

Enterobactérias Resistentes a Carbapenêmicos: Estudo em Hospital Universitário

Enterobacteriaceae resistant to Carbapenems: Study in University Hospital

Ledilce Almeida Ataíde¹, Sérgio Marcone Moraes Abade¹

¹ Centro Universitário da Bahia ESTACIO/FIB, Salvador, BA, Brasil

Submissão: 19/10/15

Aceite: 02/12/15

pinheiro.lea@hotmail.com

RESUMO: As Enterobacteriaceae são bactérias Gram-negativas e frequentes causadoras de infecções hospitalares. O surgimento de cepas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) reduziu a utilização das cefalosporinas no tratamento, tendo como consequência, o uso de carbapenêmicos como opção terapêutica. Entretanto, devido ao fato do seu consumo ter aumentado significativamente a nível mundial, isso resultou em um número crescente de enterobactérias resistentes a esse grupo de antibióticos. Logo, o conhecimento de sua prevalência nas instituições de saúde é relevante a fim de limitar a disseminação dessas bactérias, contribuindo para a redução das taxas de morbimortalidade associada a infecções por esses microrganismos. O presente estudo se propôs investigar a prevalência de Enterobactérias Resistentes aos Carbapenêmicos (ERCs) em um hospital público, no ano de 2013, analisando a prevalência por sexo, unidade de internamento, amostra biológica, espécie bacteriana e teste de sensibilidade aos carbapenêmicos. A identificação fenotípica e os testes de sensibilidade bacteriana foram realizados através do analisador automatizado *Vitek 2*, no próprio Laboratório de Bacteriologia do hospital de estudo. Durante esse período foram realizadas 36.488 culturas, das quais 5.119 foram positivas para o crescimento bacteriano. Desse total, 1.498 foram enterobactérias, onde 57 (3,8%) apresentaram resistência a algum carbapenêmico (imipenem e/ou meropenem e/ou ertapenem). As ERCs mais prevalentes foram a *Klebsiella pneumoniae* (28/57), *Enterobacter cloacae* (10/57) e *Proteus mirabilis* (09/57) com os percentuais de 49%, 17% e 16%, respectivamente. A *Klebsiella pneumoniae* foi a ERC mais prevalente entre as enterobactérias analisadas, representando 1,87% do total. Esses dados corroboram com estudos que demonstram que a *Klebsiella pneumoniae* é a mais prevalente ERC, além de subsidiar a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do referido hospital com informações para que sejam implantadas medidas eficazes de combate, prevenção e controle de disseminação destes microrganismos.

DESCRITORES: Resistência à Doença. Enterobactérias. Carbapenêmicos.

ABSTRACT

KEYWORDS: Disease Resistance. Enterobacteriaceae. Carbapenems.

INTRODUÇÃO

As Enterobacteriaceae são bactérias Gram-negativas causadoras de diversos tipos de infecções no âmbito hospitalar. O surgimento de cepas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) têm dificultado o uso das cefaloporinas de amplo espectro no tratamento rotineiro para estas bactérias. Como consequência, os carbapenêmicos têm sido utilizados como escolha terapêutica, porém o uso cada vez maior destes antimicrobianos, tanto no Brasil como em todo o mundo, têm resultado em um número crescente de isolados resistentes a esse grupo de antibióticos. A emergência destas cepas tem representado um importante desafio de cuidados de saúde e os índices de mortalidade têm alcançado mais de 50% em alguns estudos.¹ Um aspecto importante nesse cenário é que estas cepas frequentemente carregam genes de resistência a outras bactérias, resultando em limitadas opções terapêuticas. Nos serviços de saúde, infecções por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERCs) ocorrem mais comumente entre os pacientes que estão recebendo tratamento cujos cuidados requerem aparelhos como ventiladores (respirando através de máquinas), cateteres urinários (bexiga), ou cateteres intravenosos, e pacientes que estão em terapia prolