistematizada por palavras-chave na base de dados do PubMed, grande parte da seleção da bibliografia utilizada consistiu em trabalhos científicos citados nos artigos inicialmente incluídos na pesquisa.

Resultados: No Brasil, dados da ANVISA (2014) demonstraram um perfil de resistência para *E. coli* com 26,7% de amostras resistentes a cefalosporinas e sensíveis aos carbapenêmicos e 6,3% de amostras resistentes a ambas as sub-classes de β -lactâmicos. A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é a carbapenemase mais encontrada em bactérias dos nosocômios brasileiros e distribuída globalmente. Outras carbapenemases de relevância clínica são as metalo- β -lactamases – M β LS – (VIM, IMP e NDM) e a oxacilinase-48 (OXA-48). Entretanto, esta última não é descrita no Brasil em *E. coli*. As enzimas KPC e M β LS, em *E. coli* têm ocorrência predominantemente hospitalar em indivíduos com comorbidades, enquanto que a OXA-48 apresenta importante prevalência em infecções comunitárias. Por ser uma bactéria comensal do intestino, a colonização por *E. coli* ERC é comum, sem a ocorrência de infecção, sendo frequentemente evidenciada sua presença por amostras de swab retal de vigilância.

Discussão: As infecções causadas por ERCs são particularmente importantes nos setores críticos hospitalares, uma vez que nestes locais a circulação dessas bactérias entre pacientes graves é frequente, geralmente estão relacionadas a surtos institucionais, ao aumento do tempo de internação e ao aumento da mortalidade, que varia de 24% a 70% dependendo do estudo. *E. coli* resistente aos carbapenêmicos é frequentemente resistente a todos os antimicrobianos disponíveis, exceto às polimixinas, à tigeciclina e variavelmente a alguns aminoglicosídeos e à fosfomicina, representando um grande desafio terapêutico.

Conclusão: A identificação de amostras ERCs por testes de triagem preconiza a aplicação de medidas rigorosas de controle de infecções, como precaução de contato e testagem de vigilância de pacientes colonizados. Num segundo momento, a caracterização do perfil de carbapenemases circulantes na instituição ou na região é fundamental para o estabelecimento de um perfil de suscetibilidade, abordagem terapêutica e prevenção de novos casos. No entanto, estudos feitos no Brasil são voltados majoritariamente para a pesquisa de KPC, o que dificulta uma avaliação detalhada do perfil de outras carbapenemases produzidas pelas amostras de *E. coli* resistentes aos carbapenêmicos isoladas em nosso país.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, resistência, carbapenêmicos, carbapenemases.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACT – β -lactamase derivada da AmpC

AIEC – *E. coli* Enteroinvasiva

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC[®] - *American Type Culture Collection*

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BIL – β -lactamase derivada da AmpC

CARBA NP – Carbapenemase Nordmann-Poirel

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CFA – Fatores Antigênicos de Colonização

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMY – β -lactamase originada de AmpC cromossomal

CTX-M – β -lactamase do grupo de ESBLs

CVC – Catéter Venoso Central

CVD – Catéter Vesical de Demora

DDT – *Disk-diffusion Test*

DDST – *Double-disk Synergy Test*

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

EAEC – *E. coli* Enteroagregativa

ECOFF – *Epidemiological Cut-off value*

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético.

EHEC – *E. coli* Enterohemorrágica

EPEC – *E. coli* Enteropatogênica

ERC – Enterobacteriaceae Resistente aos Carbapenêmicos

ESBL – β -Lactamase de Espectro Estendido

ETEC – *E. coli* Enterotoxigênica

EUCAST – *European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing*

FOX – β -lactamase derivada da AmpC

IMP - Imipenase

ITU – Infecção do Trato Urinário

KPC – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

LAT – β -lactamase derivada da AmpC

LPS - Lipopolissacarídeos

M β L – Metalo- β -lactamase
MDR – *Multiple Drugs Resistance*
MIR – β -lactamase derivada da AmpC
MLST – *Multi-locus Sequence Typing*
MOX – β -lactamase derivada da AmpC
MV – *Membrane derived vesicle*
NAG – N- acetilglicosamina
NAM – Ácido N-acetilmurâmico
NHSN – *National Health Safety Network*
PBP – Proteína de Ligação à Penicilina
PDR – *Pan-drug Resistance*
SHV – β -lactamase denominada *sulphydril variante*
ST – *Sequence Type*
TEM – β -lactamase nomeada após o paciente da qual foi isolada, *Temoniera*
MHT – Teste de Hodge Modificado
TGI – Trato Gastrintestinal
UPEC – *E. coli* Uropatogênica
UTI – Unidade de Terapia Intensiva
VIM – Verona integron encoded Metalo- β -lactamase

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos patogênicos de <i>Escherichia coli</i> de sítios intestinal e extra-intestinal.....	2
Tabela 2: Classificação das principais β -lactamases.....	12
Tabela 3: Classificação das principais famílias das carbapenemases presentes em <i>Escherichia coli</i> e outras enterobactérias.....	14
Tabela 4: Classes de antimicrobianos recomendados para tratamento empírico de ITUs.....	17
Tabela 5: Relatos de <i>Escherichia coli</i> produtoras de KPC.....	26
Tabela 6: Relatos de <i>Escherichia coli</i> produtoras de Metallo- β -lactamases com ação sobre carbapenêmicos.....	29
Tabela 7: Relatos de <i>Escherichia coli</i> produtoras de OXA-48.....	32
Tabela 8: Problemas apresentados por terapias antimicrobianas com polimixinas.....	41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Escherichia coli</i>	1
1.2 Importância Clínica e Epidemiológica.....	2
1.3 Terapia Antimicrobiana.....	3
1.3.1 Ação Geral dos Antimicrobianos.....	3
1.3.2 Classe de β -lactâmicos.....	5
1.4 Mecanismos de Resistência.....	9
1.4.1 β -lactamases.....	9
1.4.2 Carbapenemases.....	13
1.5 Fatores de Risco para a Colonização por <i>E. coli</i> Resistentes.....	16
1.6 Tratamento Antimicrobiano Empírico para ITUs causadas por <i>E. coli</i>	16
1.7 Medidas de Controle de IRAS causadas por ERCs.....	17
2. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	22
3. METODOLOGIA	22
4. RESULTADOS	23
4.1 Perfil de Resistência Atual em <i>Escherichia coli</i>	23
4.2 Emergência e Disseminação de Carbapenemases em <i>Escherichia coli</i>	24
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é um microrganismo ubiqüitário, sendo encontrado no meio ambiente, solo, água e como parte da microbiota intestinal, vivendo em simbiose com seus hospedeiros (animais e seres humanos) (KALITA; HU; TORRES, 2014).

São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, móveis por meio de flagelos peritríquios ou não móveis, com tamanho aproximado de 2.0 µm de comprimento e 0.25 a 1.0 µm de diâmetro. São capazes de crescer em ambas as condições, aeróbica e anaeróbica, e apresentam crescimento ótimo a 37°C. São bactérias catalase-positivas e oxidase-negativas, sendo capazes também de reduzir nitrato (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014; PHE, 2015).

Apesar de serem as enterobactérias predominantes da microbiota intestinal, comensais, uma série de amostras de *E. coli* desenvolveram diferentes fatores de patogenicidade que as tornam capazes de causar processos patológicos em seus hospedeiros. Alguns tipos patogênicos de *E. coli* causam infecções intestinais (enterite, diarreia e disenteria) por adesão e lesão do epitélio intestinal ou, ainda, por ação local de toxinas (enterotoxinas). Outros tipos são capazes de causar doenças extra-intestinais, dentre eles clones presentes na comunidade, frequentemente causadores de infecções do trato urinário (ITU) e relacionados a meningite em recém-nascidos (Tabela 1), mas também clones predominantemente hospitalares associados ao desenvolvimento de sepse de foco urinário e pulmonar (KALITA; HU; TORRES, 2014).

Linhagens patogênicas de *E. coli* apresentam fatores de aderência específicos que permitem a colonização de sítios distintos (intestino delgado e trato urinário) do seu nicho usual, o cólon de animais e seres humanos (KAPER; NATARRO; MOBLEY, 2004).

Tabela 1: Tipos patogênicos de *Escherichia coli* de sítios intestinal e extra-intestinal.

Classificação quanto ao sítio de adesão e mecanismo de patogenicidade	
<i>E. coli</i> Enteropatogênica Clássica (EPEC)	Mecanismo de adesão pela produção de Pili tipo IV e Intimina, e lesão epitelial por apagamento das microvilosidades, alterando o citoesqueleto dos enterócitos. Produção de enterotoxina específica. É causa frequente de diarreia fatal em crianças.
<i>E. coli</i> Enterohemorrágica (EHEC)	Mecanismo de adesão pela produção de Intimina e Fímbria LPF, causando lesão do epitélio intestinal semelhante à EPEC. Produção de toxina Shiga-like causando disenteria. Pode causar Síndrome hemolítico-urêmica.
<i>E. coli</i> Enterotoxigênica (ETEC)	Aderência ao epitélio por meio da produção de Fatores Antigênicos de Colonização (CFA). Produção de enterotoxinas termolábeis e/ou termo-estáveis, causando distúrbio osmótico no lúmen intestinal. É causa frequente de diarreia neonatal e "dos viajantes".
<i>E. coli</i> Enteroagregativa (EAEC)	Aderência ao epitélio por meio de Fímbrias específicas (AAFs) e Dispersina, formando uma camada espessa agregada de bactérias com produção de biofilme mucóide e enterotoxinas. É causa frequente de diarreia persistente em crianças e adultos.
<i>E. coli</i> Enteroinvasiva (AIEC)	Expressão da Pili 1, fímbria específica no processo de adesão do epitélio intestinal. A patogênese é similar a <i>Shigella spp.</i> , com invasão epitelial e multiplicação nos enterócitos e disseminação para células adjacentes. Também provoca a apoptose de macrófagos infectados, o que produz um processo inflamatório extenso, com destruição da camada submucosa.
<i>E. coli</i> Difusamente Aderente (DAEC)	Induz sinalização celular que provoca alterações na estrutura dos enterócitos que passam a emitir longas extensões da membrana envolvendo a bactéria aderida. Provoca a diminuição da atividade das microvilosidades e diminui a ação de enzimas da borda em escova.
<i>E. coli</i> Uropatogênica (UPEC)	Colonização periuretral, adesão ao epitélio uretral e ascensão do trato urinário até a bexiga onde coloniza por expressão da Fímbria tipo I e provoca apoptose e descamação do epitélio de transição com invasão da mucosa. <i>E. coli</i> causadora de pielonefrite é capaz de "desligar" a expressão da Fímbria Tipo I e produzir a Fímbria P, fator de adesão ao epitélio renal. Pode causar bacteremia por invasão do endotélio adjacente.
<i>E. coli</i> associada a meningite (MNEC)	Expressão da proteína K-1 de cápsula que permite a invasão da barreira hematoencefálica com produção de Fímbrias S que permitem a adesão às superfícies lúminais da microvasculatura cerebral. É a principal causa de meningite por bactéria Gram-negativa e está relacionada a altas taxas de mortalidade e sequelas neurológicas graves.

1.2 Importância Clínica e Epidemiológica

Escherichia coli, por ser uma bactéria constituinte da microbiota intestinal, é especialmente importante, pois dissemina-se facilmente por contato e contaminação das mãos, assim como por meio de alimentos e água contaminados. Está envolvida em uma variedade de infecções hospitalares e comunitárias em humanos, também por meio de infecção endógena de outros sítios anatômicos em indivíduos colonizados, como é o caso das infecções do trato urinário (ITU) (OTEO; PÉREZ-VÁZQUEZ; CAMPOS, 2010). Segundo CORREAL e outros (2014) as ITUs causadas por *E. coli* são as infecções mais prevalentes na população em geral, causam gastos substanciais ao serviço de saúde e são associadas a significantes taxas de morbimortalidade, particularmente em pacientes hospitalizados e com comorbidades prévias. Um estudo de vigilância realizado em hospitais americanos no período de 2009 a 2010 pela “National Healthcare Safety Network” (NHSN), do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) mostrou que *E. coli* foi o terceiro agente etiológico mais encontrado (11,5%) entre os 10 microrganismos mais frequentemente isolados de infecções hospitalares. (SIEVERT, 2013). Segundo dados da ANVISA (2014), *Escherichia coli* foi a sétima causa mais comum de infecção de corrente sanguínea primária (relacionada a catéter venoso central - CVC) em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) no Brasil.

São bactérias que possuem alta propensão à aquisição de material genético por transferência horizontal de genes plasmidiais e transposons, característica diretamente relacionada à rápida emergência e disseminação de clones multirresistentes em âmbito hospitalar e na comunidade (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012b).

1.3 Terapia Antimicrobiana

1.3.1 Ação geral dos antimicrobianos

Os antimicrobianos foram introduzidos para tratamento das infecções bacterianas por afetarem algum ponto particular do metabolismo ou da estrutura celular da bactéria. Eles são classificados pela sua ação específica em sistemas celulares e por sua capacidade de induzir morte celular (drogas bactericidas) ou apenas inibir o crescimento celular (drogas bacteriostáticas). Os principais mecanismos de ação dos antimicrobianos disponíveis são: (i) inibição da síntese protéica; (ii) inibição da síntese de ácidos nucleicos; (iii) alteração de vias metabólicas; (iv) alteração da permeabilidade da membrana externa, e (v) inibição da síntese da parede celular (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013).

Na síntese proteica atuam interrompendo o crescimento bacteriano por meio da inibição de diferentes etapas do processo de tradução do RNA-m em proteínas. Mais especificamente, atuam nas subunidades do ribossomo procarionte. A clidamicina, o cloranfenicol, macrolídeos e a linezolida atuam inibindo a subunidade ribossômica 50S, em sua maioria inibindo a catalização da ligação dipeptídica formada entre os aminoácidos transportados pelo RNA-t a essa subunidade do ribossomo, enquanto que os aminoglicosídeos, tetraciclina e glicilciclina (tigeciclina) atuam sobre a subunidade 30S, impedindo a ligação do complexo aminoacil-RNA-t (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013; WILSON, 2014).

As quinolonas são inibidores da síntese de DNA por atingirem complexos da enzima topoisomerase, mais especificamente da topoisomerase II (DNA girase) e da topoisomerase IV, enzimas responsáveis por regular a estabilidade da molécula de DNA durante seu processo de replicação. Uma vez ligadas às topoisomerases, formam um complexo estável com o DNA clivado que interrompe a replicação e portanto, o crescimento celular (ação bacteriostática), com posterior indução de apoptose celular (KOHANSKI; DWYER; COLLINS, 2010; SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013). Já a rifampicina atua inibindo o processo de transcrição do DNA em RNA-m por ligação ao sítio ativo da RNA-polimerase (CAMPBELL et al., 2001).

A alteração do metabolismo do ácido fólico é desempenhada por antimicrobianos derivados das sulfas, como a sulfadiazina e o sulfametoxazol-trimetoprim. Este último possui dois compostos que interferem com enzimas produtoras de precursores do ácido fólico, subsequentemente interferindo com a síntese de purinas e subsequentemente de ácidos nucleicos (FORD et al., 2014).

As polimixinas são polipeptídeos catiônicos que interagem eletrostaticamente com as membranas externa e interna de bactérias Gram-negativas. Seu mecanismo de ação ocorre por ligação aos lipopolissacarídeos (LPS) e fosfolipídeos das membranas, substituindo por cátions divalentes (Ca^{2+} e Mg^{2+}) os grupos fosfato dessas moléculas. Desse modo, desestabilizam a integridade da membrana, causando a ruptura de sua estrutura com aumento da permeabilidade para diversas moléculas, vazamento de material citoplasmático, lise e morte celular (BISWAS et al., 2012; MOHAMED et al., 2016).

Por último, o mecanismo de ação comum entre os β -lactâmicos e glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) é a inibição da síntese da parede celular bacteriana. A célula bacteriana é protegida da lise osmótica pela parede celular, composta por camadas de

peptidoglicano, polímero formado por cadeias paralelas de N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM), unidos por ligações β (1,4), com cadeias laterais de tetrapeptídeos ligados na NAM. Ligações cruzadas entre os tetrapeptídeos conferem rigidez a essa estrutura. A força mecânica da parede é fundamental à sobrevivência do microrganismo nas diversas condições ambientais que possam alterar a pressão osmótica. Por isso, o grau de ligações cruzadas da parede está diretamente ligado à integridade estrutural da célula. Uma vez que os β -lactâmicos (incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos) agem bloqueando essas ligações cruzadas, por inibição das transpeptidases ou proteínas de ligação à penicilina (PBPs), eles induzem a autólise bacteriana (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013; SUÁREZ & GUDIOL, 2009).

1.3.2 Classe de β -lactâmicos

Penicilinas

A descoberta da penicilina, substância bactericida, por Alexander Fleming em 1928 marcou a Era Moderna da Medicina (GEDDES, 2008; RAPP & URBAN, 2012). Sua utilização clínica começou em 1940, para tratar infecções causadas por cocos Gram-positivos (*Streptococcus* e *Staphylococcus*) que rotineiramente causavam bacteremias e subsequentemente óbitos por sepse (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013). Tais infecções eram frequentes em soldados durante a Primeira e a Segunda Guerras Mundiais, bem como entre mulheres no período puerperal e populações desnutridas (BENTLEY, 2009). Após seu sucesso terapêutico, um arsenal de derivados da penicilina natural foi desenvolvido, por meio de variação das cadeias laterais ligadas ao anel β -lactâmico (ácido 6-aminopenicilânico) (Figura 1). Dessa forma, foram obtidas penicilinas semi-sintéticas de amplo espectro, como as aminopenicilinas (ex., ampicilina, amoxicilina), com atividade contra bactérias Gram-negativas (RAPP & URBAN, 2012).

Cefalosporinas

As cefalosporinas, subdividas em 5 gerações, têm sua ação aumentada contra bactérias Gram-negativas ao longo dessas gerações. Atualmente, a 3ª geração de cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona e ceftazidima) é a subclasse de antimicrobianos mais utilizada em âmbito hospitalar, sendo frequentemente utilizada no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram negativas (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013; FONG & DRLICA, 2008).

Monobactâmico: Aztreonam

Diferentemente de outros β -lactâmicos, que têm pelo menos dois anéis aromáticos, os monobactâmicos são monocíclicos, apresentando somente cadeias laterais lineares ligadas ao anel β -lactâmico. O aztreonam possui ação exclusivamente contra bacilos Gram-negativos aeróbicos e, de acordo com a figura 1, essa diferença estrutural do aztreonam com uma cadeia extensa como radical (R) confere capacidade inibitória contra a ação hidrolítica de algumas β -lactamases (VANDAVASI et al., 2016).

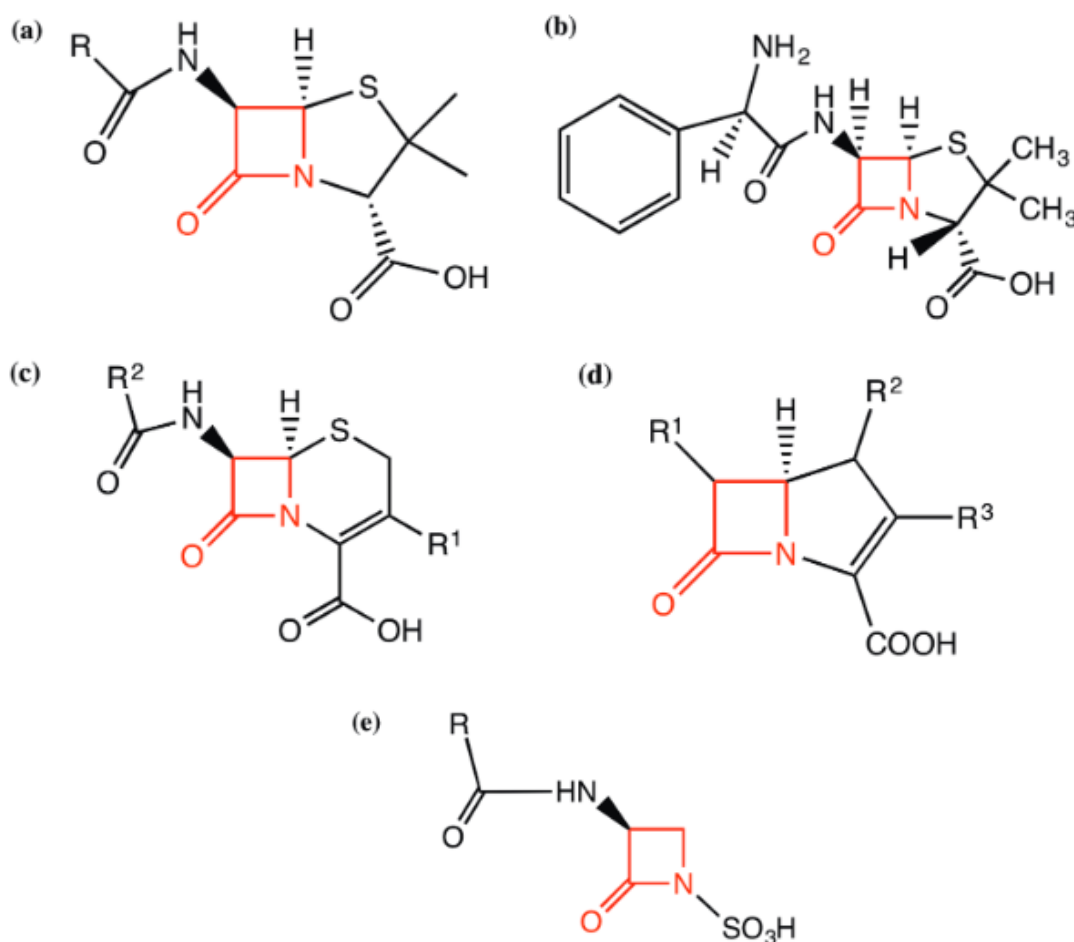
Inibidores de β -lactamases

Agentes inibidores de β -lactamases, como o ácido clavulânico, o tazobactam e o sulbactam, têm pouca atividade bactericida. Dessa maneira, são usados como drogas adjuvantes no tratamento com β -lactâmicos (amoxicilina/clavulanato, ampicilina/sulbactam e piperacilina/tazobactam) em infecções causadas por bactérias produtoras de β -lactamases de menor espectro de ação (CADTH, 2016).

Carbapenêmicos

Esses compostos, derivados desenvolvidos na década de 1980 a partir do antibiótico tienamicina produzido por *Streptomyces cattleya*, demonstraram atividade espetacular contra diversas espécies de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, e menor vulnerabilidade aos mecanismos de resistência bacteriana. Sua estrutura molecular única (Figura 1) confere estabilidade excepcional contra a ação das β -lactamases, inclusive contra as β -lactamases de espectro estendido (ESBL). Portanto, são consideradas drogas confiáveis e seguras no tratamento de infecções complicadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes (MDR) (MELETIS, 2016; RAPP & URBAN, 2012; SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013). Essa subclasse, ainda em expansão, pode ser dividida em dois grupos: (i) carbapenêmicos com atividade limitada contra Gram-negativos não-fermentadores (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*) – ertapenem; e (ii) carbapenêmicos com atividade contra os microrganismos supracitados e recomendados para o tratamento de infecções nosocomiais – imipenem, meropenem e doripenem (RAPP & URBAN, 2012). Algumas alterações estruturais específicas entre as outras subclasses de β -lactâmicos e a subclasse de carbapenêmicos ocorreram para oferecer maior estabilidade à molécula da droga frente a ação das β -lactamases. O primeiro e grande passo na síntese da estrutura dos carbapenemas foi

Figura 1: Fórmulas estruturais das diferentes subclasses de β -lactâmicos e estrutura do anel β -lactâmico.



(a) estrutura comum das penicilinas, (b) estrutura comum da ampicilina, antibiótico de maior espectro da subclasse das penicilinas, (c) estrutura comum das cefalosporinas, (d) estrutura comum dos carbapenêmicos, e (e) estrutura comum dos monobactâmicos.

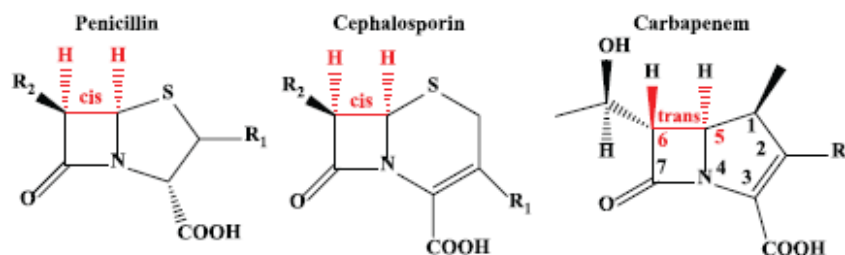
○ anel β -lactâmico está marcado em vermelho em todas as estruturas.

Fonte: LEE et al. (2016)

dado por meio da adição de um grupo metil ($-\text{CH}_3$) ao carbono 1 (C1). Similarmente, a adição de uma cadeia lateral (R_2), constituída por um grupo hidroxietil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) na posição C8, conferiu menor atividade hidrolítica de β -lactamases sobre sua estrutura. Outra importante substituição que conferiu maior espectro de ação à essa subclasse foi a de uma cadeia lateral (R_1) na posição C2. A estrutura entre os diferentes compostos é comumente dada pelas diferentes cadeias laterais R_1 e R_2 (Figura 2) (PAPP-WALLACE et al., 2011).

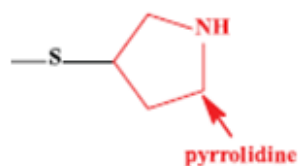
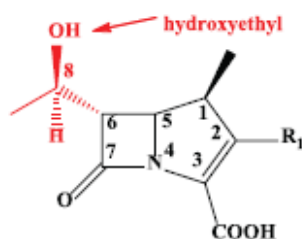
Figura 2: Estrutura dos carbapenêmicos e suas cadeias laterais.

Configuração estrutural isomérica do anel β -lactâmico entre C5 e C6 de cis para trans

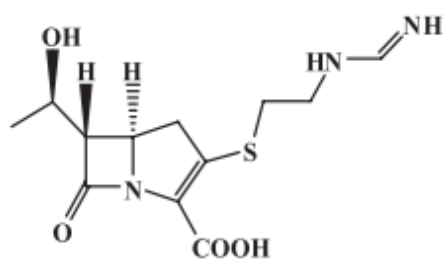


C8 - Grupo hidroxiethyl (R2)

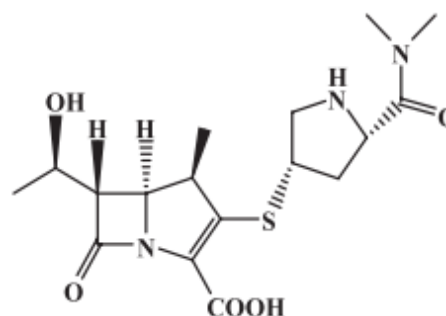
R1 - Anel de pirrolidina



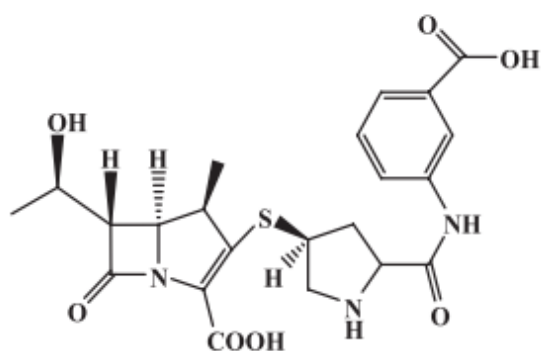
Diferentes compostos da subclasse dos carbapenêmicos



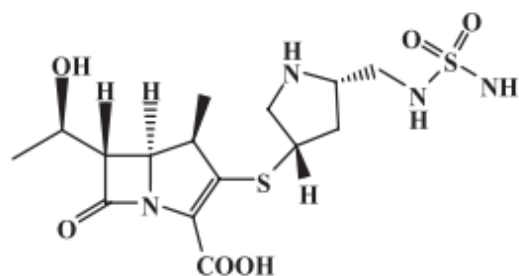
Imipenem



Meropenem



Ertapenem



Doripenem

Adaptado de PAPP-WALLACE et al. (2011)

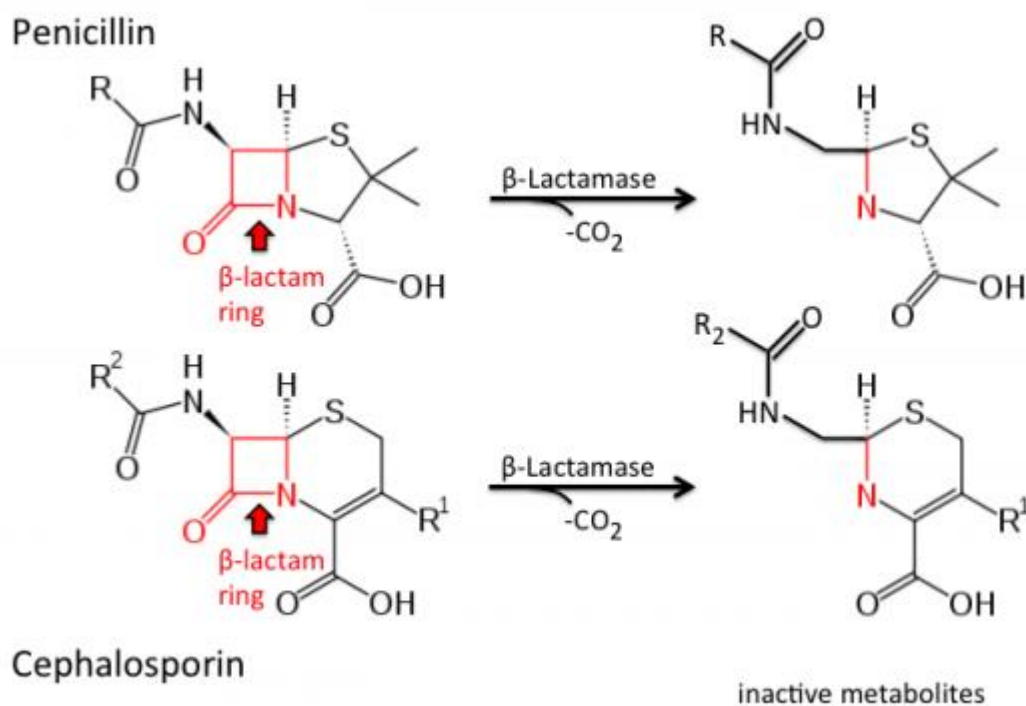
1.4 Mecanismos de Resistência

As bactérias dispõem de diferentes mecanismos para resistir à ação de antimicrobianos, como a expulsão dessas substâncias por bombas de efluxo presentes na membrana, redução da permeabilidade da membrana externa por expressão deficitária de porinas específicas, inativação desses agentes por enzimas que degradam ou modificam a sua estrutura e alteração da estrutura de moléculas-alvo, como no caso de resistência às polimixinas por modificação do LPS e no caso dos β -lactâmicos por alteração do sítio de ligação das transpeptidases (BISWAS et al., 2012; SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013).

1.4.1 β -lactamases

A produção de β -lactamases é o mecanismo de resistência a β -lactâmicos mais comum em bactérias Gram-negativas (SALABI; WALSH; CHOUCANI, 2013). Esse grupo de enzimas, composto por diversas famílias e suas variantes, catalisa a hidrólise da ligação entre o átomo de nitrogênio e o grupo carbonila do anel β -lactâmico, com a quebra do anel e consequentemente inativação irreversível do antimicrobiano (Figura 2) (LEE et al., 2016).

Figura 3: Representação do mecanismo de hidrólise do anel β -lactâmico, por meio da ação de β -lactamases.



Fonte: TULANE UNIVERSITY [Internet] (2015).

Um grande número de β -lactamases era produzido antes mesmo da disponibilidade clínica da penicilina por bactérias no meio ambiente assim como, no Trato Gastro-Intestinal (TGI) humano. Ao longo da introdução de novas subclasses de β -lactâmicos, os genes para estas enzimas foram sendo selecionados e transmitidos horizontalmente entre microrganismos patogênicos (ABRAHAM & CHAIN, 1940; LEE et al., 2016). Como a maioria dessas enzimas compartilha um sítio ativo de serina e lisina (Ser-XX-Lys) com as PBPs, há a hipótese de que as serina β -lactamases teriam se desenvolvido a partir de PBPs, como um mecanismo de proteção contra a ação da penicilina e outros β -lactâmicos produzidos por microrganismos fúngicos do meio ambiente (GHUYSEN, 1991).

Há dois tipos principais de classificação das β -lactamases: (i) a proposta por Ambler (TAVARES, 2014; TZOUVELEKIS, 2012) que se baseia na constituição sequencial de aminoácidos, analisando-se o grau de homologia entre as diferentes famílias de enzimas (classe A à classe D) e (ii) a proposta por Bush-Jacoby-Medeiros (BUSH & JACOBY, 2010) que se baseia no tipo de substratos e inibidores dessas enzimas (Tabela 2). De maneira geral, de acordo com o substrato, as β -lactamases podem ser divididas em: penicilinases, cefalosporinases, ESBLs e carbapenemases (PITOUT, 2010).

Em bactérias Gram-negativas, a ocorrência de resistência mediada por β -lactamases não só está associada a genes de resistência constitutivos, portanto cromossomais, usualmente envolvidos em mecanismos de resistência a antibióticos produzidos no meio, como também está associada a genes plasmidiais, sendo os últimos predominantemente envolvidos na disseminação destes mecanismos entre bactérias (COCULESCO, 2009; PITOUT, 2010). A disseminação por transferência horizontal de genes em plasmídeos e transposons está principalmente associada às famílias CTX-M, metalo- β -lactamases (M β L) e serina-carbapenemases, como as *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemases (KPC) e as Oxacilinases (OXA) (PITOUT, 2010).

A primeira β -lactamase, mediada por plasmídeo, TEM-1 (Tabela 2) foi descrita no início da década de 60, numa cepa de *Escherichia coli* isolada de um paciente na Grécia (DATTA & KONTOMICHALOU, 1965¹, apud FONG & DRLICA, 2008). Posteriormente, TEM-1 disseminou-se globalmente, sendo encontrada em várias espécies de Enterobacteriaceae, além de espécies como *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*. Uma segunda penicilinase

¹ DATTA, N.; KONTOMICHALOU, P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* v. 208, n. 5007, p. 239–41, 1965.

descrita em *K. pneumoniae* foi a SHV-1 (*sulphydryl variant 1*) (BUSH, 2008). Entretanto, atividade sobre novos β -lactâmicos só foi observada a partir de sua variante SHV-2 (KLIEBE, 1985). A emergência de Enterobacteriaceae produtoras de β -lactamases de espectro estendido (E-ESBL) no início da década de 80, marcou o uso disseminado das oximino-cefalosporinas (cefalosporinas de 3ª geração) bem como do aztreonam. Similarmente, na mesma década, com o uso de inibidores de β -lactamases em associação aos β -lactâmicos, novas enzimas do tipo TEM (BERMUDES et al., 1999), resistentes a esses inibidores, surgiram. As ESBLs são geralmente enzimas derivadas das famílias TEM e SHV, pertencendo aos grupos, molecular A e funcional 2be (Tabela 2). As variantes TEM e SHV de espectro estendido são principalmente encontradas em *E. coli* e *K. pneumoniae*. Uma nova classe de ESBLs com ação hidrolítica preferencial sobre a cefotaxima, a família CTX-M, modificou a epidemiologia das bactérias produtoras de ESBLs, até então restritas às infecções hospitalares. Especificamente a variante CTX-M-15, encontrada em *E. coli* ST131, causadora de infecções comunitárias com espectro de doença equivalente a *E. coli* uropatogênicas (causando de cistite a sepse), é considerada pandêmica (RAZAZI et al., 2012; ROGERS; SIDJABAT; PATERSON, 2010). Além de sua ação sobre a cefotaxima, essas enzimas são inibidas mais facilmente pelo tazobactam que outros inibidores de β -lactamases. Apesar de, na tabela 2, a CTX-M-44 estar no conjunto de ESBLs com ação sobre os monobactâmicos, segundo VANDAVASI e outros (2016), o aztreonam não atua sobre essa variante específica.

Seguindo a tendência de aquisição de resistência pela pressão seletiva exercida pelo meio, a década de 90 foi marcada pela disseminação de β -lactamases AmpC cromossomiais (Tabela 2) originárias de *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *P. aeruginosa* e *Hafnei alvei*, com atividade hidrolítica sobre cefalosporinas e cefamicinas (cefexitina). Nestes gêneros, a presença da AmpC é intrínseca e expressa em baixos níveis, devido aos genes reguladores (*ampR* e *ampD*) geralmente presentes. Entretanto, dois fenômenos surgiram com uso disseminado de cefalosporinas de 3ª geração: (i) seleção de linhagens de bactérias com inibição constitucional da repressão imposta pelo gene *ampD* sobre a indução do gene *ampR*, sendo assim, capazes de expressar a AmpC em alto grau e (ii) mutação dos genes de AmpC cromossomiais codificando enzimas similares que, em grande parte, passaram a ser codificados por genes plasmidiais (BRADFORD et al., 1997). Como exemplos de enzimas originárias da AmpC estão: ACT-1 e MIR-1 (de *Enterobacter cloacae*); BIL-1, CMY-1 a -5 e LAT-1 a -4 (de *C. freundii*); e por último, CMY-1, MOX-1 e FOX-1 a -4 (de *P. aeruginosa*) (BRADFORD et al., 1997; FONG & DRLICA, 2008; JACOBY & TRAN, 1999).

Tabela 2: Classificação das principais β -lactamases.

Grupo Funcional (Bush- Jacoby)	Classe Molecular (Ambler)	β -lactamases	Características
1	C	AmpC de <i>P.aeruginosa</i> e <i>E.coli</i> ; CMY-2, FOX-1, MIR-1	Enzimas cromossômicas e plasmidiais produzidas por bactérias Gram-negativas. Ação aumentada sobre cefalosporinas, benzilpenicilinas e cefamicinas. Não são inibidas por ácido clavulânico e tazobactam, exceto a CMY-2 e variantes que podem ser inibidas pelo tazobactam.
2b	A	SHV-1, TEM-1, TEM-2, TEM-90	Enzimas que possuem hidrólise eficiente e similar de penicilinas e cefalosporinas de primeira geração, inibidas por ácido clavulânico e tazobactam.
2be	A	ESBLs: CTX-M-15, CTXM- 44, PER-1, SFO-1, SHV-5, TEM-10, TEM-26	Atividade hidrolítica aumentada sobre oximino-cefalosporinas, cefepime e monobactâmicos.
2br	A	TEM-30, TEM-76, TEM-103, SHV-10, SHV-26	Enzimas que possuem hidrólise eficiente de penicilinas e cefalosporinas de primeira geração. Os inibidores de β -lactamases não têm ação sobre essas enzimas.
2br	A	TEM-50, TEM-68, TEM-89	Hidrólise aumentada sobre oximino-cefalosporinas combinada com ação contra os inibidores de β -lactamases.

Adaptado de TAVARES (2014)

No início da década de 90, β -lactamases capazes de hidrolizar carbapenêmicos, mais especificamente Imipenases (IMP), foram relatadas entre microrganismos essencialmente nosocomiais como *P. aeruginosa* (WATANABE et al., 1991) e *Serratia marscescens* (ITO et al., 1995), e posteriormente, em 1999, emergindo na espécie *Klebsiella pneumoniae*. (KOH et al., 1999). Assim, no início do século XXI, começamos a testemunhar uma crise global sem precedentes relacionada à rápida disseminação de cepas bacterianas resistentes aos carbapenêmicos, última linha de antimicrobianos disponíveis contra Gram-negativos multirresistentes. Mais tarde, outras espécies de enterobactérias, como *Escherichia coli*, começaram a expressar genes para carbapenemases, inicialmente de forma restrita ao ambiente nosocomial, porém com uma representatividade muito preocupante, uma vez que trata-se de uma bactéria comensal intestinal (FONG & DRLICA, 2008; RAPP & URBAN, 2012; TZOUVELEKIS, 2012).

Em Enterobacteriaceae, resistência aos carbapenêmicos surge por diferentes mecanismos: (i) aquisição de genes que codificam as carbapenemases, enzimas com capacidade hidrolítica total ou parcial sobre os carbapenêmicos, (ii) diminuição da permeabilidade da membrana externa à droga, por deficiências qualitativa ou quantitativa da expressão de certas porinas e concomitante expressão de β -lactamases Amp C ou CTX-M que têm baixo grau de atividade sobre os carbapenêmicos (CORNAGLIA et al., 1992; STAPLETON; SHANNON; FRENCH, 1999), (iii) expulsão ativa dos carbapenêmicos do espaço periplasmático por meio de bombas

de efluxo, normalmente relacionadas à resistência a diversas classes de antimicrobianos (MELETIS, 2016), e (iv) alteração estrutural do sítio de ligação das PBPs aos carbapenêmicos, impossibilitando a ação dessas drogas. (YIGIT et al., 2001). As amostras que apresentam os mecanismos (ii) e (iii) têm menor importância epidemiológica, uma vez que respondem satisfatoriamente bem aos esquemas terapêuticos administrados, com aumento da concentração terapêutica ou associação antimicrobiana. Entretanto quando esses mecanismos estão associados à produção de carbapenemases, a amostra bacteriana apresenta resistência a altas concentrações dessas drogas (CIM>32µg/mL) (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012b; SHRESTHA et al., 2015).

1.4.2 Carbapenemases

O mecanismo de produção das carbapenemases é particularmente importante, pois em alguns casos promove resistência de alta eficácia, já que algumas carbapenemases podem apresentar atividade hidrolítica não só aos carbapenêmicos como também a todas as subclasses de β -lactâmicos de menor espectro (penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas e monobactâmicos) (MELETIS, 2016).

Segundo a classificação de Ambler, algumas famílias de β -lactamases das classes A, B e D possuem atividade contra os carbapenêmicos. As famílias de carbapenemases mais frequentes em amostras clínicas de Enterobacteriaceae, são as da classe A de Ambler do tipo KPC e as da classe B do tipo metalo- β -lactamases dependentes de zinco, representadas pelas famílias VIM, IMP e NDM. A OXA-48, carbapenemase da classe D de Ambler, também é descrita em diferentes espécies de enterobactérias (MELETIS, 2016; TZOUVELEKIS et al., 2012).

***Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)**

A família KPC (Tabela 3) é a de maior importância clínica entre as carbapenemases da classe A de Ambler. Inicialmente descrita em 1996 nos Estados Unidos (YIGIT et al., 2001), em *K. pneumoniae*, importante patógeno nosocomial, exibe atividade enzimática sobre penicilinas, todas as gerações de cefalosporinas, com exceção das cefamicinas, sobre o aztreonam e, de forma variável, sobre os diferentes carbapenêmicos. Um número crescente de variantes tem sido descrito, mas a KPC-2 é a carbapenemase mais isolada globalmente. Na América Latina, é endêmica de países vizinhos do Brasil, como Colômbia e Argentina (NORDMANN & POIREL, 2014; POTRON et al., 2011a).

No Brasil, a KPC foi primeiramente descrita no Recife em 2006, em amostra de *K. pneumoniae* também produtora de outras β -lactamases, como a TEM-1, CTX-M-2 e a SHV-11 (MONTEIRO et al., 2009). Apesar de ter sido descrita somente em 2006, um estudo retrospectivo, demonstrou que pelo menos desde 2005 ERCs produtoras de KPC já estavam presentes nos hospitais brasileiros (PAVEZ & MAMIZUKA, 2009).

Comparativamente às famílias ESBL, as KPCs apresentam melhor acomodação dos sítios catalíticos às estruturas dos carbapenêmicos, facilitando os passos de degradação desses antimicrobianos. Alguns estudos relatam a ocorrência de genes *bla*_{KPC} juntamente com a diminuição da expressão de porinas, aumentando a resistência aos carbapenêmicos—nessas cepas de *K. pneumoniae* (TZOUVELEKIS et al., 2012).

Tabela 3: Classificação das principais famílias das carbapenemases presentes em *Escherichia coli* e outras enterobactérias.

Classe de Ambler	Grupo de Bush-Jacoby	Tipo	Variantes	Características	Espécies
A	2f	KPC	KPC-2 a KPC-13	Atividade aumentada contra carbapenêmicos, cefas. de 3a geração e cefamicinas	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>C. freundii</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Raultella</i> spp.
B (B1)	3a	VIM	VIM-1, -2, -4, -5, -6	Espectro estendido de ação incluindo carbapenêmicos, exceto monobactâmicos	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i>
B (B1)	3a	IMP	IMP-1, -3, -4, -6, -8	Espectro estendido de ação incluindo carbapenêmicos, exceto monobactâmicos	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>S. marcescens</i>
B (B1)	3a	NDM	NDM-1, -4, -5, -6	Espectro estendido de ação incluindo carbapenêmicos, exceto monobactâmicos	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>K. oxytoca</i> , <i>C. freundii</i> , <i>M. morgani</i> , <i>Providencia</i> spp.
D	2df	OXA	OXA-48, -163, -181	Hidrolizam cloxacilina ou oxacilina e carbapenêmicos	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. freundii</i> , <i>P. mirabilis</i>

Adaptado de BUSH & JACOBY (2010); TZOUVELEKIS et al. (2012).

Metalo- β -Lactamases (M β L)

A classe B de Ambler é constituída por metalo- β -lactamases (Tabela 3), com diversas variantes que compartilham três propriedades específicas: (i) capacidade de hidrolizar carbapenêmicos, com diferentes eficácias entre as drogas; (ii) resistência aos inibidores de β -lactamases e (iii) atividade dependente de Zn^{2+} com suscetibilidade a agentes quelantes, como o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Seu mecanismo de ação depende de cátions

divalentes, principalmente o zinco (Zn^{2+}), para que ocorra o ataque nucleofílico do anel β -lactâmico (TZOUVELEKIS et al., 2012).

Das famílias de enzimas representadas pela subclasse B1, as variantes de VIM (*Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase*), IMP (imipenemase) e NDM (*New-Delhi metallo-beta-lactamase*) são encontradas em enterobactérias. São carbapenemases que possuem ação semelhante às KPCs, exceto por sua inatividade contra os monobactâmicos, pois se ligam com baixa afinidade a esses fármacos (TZOUVELEKIS et al., 2012).

O primeiro relato de *Escherichia coli* produtora de NDM (portadora do gene *bla_{NDM-1}*) no Brasil, ocorreu no Rio de Janeiro em 2013. Foi detectada a colonização de uma paciente pediátrica portadora de leucemia linfocítica aguda, com histórico de internações em mais de um serviço de saúde. Também foi detectada a presença de *Enterobacter cloacae* com o mesmo mecanismo de resistência (ANVISA, 2013a).

Oxacilinas

Esta família de β -lactamases da classe D (Tabela 3) apresenta mais de 400 variantes, dentre as quais somente algumas possuem atividade sobre carbapenêmicos, mais especificamente as variantes OXA-48, OXA-181 e OXA-163. Ainda que apresentem atividade hidrolítica, esta é fraca, conferido suscetibilidade diminuída a um ou mais carbapenêmicos (CIMs ligeiramente aumentadas). Além disso, com exceção da OXA-163, não hidrolizam cefalosporinas de espectro estendido (3ª e 4ª gerações). Dessa maneira, alta resistência aos carbapenêmicos é conferida somente com a aquisição de mecanismos de deficiência na expressão de porinas. As oxacilinas atuam nos carbapenêmicos por rotação do grupo α -hidroxietila no sítio ativo, de maneira a possibilitar a quebra da estrutura e acilação pela água do resíduo de serina. A OXA-48, primeiramente descrita em 2003, em *K. pneumoniae* isolada de um paciente na Turquia (POIREL et al., 2004) é a OXA- carbapenemase mais relatada mundialmente. A OXA-181, descrita na Índia (POTRON et al., 2011b), é uma variante com atividade hidrolítica semelhante à OXA-48, entretanto não estão relacionadas no que diz respeito à disseminação, uma vez que apresentam sequências estruturalmente muito distintas ao redor de seus genes. Em testes de suscetibilidade, promovem CIMs discretamente aumentadas para carbapenêmicos, o que torna difícil sua identificação. A disseminação da OXA-48 tem sido descrita principalmente na Turquia (AKTAS et al., 2008; CARRÈR et al., 2008; GÜLMEZ et al., 2008), Norte da África (POIREL; POTRON; NORDMANN, 2012) e Oriente Médio (MATAR et al., 2010), com relatos de surtos na Europa (POTRON et al., 2011c) e casos

esporádicos no Senegal (MOCQUET et al., 2011), na África do Sul (BRINK et al., 2013) e mais raramente nas Américas (LASCOLS et al., 2013). As espécies mais frequentemente envolvidas são *K. pneumoniae*, *E. cloacae* e com menor frequência *E. coli*, *Citrobacter freundii* (NORDMANN & POIREL, 2014; TÄNGDÉN & GISKE, 2015; TZOUVELEKIS et al., 2012).

1.5 Fatores de Risco para a Colonização por *E. coli* Resistentes

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), causadas por Enterobacteriaceae, ocorrem, em sua maioria, em caráter endógeno. Bactérias pertencentes à microbiota intestinal do indivíduo (colonização) produzem infecções devido ao estado de comprometimento orgânico e imunitário, e ao uso de dispositivos invasivos (catéteres) nos pacientes internados em UTIs (LASTOURS *et. al.*, 2010).

Dentre os fatores de risco listados para aquisição de *E. coli* multirresistentes (MDR) estão: idade, internação hospitalar e/ou uso de antimicrobianos nos últimos 3 meses, internação em UTI, uso de catéter vesical de demora (CVD), afecções do trato urinário, como bexiga neurogênica, insuficiência renal crônica e transplante renal prévio (CORREAL et al., 2014).

Descritas como “fábricas de criação, disseminação e amplificação” de bactérias multirresistentes por Carlet e outros (tradução nossa, 2004), as Unidades de Terapia Intensiva são ambientes do nosocômio em que a maioria dos pacientes recebe antibioticoterapia combinada e de amplo espectro, proporcionando pressão seletiva essencial à emergência de clones MDR. Outro fator que contribui para o aumento da resistência aos antibióticos nesse local é a idade crescente da população internada em UTIs, frequentemente população geriátrica residente de asilos, que apresenta recorrência de infecções e exposição recente às cefalosporinas e outros antimicrobianos (FONG & DRLICA, 2008).

1.6 Tratamento Antimicrobiano Empírico para ITUs causadas por *E. coli*

Um guia de terapia antimicrobiana empírica foi proposto por CORREAL et al. (2014) para ITUs causadas por *E. coli*, considerando um perfil de resistência < 10% para todos os antimicrobianos testados nas amostras (Tabela 4).

Tabela 4: Classes de antimicrobianos recomendados para tratamento empírico de ITUs causadas por *E. coli*, em UTIs.

Oral	Intravenoso	Intramuscular
	Infecções Comunitárias	
Nitrofurantoína	Cefepime ou Amoxicilina/Ác. Clavulânico	Amicacina**
Amoxicilina/ Ácido Clavulânico	Amicacina**	Gentamicina**
-	Aztreonam	-
-	Ceftazidima ou Cefotaxima;	-
	Piperacilina/Tazobactam ou Carbapenêmicos*	
	Infecções Hospitalares	
Nitrofurantoína	Piperacilina/Tazobactam	Gentamicina**
Amoxicilina/ Ácido Clavulânico	Gentamicina**	Amicacina**
Ampicilina/Sulbactam	Aztreonam	-
Fosfomicina	Ceftazidima; Carbapenêmicos*	-

* Recomendados somente em casos de falha terapêutica; ** Não recomendados em pacientes com Doença Renal Crônica, Insuf. Renal ou Transplante Renal.

Adaptado de CORREAL et al. (2014)

Apesar das baixas taxas de resistência à piperacilina/tazobactam tanto em amostras de *E. coli* hospitalares como comunitárias, não é recomendado o uso dessa associação antimicrobiana para tratamento de infecções comunitárias para que seja um agente reservado aos casos de falha terapêutica e de resistência. Em associação com a gentamicina, a piperacilina/tazobactam é uma eficiente opção empírica quando empregada em ITUs hospitalares causadas por *E. coli* (CORREAL et al., 2014).

Baseado no perfil de resistência exposto no estudo de CORREAL e outros (2014), nitrofurantoína e amoxicilina/clavulanato podem ser opções terapêuticas efetivas na abordagem de ITU comunitária, uma vez que os isolados apresentaram 5.1% e 7.2% de resistência, respectivamente.

1.7 Medidas de Controle de IRAS causadas por ERCs

Segundo TÄNGDÉN & GISKE (2015) os centros de saúde de maior complexidade, que disponham de setores críticos de internação (UTI e Unidades Intermediárias), devem seguir diretrizes de controle de infecções elaboradas por centros de referência, como o CDC e de valores de referência em testes de suscetibilidade, como o do *European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) ou do *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI), para a criação de um protocolo local.

As Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos (ERCs) são definidas pelo CDC (2015) como sendo: (i) resistentes a qualquer carbapenêmico (com CIM $\geq 4\mu\text{g/mL}$ para doripenem, meropenem e imipenem, ou CIM $\geq 2\mu\text{g/mL}$ para ertapenem) ou (ii) comprovadamente produtoras de uma carbapenemase. Entretanto, os pontos de corte pelo CLSI (2012) para imipenem e meropenem são de suscetibilidade $<1\ \mu\text{g/mL}$ e resistência $>4\ \mu\text{g/mL}$, e para ertapenem, susceptibilidade $<0.25\ \mu\text{g/mL}$ e resistência $> \mu\text{g/mL}$.

Além disso, segundo o EUCAST (2016), os pontos de corte epidemiológicos (ECOFF) que indicam a presença de mecanismos de resistência aos carbapenêmicos em *Escherichia coli* são: CIM $> 0,125\mu\text{g/mL}$ para doripenem e meropenem, CIM $> 0,064\mu\text{g/mL}$ para ertapenem e CIM $> 0,5\mu\text{g/mL}$ para imipenem.

Para as enterobactérias intrinsecamente não suscetíveis ao imipenem (*Morganella morganii*, *Proteus spp.* e *Providencia spp.*) resistência a outro carbapenêmico que não seja o imipenem é necessária para considerá-las ERCs.

O CDC (2015) recomenda que os centros de saúde de alta complexidade devam, por meio da Comissão de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH), reconhecer as ERCs como bactérias epidemiologicamente importantes. Em seguida, quantificar a prevalência dessas bactérias na instituição e obter informações epidemiológicas regionais para que em um segundo momento identifiquem os pacientes colonizados/infectados por ERCs e implementem medidas capazes de controlar a transmissão dessas bactérias nos diversos setores da instituição.

É importante que as instituições identifiquem as bactérias produtoras de carbapenemases, dentre as ERCs, atuando no controle de sua disseminação. Entretanto, essas bactérias são de difícil caracterização em testes fenotípicos. É preciso estabelecer padrões de sensibilidade em testes fenotípicos para a diferenciação entre as ERCs produtoras de carbapenemases e as não produtoras destas enzimas. E, se possível, também predizer o tipo de carbapenemase produzida somente pelo padrão de sensibilidade. O Teste de Hodge Modificado (MHT) é muito utilizado em instituições americanas para triagem de amostras resistentes aos carbapenêmicos, apresentando boa sensibilidade para ERCs produtoras de KPC (CDC, 2015).

O EUCAST e o CLSI recomendam que sejam estabelecidos valores de corte para resistência e suscetibilidade em cada instituição. Além disso, o EUCAST dispõe de ECOFFs, valores de corte baseados na epidemiologia das espécies, para determinar isolados sem mecanismos de resistência (selvagens) e isolados que adquiriram resistência às drogas testadas. Segundo o

CLSI, que não definiu ECOFFs, as instituições devem selecionar isolados para testes mais apurados, inclusive genotípicos, que demonstrem nos testes fenotípicos suscetibilidade diminuída ou resistência a pelo menos um carbapenêmico e resistência às cefalosporinas de 3ª geração. O ertapenem é um bom marcador para identificação de amostras produtoras de carbapenemases (EUCAST, 2013; TZOUVELEKIS et al., 2012).

Alguns testes de suscetibilidade mais frequentemente utilizados para triagem de amostras de ERCs produtoras de carbapenemases, além do sistema automatizado e do teste de disco-difusão, são:

(i) o Etest[®] que consiste na utilização de fitas graduadas impregnadas com concentrações crescentes do antimicrobiano de escolha (no caso, carbapenêmicos). Essas fitas igualmente aos discos de antimicrobianos são colocadas sobre o meio de cultura inoculado pela amostra obtida (ANVISA, 2016).

(ii) o Teste de Hodge Modificado (MHT) que consiste na utilização de três amostras conhecidas, sendo duas de *K. pneumoniae*, uma negativa e outra positiva para a produção de KPC, e uma de *E. coli* ATCC[®] sensível e inoculada em todo o meio de cultura. Além de um disco de meropenem ou ertapenem no meio da placa de petri e a amostra clínica a ser testada; os outros isolados são inoculados em faixas, no meio de cultura, que vão do centro (disco) a extremidade da placa e avaliados comparativamente quanto ao crescimento próximo ao disco de antimicrobiano (CLSI, 2016).

Ainda o meio de cultura Chromagar Orientation[®] pode ser utilizado como adjuvante nos testes de suscetibilidade, fornecendo simultaneamente a identificação da espécie de enterobactéria isolada, já que sinaliza por meio de coloração específica das colônias. *E. coli*, por exemplo, cresce no meio de cultura apresentando colônias de coloração que vai do rosa ao vermelho (MERLINO et al., 1996).

Segundo o CDC (2015), a identificação de enterobactérias produtoras de KPC por testes fenotípicos é dada por padrão de suscetibilidade diminuída ao imipenem, meropenem ou doripenem (por MHT) e resistência a todas as cefalosporinas de 3ª geração testadas. Entretanto, o MHT não tem boa sensibilidade para o gênero *Enterobacter*.

Além dos testes de triagem de isolados resistentes aos carbapenêmicos, devem ser feitos testes indicadores de produção de carbapenemases, como a utilização de discos de antimicrobianos associados a inibidores específicos de carbapenemases em técnicas como

disco-difusão (DDT), sinergia de duplo disco (DDST) ou ainda fitas Etest[®] combinadas. Os inibidores de carbapenemases usados nesses testes incluem: o ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), agente quelante de metais, inibidor do crescimento de amostras produtoras de MβLs; o ácido fenilborônico, inibidor de amostras produtoras de KPC e a cloxacilina, inibidor de OXA (ANVISA, 2013b; BIRGY et al., 2012).

Outro teste adjuvante de comprovada sensibilidade e especificidade quanto à produção de carbapenemases, é o meio de cultura Carba NP (Carbapenemase Nordmann-Poirel), que permite a identificação rápida (até 30 minutos) das amostras produtoras, pela mudança da cor do meio, indicada por alteração de pH, de vermelho para laranja até amarelo. Inclusive é capaz de diferenciar bactérias com diminuída sensibilidade aos carbapenêmicos por outros mecanismos que não sejam por produção de carbapenemase, sem que haja a mudança da cor do meio (NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012c).

A técnica de Análise por Sequências Multi-locus (MLST) vem desempenhando um importante papel epidemiológico para a caracterização das doenças infecto-parasitárias, pois oferece identificação e rastreamento de diferentes amostras patogênicas dentro de grupos de gêneros e espécies de microrganismos com alta confiabilidade, possibilitando a uniformização de intervenções em surtos epidêmicos bem caracterizados. As amostras de *E. coli* resistentes vêm sendo classificadas também quanto à sequência-tipo (ST) e estão disponíveis no banco de dados GenBank[®] (URWIN & MAIDEN, 2003).

Dentre as intervenções de controle das ERCs, sugeridas pelo CDC (2015), estão:

- (i) Higiene das mãos – intervenção fundamental e primária no que diz respeito ao controle de infecções nos diversos setores do hospital. A CCIH deve se certificar que os profissionais de saúde saibam a técnica adequada de higiene das mãos, monitorar e promover o reconhecimento dos setores com maior aderência à higiene das mãos e suas respectivas taxas de infecção hospitalar, como forma de encorajar outros profissionais.
- (ii) Medidas de Precaução de contato – devem ser adotadas no caso de pacientes colonizados/infectados por ERCs hospitalizados ou residentes de locais onde há cuidado de condições crônicas que estejam ou não em uso de ventilação mecânica, com incontinência fecal, úlceras de decúbito ou drenando secreções não contidas por curativo. No caso de residentes colonizados que não estejam nessas condições, o uso de gorro e luvas só se faz necessário aos cuidadores quando auxiliarem no

banho, na limpeza pós evacuações, troca de curativos e manipulação de dispositivos invasivos.

- (iii) Educação continuada dos profissionais de saúde quanto à manipulação dos pacientes colonizados/infectados por ERCs.
- (iv) Uso de dispositivos invasivos – deve-se evitar o uso prolongado e desnecessário de dispositivos invasivos.
- (v) Notificação – rápida notificação da CCIH pelo laboratório que obtiver culturas positivas para ERCs.
- (vi) Comunicação entre os centro de saúde quando da transferência de pacientes potencialmente ou comprovadamente colonizados.
- (vii) Gestão do uso de antimicrobianos – a CCIH deve fornecer auxílio na tomada de decisão terapêutica de infecções, com o uso de antimicrobianos com o mínimo espectro de ação para o dado agente infeccioso. Promover a ótima prática de prescrição de antimicrobianos por meio da educação continuada, vigilância e apresentação das taxas de resistência da instituição aos profissionais de saúde.
- (viii) Limpeza do ambiente
- (ix) Testagem de vigilância de contactantes de pacientes colonizados por ERCs
- (x) Testagem de vigilância - os centros de saúde, especialmente os que possuem unidades de terapia intensiva, locais de maior circulação de bactérias multirresistentes devem criar protocolos de testagem rotineira de vigilância dos pacientes internados por meio de coleta de material por *swab* retal.

A coleta de material por swab retal é utilizada para a identificação precoce de colonização por ERCs. Todo paciente com alto risco de colonização por ERCs ou que seja transferido entre hospitais deve ser submetido à coleta admissional de material por swab retal, e mantido em precaução de contato empírica até a liberação dos resultados referentes à cultura da amostra. Além disso, para alguns pacientes também deve ser considerada a cultura de feridas/úlceras de pressão ou secreção traqueal, dadas as condições diversas de internação (CDC, 2015; TÄNGDÉN & GISKE, 2015).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Diante do exposto, foi objetivo deste trabalho estudar, por meio da revisão de literatura, dados epidemiológicos sobre a emergência e a disseminação de *Escherichia coli* resistentes

aos carbapenêmicos, bem como os mecanismos de resistência e fatores de risco relacionados à colonização por estas bactérias. Uma vez, caracterizado o perfil epidemiológico atual dessa bactéria num cenário global em comparação com dados brasileiros, pretendeu-se discutir as tendências de terapêutica empírica e de precauções dentro do ambiente hospitalar.

2.2 Objetivos Específicos

a) Estudar a emergência de mecanismos de resistência à classe de β -lactâmicos, mais especificamente aos carbapenêmicos, em linhagens de *Escherichia coli*, caracterizando o perfil atual de resistência da espécie, os tipos específicos de mecanismos envolvidos na resistência aos carbapenêmicos e sua distribuição global, comparando com dados brasileiros.

b) Identificar os principais esquemas terapêuticos com antimicrobianos utilizados na abordagem de amostras resistentes.

c) Discutir as novas diretrizes para medidas de controle de infecções causadas por ERCs nos ambientes críticos dos hospitais.

3. METODOLOGIA

A metodologia deste estudo teve como base a revisão bibliográfica narrativa, por meio do levantamento da produção científica disponível e análise de dados da literatura a fim de reunir as diversas informações para atender aos objetivos do presente estudo. Para isso foi feita pesquisa bibliográfica, parte vital do processo de investigação, e a qual abrangeu bibliografia relevante ao tema proposto, desde publicações de livros, artigos originais ou de revisão, relatórios de organizações de vigilância, e uma dissertação de Mestrado.

Este tipo de estudo tem caráter exploratório, com a reunião de dados publicados globalmente, o que permite maior familiaridade com o problema e o aprimoramento de ideias e hipóteses acerca do tema. Entretanto, por não ser uma revisão sistemática, não tem por objetivo a meta-análise dos dados obtidos, mas uma descrição e discussão desses dados. Em suma, este tipo de pesquisa apresenta um panorama mundial sobre a questão estudada, sendo ainda capaz de apontar áreas em que há escassez de pesquisas adequadas.

A base de dados PubMed foi consultada utilizando-se as seguintes palavras-chave: *Escherichia coli* combinada com resistência aos carbapenêmicos (carbapenem resistance), ou carbapenemases (carbapenemases – KPC, VIM, IMP, NDM e OXA-48), ou carbapenêmicos (carbapenems). Esses termos ainda foram combinados com os descritores: emergência (emergence), prevalência (prevalence), epidemiologia (epidemiology) ou fatores de risco

(risk factors). Todas as combinações foram feitas utilizando-se o operador booleano ‘AND’. Além disso, uma segunda ferramenta presente na base de dados do PubMed foi utilizada para a busca de artigos de revisão sistemática (o operador booleano ‘AND’ e a expressão pmh_sr[sb]), para obtenção de dados mais refinados. Por último, grande parte da seleção da bibliografia foi feita por meio da utilização de trabalhos científicos citados nos artigos inicialmente incluídos na pesquisa. O programa gratuito de gerenciamento de referências bibliográficas, Mendeley, foi utilizado para obtenção dos arquivos em pdf e suas referências.

4. RESULTADOS

4.1 Perfil de Resistência Atual em *Escherichia coli*

Em geral, amostras de *E. coli* isoladas em UTIs demonstraram altas taxas de resistência à norfloxacin (27%), à ciprofloxacina (26,8%) e ao sulfametoxazol-trimetoprim (46,7%), principais antimicrobianos utilizados para tratar infecções do trato urinário ambulatorialmente (CORREAL et. al., 2014).

No Brasil, dados da ANVISA (2014) demonstraram um perfil de resistência em *E. coli* com 26,7% de amostras resistentes a cefalosporinas e sensíveis aos carbapenêmicos e 6,3% de amostras resistentes a ambas as sub-classes de β -lactâmicos. Nos EUA, o relatório da NHSN (SIEVERT, 2013) apresentou, para *E. coli*, um percentual de 19% de amostras resistentes a cefalosporinas de terceira geração (sugerindo fenótipo ESBL) e 3,5% de amostras resistentes aos carbapenêmicos (sugerindo fenótipo de carbapenemase), além de 41,8% dos isolados serem resistentes a quinolonas. Um relatório do CDC (2013), demonstrou que 6,4% das infecções relacionadas às enterobactérias são causadas por ERCs sendo que, deste total, 2% são causadas por *E. coli* e 11% por *K. pneumoniae*.

Condizente com o exposto acima, ROSSI (2011) relatou que em hospitais brasileiros a frequência de bactérias produtoras de ESBLs é maior que nos EUA e na Europa. Infelizmente, o perfil molecular desses isolados, com caracterização apurada dos tipos de β -lactamases expressas, tem sido raramente descrito. Recentemente, uma análise de hemoculturas em 10 hospitais brasileiros, demonstrou que 54% dos isolados de *K. pneumoniae* e 32,4% dos isolados de *E. coli* foram produtores de ESBLs. No caso de resistência às fluoroquinolonas, os percentuais foram ainda maiores (81% e 41%, respectivamente).

Dentre os estudos de vigilância para amostras resistentes aos carbapenêmicos, em um hospital terciário, na cidade de Beirute – Líbano, a análise molecular de isolados de *E. coli* MDR caracterizados por teste fenotípico de suscetibilidade, demonstrou que 2,15% foram produtores de pelo menos uma carbapenemase e uma β -lactamases ESBL (MATAR et al., 2010).

Segundo ROBLEDO e outros (2011), em um estudo multicêntrico em Porto Rico, dos 10.507 isolados de microrganismos MDR (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*) de 17 hospitais participantes, 4.329 eram isolados de *E. coli*. Deste número, 1,4% foi positivo para amostras produtoras de KPC, sendo que 62% dessas também produziam ESBLs.

No Brasil, o primeiro relato de *E. coli* produtora de uma carbapenemase (KPC-2), ocorreu no Rio de Janeiro em 2008, no Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ, onde já era relatada a presença de *K. pneumoniae* também produtora dessa enzima (CARVALHO-ASSEF et al., 2010). Um grande estudo brasileiro realizado de 2009 a 2011, com 387 amostras de ERCs não *K. pneumoniae* enviadas de 9 estados diferentes, obteve 13 isolados de *E. coli* produtoras de KPC-2. Destes, 4 isolados também produziam a β -lactamase TEM-141 (TAVARES et al., 2015).

PINTO e outros (2014) analisaram a ocorrência de diferentes carbapenemases em amostras de Enterobacteriaceae caracterizadas como resistentes aos carbapenêmicos por testes fenotípicos de suscetibilidade. Os autores observaram que 3,7% das ERCs foram *E. coli* e destes isolados, 53,8% foram produtoras de KPC, 1,5% produtoras de NDM e 38,5% foram negativas para as enzimas testadas (KPC, NDM, OXA e GES²).

Já ALVES & BEHAR (2013) estudaram 77 pacientes hospitalizados com culturas positivas para enterobactérias produtoras de KPC. Desse grupo, 87% eram portadores de 3 ou mais comorbidades e 12% de 1 ou 2 comorbidades, e um total de 37% tinha história prévia de internação em UTI nos últimos 3 meses. *E. coli* representou 2,5% dos isolados de enterobactérias produtoras de KPC.

4.2 Emergência e Disseminação de Carbapenemases em *Escherichia coli*

Descritas principalmente em *Klebsiella pneumoniae*, as carbapenemases, principalmente a KPC, ocorrem com menor frequência em *Escherichia coli*. Entretanto, o número de relatos

² GES - *Guiana extended-spectrum β -lactamase* - enzima β -lactamase ESBL do grupo A de Ambler, com algumas variantes dotadas de atividade hidrolítica sobre o imipenem (NORDMANN & POIREL, 2014).

vem aumentando, com casos predominantemente hospitalares, incluindo alguns relatos de transferência de plasmídeo de *K. pneumoniae* para *E. coli*, por conjugação *in vivo* (KIM et al., 2012; RICHTER et al., 2011). Na tabela 5 é possível observar que a ocorrência de *E. coli* produtora de KPC está distribuída em todos os continentes, com circulação predominante no ambiente nosocomial. Grande parte dos pacientes dos quais essa bactéria é isolada, apresenta história prévia de internação e/ou utilização recente de antimicrobianos, é idoso e/ou residente de asilos.

Ainda com relação à produção da enzima KPC, há relatos de casos alóctones por transferência de pacientes hospitalizados entre diferentes países, entretanto esses casos não são predominantes (Tabela 5).

A distribuição da enzima KPC não parece estar relacionada a um tipo específico de sequência-tipo (ST) de *E. coli*; entretanto, sua emergência entre *E. coli* ST131 (KIM et al., 2012; MORRIS et al., 2011) e ST101 (POTRON et al., 2011a) já foi relatada.

No Brasil, a KPC é a carbapenemase mais prevalente entre isolados de ERCs assim como nos Estados Unidos e outros países das Américas. A variante KPC-2 parece ser a enzima mais descrita no Brasil, apesar da grande maioria dos estudos não ser capaz de distinguir as variantes isoladas (ALVES & BEHAR, 2013; KIM et al., 2012; NORDMANN & POIREL, 2014; PINTO et al., 2014; TAVARES et al., 2015).

A produção de mais de uma carbapenemase em um mesmo isolado de Enterobacteriaceae (Tabela 5) vem sendo descrita em todo o globo, inclusive no Brasil (PEREIRA et al., 2015).

Tabela KPC

Tabela KPC

As MβLs com atividade contra carbapenêmicos estão frequentemente presentes em amostras de *E. coli* provenientes de pacientes sob internação hospitalar prolongada, como demonstrado na tabela 6, sendo que a totalidade dos relatos é representada por pacientes com comorbidades (Diabetes Mellitus tipo 2, ITU de repetição, hiperplasia prostática, neoplasias) e com história de internação prévia ou no momento do estudo. Além disso, o relato de viagens à Índia e à Birmânia (sul asiático) parece ser um fator preditor de colonização nesses pacientes.

Dentre as famílias de metalo-β-lactamases, a NDM é a mais relatada e com maior distribuição global quando comparada às famílias VIM (Europa) e IMP (Ásia). Com relação às amostras de importância epidemiológica, a família NDM foi relatada em *E. coli* ST101 e ST648 (Tabela 6).

Também é possível observar que as amostras de *E. coli* produtoras de diferentes variantes de NDM (Tabela 6) apresentavam uma série de outros mecanismos de resistência, como produção de outras β-lactamases, inclusive variantes de amplo espectro de ação (TEM-1, CTX-M-15, CTX-M-23, CMY-6, TEM-166, AmpC e SHV-12), genes de resistência aos aminoglicosídeos e, em um caso de NDM-13 em *E. coli* ST101, a presença de genes codificantes de bombas de efluxo de drogas.

No presente trabalho, foi avaliado somente um estudo brasileiro que demonstrou a presença, em pequena proporção, da família NDM em *E. coli* (PINTO et al, 2014).

Em geral, as metalo-beta-lactamases apresentam atividade sobre todos os β-lactâmicos, exceto o aztreonam. Essa atividade é demonstrada quando sua presença está isolada de outros mecanismos de resistência em amostras conhecidas de *E. coli* ATCC® por técnica laboratorial controlada de conjugação do plasmídeo específico para a carbapenemase. Entretanto, todos os isolados clínicos de *E. coli* produtores dessas enzimas nos testes fenotípicos de suscetibilidade foram resistentes ao aztreonam, apresentando altas CIMs (>256μg/mL), fenômeno que demonstra a expressão simultânea de outros fatores de resistência aos β-lactâmicos (HORNSEY et al, 2011).

A enzima NDM-4, relatada por NORDMANN e outros (2012a), apresentou, em testes catalíticos, atividade melhorada contra o imipenem e, em menor grau, contra o meropenem quando comparada à NDM-1. Do mesmo modo, apresentou maior atividade contra cefalotina, ceftazidima e cefotaxima.

Tabela MBL

A OXA-48 tem sido relatada muito frequentemente em clones de *E. coli* ST131 e ST38, epidêmicos na Europa (Tabela 7). Esses clones foram anteriormente relacionados à produção de β -lactamases e atualmente demonstram que houve aquisição de plasmídeos portadores do gene *bla*_{OXA-48}. Percebe-se ainda que *E. coli* ST131 apresenta expressão concomitante de β -lactamases da família TEM e variavelmente de CTX-M-9 e OXA-1, e que similarmente *E. coli* ST38 expressa as variantes TEM-1 e CTX-M-24 (variante similar à CTX-M-15, pandêmica) (Tabela 7).

Apesar de inicialmente as ERCs terem sido relacionadas ao ambiente hospitalar, diversos relatos de amostras produtoras de OXA-48 são provenientes de pacientes hígidos ou com comorbidades, porém sem história prévia de hospitalização. Nesses casos, observa-se que essas enterobactérias são isoladas de diversos sítios tanto como agentes causadores de infecção (mais comumente ITU comunitária) como agentes colonizadores da microbiota intestinal (swab retal de vigilância).

Outro fator ligado a ocorrência de *E. coli* ERC em pacientes hígidos moradores de locais não endêmicos é a história prévia de viagens aos locais endêmicos, como Turquia, Egito, Líbano e Jordânia (Tabela 7).

Na Turquia, foi identificada uma amostra de *E. coli* produtora de OXA-48 (com CIM > 32 μ g/mL para imipenem), isolada de um paciente após curso terapêutico com imipenem. Essa cepa mostrou-se com alta resistência ao imipenem pois apresentava também perda de porinas específicas (GÜLMEZ et al., 2008).

Outro estudo, utilizando amostras de hospitais de 6 países pertencentes ao Conselho de Cooperação dos Estados Árabes do Golfo, relatou a presença de amostras de *E. coli* de 7 diferentes STs, incluindo *E. coli* ST131 e ST38. Nesse estudo, foram encontrados 9 isolados com suscetibilidade diminuída ao ertapenem, entretanto somente dois mostraram-se produtores de carbapenemases, um produtor de OXA-48 e um produtor de NDM. As outras 7 amostras mostraram-se produtoras somente da ESBL CTX-M-15 (ZOWAWI et al., 2014). Esse é o motivo pelo qual os discos de ertapenem têm sido substituídos por imipenem ou meropenem nos testes de identificação de amostras produtoras de carbapenemases.

Não foi possível identificar na literatura disponível relatos no Brasil de amostras de *Escherichia coli* produtoras de OXA carbapenemases.

A OXA-181 não foi incluída na tabela 7, por ter menor importância clínica e epidemiológica no momento. Amostras produtoras desta enzima foram isoladas na Índia e, quando identificadas em outras localidades, foram sistematicamente relacionadas ao subcontinente indiano. Alguns relatos esporádicos ocorreram na França, Reino Unido, Noruega, Romênia, Omã, Canadá, Austrália, Nova Zelândia, Singapura e Sri Lanka (NORDMANN & POIREL, 2014).

Nos testes de suscetibilidade, as ERCs, independentemente de serem produtoras de KPC, M β L ou OXA-48, apresentaram-se suscetíveis à tigeciclina e às polimixinas. A suscetibilidade aos aminoglicosídeos, à tetraciclina, à fosfomicina, ao cloranfenicol, aos diferentes carbapenêmicos foi variável (Tabelas 5, 6 e 7).

Tabela OXA

5. DISCUSSÃO

As IRAS são particularmente importantes nas UTIs e Unidades Intermediárias de hospitais, uma vez que nestes locais há alta prevalência e disseminação de microrganismos MDR entre pacientes graves, implicando em maior tempo de internação e gasto para a unidade hospitalar, além do risco aumentado de colonização desses pacientes por Enterobacteriaceae MDR presentes na instituição. A colonização por ERCs está relacionada a altas taxas de mortalidade nesses setores, que variam de 24% a 70% dependendo da população estudada (TZOUVELEKIS et al., 2012). Uma vez que os carbapenêmicos representam um dos últimos recursos efetivos na abordagem de IRAS causadas por bactérias Gram-negativas, a emergência e a rápida disseminação dos genes para carbapenemases, principalmente entre enterobactérias e alguns não-fermentadores, constitui um problema de saúde pública global de extrema importância (MELETIS, 2016). Esse aumento é reflexo da pressão seletiva criada pelo uso dos carbapenêmicos em larga escala e em altas doses, que em parte é consequência dos altos índices de resistência a outros antimicrobianos evidenciada, principalmente, em UTIs (TAVARES, 2014).

Dentre os estudos de prevalência de carbapenemases, é possível observar que parte das bactérias com suscetibilidade diminuída aos carbapenêmicos, nos testes fenotípicos, não são produtoras de carbapenemases. O mecanismo de resistência presente nesses casos foi caracterizado por NORDMANN; DORTET; POIREL (2012b), como produção de uma β -lactamase (comumente descrita, a AmpC mediada por plasmídeo) e expressão diminuída de porinas específicas na membrana externa (CORNAGLIA et al., 1992; STAPLETON; SHANNON; FRENCH, 1999). Além disso, a espécie *E. coli* ainda possui pequena representatividade (menos de 5%) entre as ERCs, sendo que, no Brasil, dados da ANVISA (2014) apontam uma frequência mais elevada (6,3%).

Linhagens de *E. coli* MDR estão entre os bacilos Gram-negativos altamente endêmicos em ambientes nosocomiais no Brasil. O aumento da resistência notado nos últimos anos, pode ser relacionado à disseminação global de clones de *E. coli* ST131, isolada e identificada recentemente como patógeno multirresistente mais comum em ITUs e infecções de corrente sanguínea (ICS) em hospitais e na comunidade. Epidemiologicamente, essa variante ST131 tem a maior contribuição na pandemia de CTX-M, denominada dessa forma após o aumento de amostras uropatogênicas de *E. coli* produtoras de β -lactamses de espectro estendido (ESBLs) do tipo CTX-M. Os genes *bla*_{CTX-M-15}, conferem resistência à maioria dos β -

lactâmicos, (exceto carbapenêmicos), incluindo o aztreonam, ceftriaxona e cefepime. Além disso, essa variante também é resistente às fluoroquinolonas (CORREAL et al., 2014). A cepa *ST131* é também frequente entre os isolados de *E. coli* produtores de KPC, fato que parece ter relação com a disseminação pandêmica desta enzima. Outro fator que pode estar relacionado à ampla disseminação da KPC é o alto potencial de transferência de seus genes plasmidiais, por conjugação (ADLER et al., 2011).

A identificação das STs de *E. coli* isoladas pode ser um fator importante para o estudo do potencial de disseminação dos diferentes genes para carbapenemases, sendo possível sugerir em um determinado território os tipos de variantes de carbapenemases e STs endêmicas. Dessa maneira, é possível rastrear o processo de transferência de genes plasmidiais, determinando se ocorrem preferencialmente entre STs específicas ou se ocorrem aleatoriamente, numa dada situação ambiental favorável (pressão seletiva estabelecida pela presença de antimicrobianos) (KIM et al., 2012).

Segundo SHRESTHA e outros (2015), *E. coli ST101* produtora da carbapenemase NDM é epidêmica em diversas regiões, já tendo sido relatada no Canadá, Inglaterra, Estados Unidos, Coreia do Sul, Bulgária e Índia. Outra *E. coli* produtora de variantes de NDM (*ST648*), foi relacionada a surtos epidêmicos na Holanda, há época somente produtora de ESBLs, frequentemente ocasionava bacteremia nos indivíduos colonizados (HORNSEY et al., 2011) (Tabela 6).

Tanto na tabela 5 como na tabela 6, é possível observar que a ocorrência de *E. coli* produtoras de KPC e M β LS está distribuída globalmente, com circulação predominante no ambiente nosocomial. Os fatores de risco para a aquisição dessas amostras resistentes são: história prévia de internação e/ou utilização recente de antimicrobianos, idade avançada e residência em asilos.

Com relação à distribuição das diferentes famílias de metalo- β -lactamases, a família VIM é relatada particularmente no sul da Europa (países do Mediterrâneo), já a subclasse IMP é pouco descrita em comparação com a NDM e a VIM, e sua disseminação ocorre principalmente na Ásia (NORMANN & POIREL, 2014).

Como observado por NORMANN e outros (2012a), diferentemente de outras carbapenemases, os genes bla_{NDM} têm sido descritos mais frequentemente em *E. coli*. Além

de sua ocorrência na Índia, também há relatos no Canadá, Camarões, e países europeus (CUZÓN et al., 2013).

Estudos internacionais apontam a NDM como a MβL predominante nas Américas. No entanto, estudos feitos no Brasil são voltados majoritariamente para a pesquisa de KPC, o que dificulta uma avaliação detalhada do perfil de MβL produzidas pelas amostras de *E. coli* resistentes aos carbapenêmicos, isoladas em nosso país. No estudo de PINTO e outros (2014) foi testado um número limitado de enzimas, sendo que em 38% das amostras resistentes aos carbapenêmicos não foi detectada a produção de carbapenemases. Esse resultado pode representar não só ERCs não produtoras de carbapenemases, mas também isolados de *E. coli* produtores de outras carbapenemases não testadas, como a IMP, já relatada no Brasil em *K. pneumoniae* (LINCOPAN, 2005), ou a VIM, família circulante na Europa (Tabela 6). Recomenda-se, nestes casos, que mesmo que não seja possível realizar a análise molecular do isolado, seja utilizado nos testes fenotípicos, o EDTA associado ao carbapenêmico, como indicador específico (por inibição do crescimento) da ocorrência de amostras resistentes aos carbapenêmicos que sejam produtoras de MβL (NORDMANN et al., 2012a). Da mesma maneira, a utilização de inibidores de KPC e de OXA, podem ser utilizados em conjunto aos carbapenêmicos, como teste indicatório do tipo de carbapenemase produzida pelos isolados.

Com relação à ação das enzimas citadas na tabela 6, a substituição de aminoácidos na variante NDM-4, em relação à variante NDM-1, foi responsável pelo ganho de atividade catalítica. Essa substituição foi identificada fora dos locais anteriormente descritos, como no sítio ativo da NDM-1 e no local de ligação aos íons de zinco. Similarmente, na família VIM (variantes 11 e 19), a mudança estrutural por substituição de aminoácidos fora do sítio ativo determinou o ganho de atividade da enzima (MARCHIARO et al., 2008; RODRIGUEZ-MARTINEZ et al., 2010).

No relato de HORNSEY e outros (2011), a variante NDM-5 parece apresentar ganho de atividade em relação à NDM-1, pois acarretou CIMs maiores para carbapenêmicos e cefalosporinas de espectro estendido. Entretanto, como relatado pelos autores, são necessários testes cinéticos de avaliação catalítica para confirmação desse achado.

O estudo de PORRES-OSANTE e outros (2014) foi o primeiro trabalho na Espanha a descrever a co-produção das enzimas KPC e VIM em *E. coli*, associação previamente descrita em *K. pneumoniae* em países vizinhos, como Itália e Grécia. Essa cepa apresentou suscetibilidade somente para tigeciclina, colistina e tetraciclina, com CIMs alarmantes (\geq

256mg/L) para ampicilina, cefotaxima, ceftazidima, cefoxitina, cefepime, aztreonam, imipenem e meropenem, provavelmente pela expressão concomitante de β -lactamases SHV-12, OXA-9, TEM, CMY-12 e AmpC (Tabela 5).

Atualmente, Enterobacteriaceae produtoras de OXA-48 são globalmente disseminadas. Com reservatórios na Turquia e países do Norte da África, ocorrência de surtos hospitalares e cada vez mais casos em diversos países da Europa, principalmente do Mediterrâneo, e do Oriente Médio, mostraram-se enzimas de rápida disseminação. Casos diversos de colonização em indivíduos sem história de hospitalização, demonstraram que a OXA-48 é endêmica em alguns países, locais onde há disseminação na comunidade. Além disso, amostras detentoras de genes para OXA-48 possuem alto potencial para colonização de indivíduos hígidos (Tabela 7) (NORDMANN & POIREL, 2014).

Quanto à atividade da OXA-48, foi observado que conferem baixas CIMs para carbapenêmicos, o que torna difícil sua caracterização por testes de suscetibilidade. Além disso, quando seus genes são translocados isoladamente para amostras de teste sensíveis (*E. coli* ATCC[®] – *American Type Culture Collection*), exibem baixo grau de atividade sobre cefalosporinas de espectro estendido. Entretanto, tem sido demonstrado que, comumente, as amostras produtoras de OXA-carbapenemases também possuem genes para ESBLs (CTX-M-15 e TEM-1), mostrando ao teste de suscetibilidade alta resistência a todas as gerações de cefalosporinas, inclusive ao aztreonam. Alguns isolados com alto grau de resistência aos carbapenêmicos têm expressão diminuída de porinas, o que dificulta a entrada dos diversos antimicrobianos na célula bacteriana (GÜLMEZ et al., 2008; NORDMANN & POIREL, 2014; ZURFLUH et al., 2015). Fatores importantes identificados como facilitadores da disseminação de plasmídeos da OXA-48 são: alta eficiência no processo de conjugação do plasmídeo intra e inter-espécies e eficiência 10^4 vezes maior que no processo de conjugação de plasmídeos para KPC (ADLER et al., 2011).

Muitos genes para carbapenemases, principalmente para as metalo- β -lactamases e para a OXA-48, quando introduzidos isoladamente por conjugação controlada em uma amostra de *E. coli* conhecida e sensível (ATCC[®]) mostraram em testes fenotípicos inatividade contra o aztreonam e atividade parcial contra os carbapenêmicos e, no caso da produção isolada de OXA-48, inatividade contra as oximino-cefalosporinas. A KPC, por exemplo, apresenta melhor atividade hidrolítica sobre carbapenêmicos; entretanto, quando analisada

isoladamente, também confere baixas CIMs para essas drogas (susceptibilidade diminuída e parcial aos carbapenêmicos).

De maneira geral, em testes de susceptibilidade realizados com diversas amostras de *E. coli*, percebe-se que a presença de outras β -lactamases e de fatores de resistência, como diminuição da expressão de porinas ou presença de bombas de efluxo, conferem alto grau de resistência a esses compostos. Um exemplo desse fenômeno foi demonstrado por NORDMANN e outros (2012a) em *E. coli* ST648 portadora do gene bla_{NDM-4} , que apresentou resistência ao aztreonam com CIM $>256\mu\text{g/mL}$ (Tabela 6). Em outro exemplo, um estudo envolvendo quatro isolados produtores de KPC não relacionados geneticamente, foi detectada uma amostra de *E. coli* com CIMs ($\mu\text{g/mL}$) de 32, 4 e 32, para imipenem, meropenem e ertapenem, respectivamente. Já sua transformante (*E. coli* DH5 α com o plasmídeo de KPC) apresentou CIMs de 2, 0.5 e 1 para as mesmas drogas. Esses resultados foram muito semelhantes para as outras três amostras isoladas (NAVON-VENEZIA et al., 2006). Similarmente, muitas vezes são observados CIMs $> 32\mu\text{g/mL}$ para carbapenêmicos em amostras produtoras de OXA-48, enzima sabidamente detentora de baixa atividade contra esses antimicrobianos (GÜLMEZ et al., 2008).

Outros fatores de resistência observados entre os isolados de *E. coli* resistentes aos carbapenemas foram: genes *armA* e *rmtB*, que codificam resistência aos aminoglicosídeos, importantes antimicrobianos adjuvantes no tratamento, e perda da expressão de porinas, com diminuição da permeabilidade da membrana externa a diversos antimicrobianos.

Não houve relatos de ocorrência de amostras de *E. coli* produtoras de OXA carbapenemases no Brasil, entretanto esta carbapenemase já foi relatada em isolados de *K. pneumoniae*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter cloacae* e *C. freundii* (PINTO et al., 2014; ROZALES et al., 2013). Ainda, em 2014, foi relatada uma variante da OXA-48 (OXA-370) em *Enterobacter hormaechei* (SAMPAIO et al., 2014). Esses dados demonstram uma disseminação da enzima em diferentes espécies de Enterobacteriaceae, de ocorrência principalmente hospitalar, representando um alto potencial de disseminação para *E. coli* e posteriormente, na comunidade como relatado em diversos estudos (Tabela 7).

É importante salientar que a conjugação inter-espécies em um mesmo indivíduo é frequente. No caso da enzima KPC, a *K. pneumoniae* é a bactéria mais comum responsável por disseminar plasmídeos contendo o gene bla_{KPC} (RICHTER et al., 2011; SIDJABAT et al.,

2009; YONG et al., 2009). No estudo de KIM e outros (2012), 13 pacientes com *E. coli* produtora de KPC foram acompanhados por testagem de vigilância com swab retal, sendo que em 5 deles foi detectada a presença de outras espécies de enterobactérias produtoras de KPC, no período de 1 mês. A semelhança entre as enzimas foi confirmada por análise molecular do perfil dos plasmídeos isolados. As espécies *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* e *S. marcescens* foram isoladas dos mesmos sítios anatômicos dos isolados de *E. coli* em 3 pacientes e do sangue nos outros 2.

No estudo de PINTO e outros (2014), a maioria das amostras (51,7%) positivas para ERCs foi obtida a partir de *swabs* retais de vigilância. Grande parte dos artigos selecionados em nosso trabalho (Tabelas 5, 6 e 7) também obteve amostras positivas de *swabs* retais, confirmando a importância epidemiológica desse método na avaliação da presença de microrganismos resistentes. Reforça-se ainda que, em muitos estudos, os pacientes não apresentavam infecção pela ERC descrita, mas colonização. Esse fato é condizente com o que é observado entre indivíduos hígidos e em locais endêmicos, onde o grande reservatório da resistência bacteriana é o contingente de pacientes colonizados (PINTO et al., 2014). Outra preocupação com a ocorrência de carbapenemases na espécie *Escherichia coli*, é que diferentemente das ERCs mais prevalentes, ainda que sejam também encontradas em infecções comunitárias e sejam agentes colonizadores, são principalmente nosocomiais. Dessa maneira, *E. coli* representa um marcador de colonização de indivíduos hígidos, portanto podendo ser a principal enterobactéria relacionada à disseminação das carbapenemases na comunidade. Essa questão foi observada por NORDMANN e outros (2012a) e KIM e outros (2012), que atentam para a substancial gravidade de uma espécie comensal do TGI e de fácil aquisição na comunidade ser frequentemente receptora de genes para carbapenemases durante o período de internação/doença aguda.

Por essa e mais razões, nos últimos protocolos liberados pelo CDC (2015), o paciente com suspeita ou confirmação de infecção/colonização por ERC deve ser colocado em precaução de contato, e os profissionais de saúde devem ser instruídos quanto à necessidade de identificação desses microrganismos, pois representam alto grau de mortalidade, não só entre indivíduos com comorbidades (mais propensos à colonização, bacteremia e infecção), mas também entre indivíduos hígidos hospitalizados com baixa gravidade ou submetidos a procedimentos cirúrgicos de eleição. O CDC também alerta para a necessidade de testagem rotineira de vigilância dos pacientes internados, e na admissão de indivíduos de alto risco para colonização por ERCs ou que sejam transferidos de outros países (CDC, 2015).

Quanto ao perfil de suscetibilidade (Tabelas 5, 6 e 7), muitas cepas de *E. coli* ERC, por apresentarem expressão simultânea de ESBLs, outras β -lactamases de menor espectro, genes de resistência aos aminoglicosídeos e baixa expressão de porinas, são frequentemente resistentes a todos os antimicrobianos disponíveis, exceto às polimixinas, à tigeciclina e variavelmente a alguns aminoglicosídeos e à fosfomicina, representando um grande desafio terapêutico. É importante ressaltar que a polimixina, uma das drogas mais indicadas atualmente no tratamento de infecções causadas por ERCs, foi anteriormente abandonada da prática clínica por fatores concernentes à eficácia e à toxicidade. Já a tigeciclina, uma droga mais nova, ainda é pouco utilizada também pelo seu grau de toxicidade, demonstrando boa eficácia contra Gram-negativos e Gram-positivos (BASSETTI & RIGHI, 2014; MELETIS, 2016).

Os esquemas terapêuticos propostos para o tratamento de infecções causadas por ERCs são muito discutíveis e muito distantes do ideal, uma vez que duas das drogas empregadas (polimixinas e fosfomicina) haviam sido retiradas de uso. Ainda que seja discutida a capacidade de neurotoxicidade provocada pelas polimixinas, é comprovadamente observada nefrotoxicidade em mais de 40% dos pacientes que as utilizam (MELETIS, 2016). Levando-se em consideração que a ocorrência de infecções causadas por ERCs está relacionada a pacientes graves e com comorbidades, as polimixinas podem representar alto risco de piora do quadro clínico, de morbidade pós terapia ou ainda de óbito. Além disso, já é possível observar o aumento de resistência às polimixinas em bactérias normalmente sensíveis, por mecanismos similares às bactérias intrinsecamente resistentes (*Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Serratia spp.* e *Morganella spp.*), como alterações estruturais dos lipopolissacarídeos (LPS) por arabinóides (OLAITAN; MORAND; ROLAIN, 2014). Antimicrobianos constituídos por moléculas hidrofílicas como os carbapenêmicos e as tetraciclinas podem oferecer efeito sinérgico com a ruptura da integridade de membrana pelas polimixinas (BISWAS et al., 2012).

A fosfomicina atinge altas concentrações no trato urinário por longos períodos, sendo um bom agente contra ITUs. Entretanto, como monoterapia em administração intravenosa em infecções sistêmicas tem alto potencial de induzir resistência durante o tratamento (FALAGAS et al., 2014; MELETIS, 2016). Resistência à tigeciclina também parece se desenvolver rapidamente, e seu uso como monoterapia para o tratamento de ERCs, é questionado pela falta de dados quanto a sua eficácia (MELETIS, 2016), no entanto, alguns

estudos demonstram sua eficácia similar aos esquemas terapêuticos com drogas mais conhecidas (BABINCHAK et al., 2005; GREER, 2006).

Uma série de estudos aponta a amicacina (aminoglicosídeo) como possível proposta terapêutica para as amostras isoladas, no entanto, a classe desse antimicrobiano é constituída por moléculas pouco permeáveis. Dessa forma, a amicacina seria utilizada somente em associação com antimicrobianos com ação sobre as membranas, como as polimixinas e os β -lactâmicos. Entretanto, muitas vezes os isolados apresentam altas CIM aos carbapenêmicos, e em menos casos resistência às polimixinas. Em 1999, BEVERIDGE evidenciou a exocitose constante de vesículas derivadas de membrana (MV) em Gram-negativos, e quando em presença de gentamicina, as MVs continham essa droga (gn-MV). Portanto, o autor propôs a utilização de gn-MV de Gram-negativos para facilitar a ação dessas drogas sobre a célula e sobrepor possíveis mecanismos de resistência baseados na escassez de transportadores de membrana para esses compostos. Desse modo, a produção de MVs contendo amicacina pode representar uma terapia antimicrobiana de alto potencial, já que permite a entrada da droga de maneira específica na célula bacteriana, inclusive demandando menores concentrações do antimicrobiano.

Tomando por base os testes de suscetibilidade *in vitro* são propostos os seguintes esquemas terapêuticos para Enterobacteriaceae resistentes a carbapenêmicos: (i) monoterapia com um dos três agentes que demonstrem atividade *in vitro*, que podem ser as polimixinas, a fosfomicina ou a tigeciclina, (ii) terapia combinada sem a utilização de um carbapenêmico e (iii) terapia combinada com 2 ou mais agentes, sendo um carbapenêmico que apresente ao teste de sensibilidade CIM < 8 μ g/mL, preferencialmente até 4 μ g/mL (TZOUVELEKIS et al., 2014).

Entretanto, além dos antimicrobianos propostos por MELETIS (2016) e TZOUVELEKIS e outros (2014), ainda há a possibilidade de terapias combinadas com amicacina, gentamicina e tetraciclina (Tabelas 5, 6 e 7).

A mortalidade em infecções causadas por ERC, tratadas com monoterapia empregando polimixinas, é inaceitavelmente alta. Entretanto isso não quer dizer que terapias combinadas utilizando essa droga tenham maior sucesso, comparativamente. A adição de antimicrobianos sem cobertura total dos microrganismos, como os carbapenêmicos, pode representar um perigo potencial ao paciente sob tratamento, uma vez que podem favorecer a permanência da colonização pelas ERCs específicas, favorecer a aquisição de outras espécies de ERCs ou

ainda a colonização/infecção por *Clostridium difficile*. Por outro lado, os carbapenêmicos poderiam ajudar na eliminação dos clones sensíveis de uma população bacteriana, diminuindo a carga bacteriana e melhorando a resposta do paciente ao tratamento (BASSETTI & RIGHI, 2014; PAUL et al., 2014).

Tabela 8: Problemas apresentados por terapias antimicrobianas com polimixinas.

Terapias Antimicrobianas com Polimixinas	
Monoterapia	Combinada com Carbapenêmicos
Alta mortalidade	Risco de permanência da colonização por ERC
Risco de selecionar cepas resistentes	Risco de favorecer a aquisição de outras espécies de ERCs
<u>Descolonização Seletiva (SDD)**</u>	Risco de colonização/infecção por <i>Clostridium difficile</i>
Não há benefícios quanto à ERC	Diminuir a carga bacteriana da ERC (populações mistas)
Aumento da MIC da colistina entre ERC	
Aumento de bacteremias por <i>Serratia spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> e <i>Providencia spp.</i>	

**pesquisas relacionadas principalmente ao estudo com KPCs. Adaptado de BASSETTI & RIGHI (2014) e PAUL et al. (2014).

Praticamente, tem sido observado o surgimento de resistência a todos os antimicrobianos desenvolvidos e utilizados rotineiramente em um período variável de tempo, e o caso dos carbapenêmicos não é exceção. Da sua emergência até sua disseminação, alguns fatores extrínsecos às bactérias são fundamentais para que haja ocorrência disseminada de carbapenemases, como a prescrição aumentada de antimicrobianos combinada ao fácil acesso e falta de regulamentação rigorosa quanto a compra desses compostos, falta de medidas de controle de infecções bem estabelecidas nos diversos hospitais em resposta às infecções por ERCs e o uso contínuo e em larga escala de doses subterapêuticas para o melhor crescimento e profilaxia contra infecções de animais na agropecuária (MELETIS, 2016).

Dessa forma, a ocorrência de infecções não tratáveis pode aumentar nos próximos anos. E apesar da evolução tecnológica da Medicina, situações dramáticas da Era pré-antibiótica serão vivenciadas. Nos Estados Unidos, o CDC relatou em 2013 que dois milhões de pessoas apresentaram infecções complicadas devido à resistência bacteriana e que 23.000 foram a óbito como consequência (MELETIS, 2016).

Apesar de todas as dificuldades quanto à terapêutica, uma nova droga lançada, composta por uma associação entre ceftazidima e um novo inibidor de β -lactamase, avibactam, vem sendo utilizado na prática clínica. O avibactam tem a capacidade de inibir ESBLs, AmpC e carbapenemases da classe A, inclusive a KPC, mas não tem efeito sobre M β Ls (MELETIS, 2016). Entretanto, resistência a essa droga já foi observada em isolados de *K. pneumoniae* produtores de KPC-3 *in vitro* (LIVERMORE et al, 2015) e *in vivo* (HUMPHRIES et al., 2015).

6. CONCLUSÃO

De fato, as bactérias apresentam uma tendência à aquisição de genes de resistência, principalmente a família Enterobacteriaceae, de acordo com a necessidade de sobrevivência em resposta às injúrias ambientais. Resistência aos carbapenêmicos em bactérias Gram-negativas, especialmente pela produção de carbapenemases, e a falta de desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos por investimento preferencial em drogas relacionadas a longos tratamentos (doenças crônicas), são ocasionalmente fatores predisponentes a rápida emergência de pan-resistência (PDR), uma vez que quanto mais forem utilizadas as últimas opções terapêuticas, mais resistência emerge e dissemina-se (MELETIS, 2016). Com preocupação, observa-se que o uso de polimixinas em monoterapia aumenta o risco de ocorrência de surtos por ERCs também resistentes a estes antimicrobianos (BASSETTI & RIGHI, 2014; MELETIS, 2016; PAUL et al., 2014).

Até que sejam confeccionadas novas drogas que representem alternativas confiáveis ao uso de carbapenêmicos, a racionalização do uso de antimicrobianos ambulatorialmente e em animais, a aplicação de medidas rigorosas de controle de infecções e a vigilância ativa quanto ao perfil de resistência aos carbapenêmicos são as ações de maior importância. A vigilância ativa nos setores críticos pelas CCIHs institucionais e por órgãos de vigilância locais, como os órgãos brasileiros, FIOCRUZ e LACEN, permite o estudo de cepas produtoras de carbapenemases endêmicas, sendo capaz de guiar a elaboração de estratégias eficazes nos setores específicos (MELETIS, 2016). No entanto, estudos feitos no Brasil são voltados majoritariamente para a pesquisa de KPC, o que dificulta uma avaliação detalhada do perfil de outras carbapenemases produzidas pelas amostras de *E. coli* resistentes aos carbapenêmicos, isoladas em nosso país.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, E P; CHAIN, E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. **Reviews of infectious diseases**. 1940 [S.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v146/n3713/pdf/146837a0.pdf>>. Acesso em: 19 out. 2016

ADLER, Amos et al. Introduction of OXA-48-producing Enterobacteriaceae to Israeli hospitals by medical tourism. **J Antimicrob Chemother** v. 66, n. 12, p. 2763-66, 2011.

AGABOU, A. et al. First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** v. 33, n. 9, p. 1641–46, 2014.

AKTAS, Z. et al. Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-48 persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. **Chemotherapy** v. 54, p. 101–106, 2008.

ALVES, Anelise & BEHAR, Paulo. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de Kpc em um hospital terciário do sul do Brasil. **Revista da AMRIGS** v. 57, n. 3, p. 213-18, 2013.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Atualização do comunicado de risco nº002/2013 - GVIMS/GGTES - ANVISA, que trata da circulação de micro-organismos com mecanismo de resistência denominado "New Delhi Metalobetalactamase" ou NDM em diferentes regiões do Brasil**. Comunicado de risco nº003/2013 - GVIMS/GGTES. Brasília, 2013a. Disponível em: < http://www.riscobiologico.org/lista/20130912_04.pdf>. Acesso em 28 Dez 2016

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes**. Nota técnica nº01/2013. Brasília, 2013b. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271858/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+01+de+2013/5be89853-7eca-4b4b-98e4-5096b9f5a2ec>>. Acesso em: 9 Jan 2017

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim informativo da rede nacional de monitoramento da resistência microbiana em serviços de saúde – rede RM: resistência microbiana em IPCSL relacionada a CVC em UTI (2012)**. Ano IV Edição nº 7. Brasília, 2014. Disponível em: <<http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/07-rede-nacional-de-monitoramento-da-resistencia-microbiana-em-servicos-de-saude-rede-rm-resistencia-microbiana-em-ipcsl-relacionada-a-cvc-em-uti-2012>>. Acesso em: 19 Out 2016

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Teste de sensibilidade aos antimicrobianos**. Etest® [Internet], 2016. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/etest.htm>. Acesso em 8 Jan 2017

BABINCHAK, Timothy et al. The efficacy and safety of tigecycline for the treatment of complicated intra-abdominal infections: analysis of pooled clinical trial data. **Clin Infect Dis** v. 41, suppl. 5, p. 354-67, 2005.

BASSETTI, M. & RIGHI, E. SDD and colistin resistance: end of a dream? **Intensive Care**

Medicine v. 40, p. 1066 – 67, 2014.

BENTLEY, Ronald. Different roads to discovery: prontosil (hence sulfa drugs) and penicillin (hence β -lactams). **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** v. 36, n. 6, p. 775–86, 2009.

BERMUDES, H. et al. Molecular characterization of TEM-59 (IRT-17), a novel inhibitor-resistant TEM-derived β -lactamase in a clinical isolate of *Klebsiella oxytoca*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 43, p. 1657–1661, 1999.

BEVERIDGE, Terry. Structures of Gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. **Journal of Bacteriology** v. 181, n. 16, p. 4725-33, 1999.

BIRGY, André et al. Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **J Clin. Microbiol** v. 50, n. 4, p. 1295-1302, 2012.

BISWAS, Silpak et al. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. **Expert Rev Anti Infect Ther** v. 10, n. 8, p. 917-34, 2012.

BRADFORD, Patricia et al. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -actamase, and the loss of an outer membrane protein. **Antimicrob Agents Chemother** v. 41, n. 3, p.563-69, 1997.

BRINK, Adrian et al. Emergence of OXA-48 and OXA-181 carbapenemases among Enterobacteriaceae in South Africa and evidence of in vivo selection of colistin resistance as consequence of selective decontamination of the gastrointestinal tract. **J Clin Microbiol** v. 51, p. 369–72, 2013.

BUSH, Karen. Extended-spectrum beta-lactamases in North America, 1987-2006. **Clin Microbiol Infect** v. 14, Suppl. 1, p. 134–43, 2008.

BUSH, Karen & JACOBY, George A. Updated functional classification of β -lactamases. **Antimicrob Agents Chemother** v. 54, n. 3, p. 969–76, 2010.

CADTH – *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health*. **Carbapenems for multi-drug resistant infections: a review of guidelines**. Rapid Response Reports. Ottawa, ON, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0089697/>>. Acesso em: 30 Nov 2016

CAMPBELL, Elizabeth et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. **Cell** v. 104, p. 901–12, 2001.

CARLET, Jean et al. Epidemiology and control of antibiotic resistance in the intensive care unit. **Curr Opin Infect Dis** 17, p. 307-16, 2004.

CARRÈR, A. et al. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. **Antimicrob Agents Chemother** v. 52, p. 2950–54, 2008.

CARVALHO-ASSEF, Ana Paula et al. *Escherichia coli* producing KPC-2 carbapenemase: first report in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** v. 68, p. 337–38, 2010.

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2013**. U.S. Department of Human Health and Services, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>> Acesso em: 16 Out 2016

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*. **Facility guidance for control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)**. U.S. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf>>. Acesso em: 20 Dez 2016

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 26th ed. supplement M100S**. Wayne, PA; 2016. Disponível em: < <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>>. Acesso em: 8 Jan 2017

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100–S22**. Wayne, PA; 2012. Disponível em: < <http://mazums.ac.ir/dorsapax/userfiles/file/moavenat%20darman/M100-S22.pdf>>. Acesso em: 8 Jan 2017

COCULESCO, B.I. Antimicrobial resistance induced by genetic changes. **J Med Life** v. 2 n. 2, p. 114 – 23, 2009.

CORNAGLIA, Giuseppe et al. Diffusion of meropenem and imipenem through the outer membrane of *Escherichia coli* K-12 and correlation with their antibacterial activities. **Antimicrob Agents Chemother** v. 36, n. 9, p. 1902-08, 1992.

CORREAL, Julio C.D. et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole and fluoroquinolones resistant *Escherichia Coli* in community-acquired and nosocomial urinary tract infections in Rio De Janeiro, Brazil. **J Infect Dis Ther** 2: 192, 2014. Disponível em: <doi:10.4172/2332-0877.1000192>. Acesso em: 20 out 2016

CUZÓN, Gaelle; BONNIN, Rémy A.; NORDMANN, Patrice. First identification of novel NDM carbapenemase, NDM-7, in *Escherichia coli* in France. **PLoS One** v. 8, n. 4, e61322, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3625146/>>. Acesso em: 10 Dez 2016

DIMOU, Vassiliki et al. Characterization of Enterobacteriaceae producing OXA-48-like carbapenemases in the UK. **J. Antimicrob. Chemother** v. 67, n. 7, p. 1660-65, 2012.

EUCAST - *European Committee of Antimicrobial Suscetibility Testing*. [S.I] **Antimicrobial wild type distributions of microorganisms, 2016**. Disponível em: < <http://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=-1&Specium=162>>. Acesso em: 29 Dez 2016.

EUCAST – *European Committee of Antimicrobial Suscetibility Testing*. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. **Clinical Microbiology and Infection** v. 19, n. 2, p. 141-160, 2013.

FALAGAS, Matthew et al. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v. 58, n. 2, p. 654–63, 2014.

- FONG, I.W. & DRLICA, Karl. **Antimicrobial resistance and implications for the twenty-first century**. New York, NY. Springer, 2008.
- FORD, Nathan et al. Safety of cotrimoxazole in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. **J Acquir Immune Defic Syndr** v. 66, n. 5, p. 512–21, 2014.
- GALANI, I. et al. First identification of an *Escherichia coli* clinical isolate producing both metallo- β -lactamase VIM-2 and extended-spectrum β -lactamase IBC-1. **Clin Microbiol Infect** 10, p. 757–60, 2004.
- GEDDES, Alasdair. 80th Anniversary of the discovery of penicillin. An appreciation of Sir Alexander Fleming. **International Journal of Antimicrobial Agents** v. 32, n. 5, p. 373, 2008.
- GHUYSEN, J. M. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. **Ann Rev Microbiol** v. 45, p.37-67, 1991.
- GIACOBBE, Daniele et al. Emergence of a KPC-3-producing *Escherichia coli* ST69 as a cause of bloodstream infections in Italy. **Microbial Drug Resistance** v. 21, n. 3, p. 342-44, 2015.
- GREER, Nickie. Tigecycline (tygacil): the first in the glycolcycline class of antibiotics. **Proc Bayl Univ Med Cent** v. 19, n. 2, p. 155–161, 2006.
- GÜLMEZ, Doluney et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. **Int J Antimicrob Agents** 31, p. 523–26, 2008.
- HORNSEY, Michael; PHEE, Lynette; WAREHAM, David W. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. **Antimicrob Agents Chemother** v. 55, n.12 p. 5952–54, 2011.
- HUMPHRIES, R. et al. First report of cef- tazidime-avibactam resistance in a KPC-3 expressing *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 59, p. 6605-07, 2015.
- ITO, H et al. Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta- lactamase gene *bla_{IMP}* among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 39, n. 4, p. 824–9, 1995.
- JACOBY, George A. & TRAN, John. Sequence of the MIR-1 β -lactamase gene. **Antimicrob Agents Chemother** v. 43, n. 7, p. 1759–60, 1999.
- KALITA, Anjana; HU, Jia; TORRES, Alfredo. Recent advances in adherence and invasion of pathogenic *Escherichia coli*. **Curr Opin Infect Dis** v. 27, n. 5, p. 459–64, 2014.
- KAPER, James; NATARRO, James; MOBLEY, Harry. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology** v. 2, p. 123-40, 2004.
- KIM, Young et al. Features of infections due to *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase–producing *Escherichia coli*: emergence of sequence type 131. **Clin Infect Dis** v. 55, n. 2, p. 224–31, 2012.

- KLIEBE, Christine et al. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. **Antimicrob Agents Chemother** v. 28, n. 2, p. 302–7, 1985.
- KOH, TH et al. Carbapenem-hydrolysing IMP-1 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* from Singapore. **Lancet** v. 353, n. 9170, p.2162, 1999.
- KOHANSKI, Michael; DWYER, Daniel; COLLINS, James J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. **Nat Rev Microbiol** v. 8, n. 6, p. 423–35, 2010.
- LASCOLS, Christine et al. Surveillance and molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* isolates that produce carbapenemases: first report of OXA-48-like enzymes in North America. **Antimicrob Agents Chemother** v. 57, p. 130–36, 2013.
- LASTOURS, Victoire et al. Independent behavior of commensal flora for carriage of fluoroquinolone-resistant bacteria in patients at admission. **Antimicrob Agents Chemother** v. 54, n. 12, p. 5193–5200, 2010.
- LEE, David et al. Novel computational protocols for functionally classifying and characterising serine beta-lactamases. **PLoS Comput Biol** v. 12, n. 6, e1004926, 2016. Disponível em: <doi:10.1371/journal>. Acesso em: 30 nov. 2016
- LINCOPAN, N. et al. First isolation of metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. **J Clin Microbiol** v. 43, p. 516–19, 2005.
- LIVERMORE, D. et al. In vitro selection of ceftazidime-avibactam resistance in Enterobacteriaceae with KPC-3 carbapenemase. **Antimicrob Agents Chemother** v. 59, p. 5324-30, 2015.
- MARCHIARO, P. et al. 2008. Biochemical characterization of metallo- β -lactamase VIM-11 from a *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 52, p. 2250–58, 2008.
- MATAR, G. et al. Spread of OXA-48-mediated resistance to carbapenems in Lebanese *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* that produce extended spectrum β -lactamase. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology** v. 104, n. 3, p. 271-74, 2010.
- MELETIS, Georgios. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. **Ther Adv Infect Dis** v. 3, n. 1, p. 15–21, 2016.
- MERLINO, John et al. Evaluation of CHROMagar Orientation for Differentiation and Presumptive Identification of Gram-Negative Bacilli and Enterococcus Species. **Journal of Clinical Microbiology** v. 34, n.7, p. 1788–93, 1996.
- MOCQUET, Olivier et al. Class D OXA-48 carbapenemase in multidrug-resistant enterobacteria, Senegal. **Emerg Infect Dis** v.17, n. 1, p. 143–4, 2011.
- MOHAMED, Yasmine et al. Membrane permeabilization of colistin toward pan-drug resistant Gram-negative isolates. **Brazilian Journal of Microbiology** n. 47, p. 381–88, 2016.
- MONTEIRO, Jussimara et al. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrob. Agents Chemother** v. 53, n. 1, p. 333-4, 2009.
- MORRIS, Dearbháile et al. Production of KPC-2 Carbapenemase by an *Escherichia coli* Clinical Isolate Belonging to the International ST131 Clone. **Antimicrob Agents**

Chemother v. 55, n. 10, p. 4935-36, 2011.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

NAVON-VENEZIA, Shiri et al. Plasmid-mediated imipenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 among multiple carbapenem-resistant *Escherichia coli* clones in Israel. **Antimicrob Agents Chemother** v. 50, n. 9, p. 3098–3101, 2006.

NORDMANN, Patrice; BOULANGER, Anne E.; POIREL, Laurent. NDM-4 metallo-beta-lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 56, n. 4, p. 2184–86, 2012a.

NORDMANN, Patrice; DORTET, Laurent; POIREL, Laurent. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! **Trends in Molecular Medicine** v. 18, n. 5, p. 263–272, 2012b.

NORDMANN, Patrice; POIREL, Laurent; DORTET, Laurent. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases** v. 18, N. 9, p. 1503-07, 2012c. Disponível em: < www.cdc.gov/eid>. Acesso em: 24 Dez 2016

NORDMANN, Patrice & POIREL, Laurent. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. **Clin Microbiol Infect** v. 20, p. 821–30, 2014.

OLAITAN, Abiola O.; MORAND, Serge; ROLAIN, Jean-Marc. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. **Front Microbiol** n. 5, p. 643, 2014.

OTEO, Jesús; PÉREZ-VÁZQUEZ, María; CAMPOS, José. Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. **Current Opinion in Infectious Diseases** n. 23, p. 320 – 26, 2010.

PAPP-WALLACE, Krisztina et al. Carbapenems: past, present, and future. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy** v. 55, n. 11, p. 4943–60, 2011.

PAUL, M. et al. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 2014. Disponível em:< <http://jac.oxfordjournals.org/content/early/2014/05/27/jac.dku168.long>> Acesso em: 16 Out 2016

PAVEZ, Mónica & MAMIZUKA, Elsa M. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrob. Agents Chemother** v. 53, n. 6, p. 2702, 2009.

PEREIRA, Polyana et al. Coproduction of NDM-1 and KPC-2 in *Enterobacter hormaechei* from Brazil. **Microb Drug Resist** v. 21, n. 2, p. 234-6, 2015.

PFEIFER, Yvonne et al. Emergence of OXA-48-type carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in German hospitals. **Antimicrob Agents Chemother** v. 56, n. 4, p. 2125–28, 2012.

PHE – Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. **Standards Unit** [S.l.: s.n.], Inglaterra, 2015.

PINTO, Fábio et al. Prevalência de carbapenemases em enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em quatro hospitais terciários de Porto Alegre. **Clin Biomed Res** v. 34, n. 1, p. 47-52, 2014.

PITOUT, JD. Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. **Drugs** v. 70, n. 3, p. 313-33, 2010.

POIREL, Laurent et al. Emergence of OXA-48-producing *Escherichia coli* clone ST38 in France. **Antimicrob Agents Chemother** v. 55 n. 10, p. 4937-38, 2011.

POIREL, Laurent; POTRON, Anaïs; NORDMANN, Patrice. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. **J Antimicrob Chemother**, 2012. [Internet] Disponível em: <doi:10.1093/jac/dks121>. Acesso em: 20 Dez 2016

PORRES-OSANTE, Nerea et al. Emergence of a multiresistant KPC-3 and VIM-1 carbapenemase-producing *Escherichia coli* strain in Spain. **J Antimicrob Chemother** v. 69, n. 7, p. 1792-95, 2014.

POTRON, Anaïs et al. Importation of KPC-2-producing *Escherichia coli* from India. **J Antimicrob Chemother** 2011a. Disponível em: <doi: 10.1093/jac/dkr426>. Acesso em: 08 Dez 2016

POTRON, Anaïs et al. Characterization of OXA-181, a carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother** n. 55, p. 4896–99, 2011b.

POTRON, Anaïs et al. European dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. **Clin Microbiol Infect** v. 17, p. 24–26, 2011c.

RAPP, Robert P.; URBAN, Carl. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases in enterobacteriaceae: history, evolution, and microbiology concerns. **Pharmacotherapy** v. 32, n. 5, p. 399–407, 2012.

RAZAZI, Keyvan et al. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. **Intensive Care Med** v. 38, p. 1769–1778, 2012.

RICHTER, Sara et al. Transfer of KPC-2 carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* in a patient: first case in Europe. **J Clin Microbiol** v. 49, n. 5, p. 2040–42, 2011.

ROBLEDO, Iraída E.; AQUINO, Edna E.; VÁZQUEZ, Guilherme J. Detection of the KPC gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-based nosocomial surveillance study in Puerto Rico. **Antimicrob Agents Chemother** v. 55, n. 6, p. 2968–70, 2011.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, Jose-Manuel et al. VIM-19, a metallo- β -lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 54, n. 1, p. 471–76, 2010.

ROGERS, Benjamin A.; SIDJABAT, Hanna E.; PATERSON, David L. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. **J. Antimicrob.**

Chemother v. 66 n.1, p. 1-14, 2011.

ROSSI, Flávia. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clin Infect Dis** v. 52, n. 9, p. 1138-43, 2011.

ROZALES, F. P. et al. bla OXA-48-like: Descrição do primeiro caso no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 27., 2013, Natal. **Anais...** Natal, 2013.

SALABI, E.I.; WALSH, T. R.; CHOUCANI, C. Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. **Crit Rev Microbiol** v. 39, n. 2, p.113-22, 2013.

SAMPAIO, Jorge et al. Detection of OXA-370, an OXA-48-Related Class D β -Lactamase, in *Enterobacter hormaechei* from Brazil. **Antimicrob Agents Chemother** v. 58, n. 6, p. 3566–67, 2014.

SCOULICA, Efsthia et al. Spread of blaVIM-1-producing *E. coli* in a university hospital in Greece. Genetic analysis of the integron carrying the blaVIM-1 metallo- β -lactamase gene. **Diagnostic Microbiology & Infectious Diseases** v. 48, n. 3, p. 167–72, 2004.

SHRESTHA, Basudha et al. Identification of a novel NDM variant, NDM-13, from a multidrug-resistant *Escherichia coli* clinical isolate in Nepal. **Antimicrob Agents Chemother** v. 59, n. 9, p. 5847–50, 2015.

SIDJABAT, Hanna et al. Interspecies spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene in a single patient. **Clinical Infectious Diseases** v. 49, p. 1736–38, 2009.

SIEVERT, D. et al. - National Healthcare Safety Network (NHSN) Team and Participating NHSN Facilities. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. **Infect Control Hosp Epidemiol** n. 1, p.1-14, 2013.

STAPLETON, Paul; SHANNON, Kevin; FRENCH, Gary. Carbapenem-resistance in *Escherichia coli* associated with plasmid-determined CMY-4 β -lactamase production and loss of an outer membrane protein. **Antimicrob Agents Chemother** v. 43, n. 5, p. 1206-10, 1999.

SUÁREZ, Cristina. & GUDIOL, Francesc. Beta-lactam antibiotics. **Enferm Infecc Microbiol Clin** v. 27, n. 2, p.116-29.

TÄNGDÉN, T. & GISKE, C. G. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. **J Intern Med** n. 277, p. 501–12, 2015.

TAVARES, Carolina P. **Caracterização molecular de Enterobacteriaceae não-Klebsiella pneumoniae produtoras de KPC isoladas em diferentes estados brasileiros**. 2014. 130 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)- Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://157.86.8.8/reports/mestrado_bibcb/carolina_tavares_ioc_mest_2014.pdf>. Acesso em: 9 out. 2016

TAVARES, Carolina Padilha et al. Molecular epidemiology of KPC-2-producing Enterobacteriaceae (non-*Klebsiella pneumoniae*) isolated from Brazil. **Diagnostic**

microbiology and infectious disease v. 82, n. 4, p. 326-330, 2015.

TÓRTOLA, M. Teresa et al. First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in two Enterobacteriaceae isolates in Spain. **Antimicrob Agents Chemother** v. 49, n. 8, p. 3492–94, 2005.

TULANE UNIVERSITY. Beta-lactam pharmacology. School of Medicine. [S.l; s.n] 2015. Disponível em: <http://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/beta_lactam_working_rough_draft_-_not_ready_for_prime_time>. Acesso em: 3 Jan 2017

TZOUVELEKIS, L. S. et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. **Clinical Microbiology Reviews** v. 25 n.4: p. 682 – 707, 2012.

TZOUVELEKIS, L. S. et al. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Clin Microbiol Infect** v. 20, p. 862–72, 2014.

URWIN, Rachel & MAIDEN, Martin. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. **Trends in Microbiology** v. 11, n. 10, p. 479–87, 2003.

VANDEVASI, V. G. et al. Active Site Protonation States in an Acyl-enzyme Intermediate of a Class A β -lactamase with a Monobactam Substrate. **Antimicrob Agents Chemother** 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27795378>>. Acesso em: 01 Dez 2016

WATANABE M et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 35, n. 1, p.147–51, 1991.

WILSON, Daniel. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. **Nature Reviews Microbiology** v. 12, p. 35–48, 2014.

YIGIT, Hesna et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother** v. 45, n. 4, p. 1151–61, 2001.

YONG, Dongeun et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, *bla*_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p. 5046–54, 2009.

ZOWAWI, Hosam et al. Molecular characterization of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the countries of the Gulf Cooperation Council: dominance of OXA-48 and NDM producers. **Antimicrob Agents Chemother** v. 58, n. 6, p. 3085–90, 2014.

ZURFLUH, Katrin et al. Emergence of *Escherichia coli* producing OXA-48 β -lactamase in the community in Switzerland. **Antimicrob Resist Infect Control** n. 4, p. 9, 2015.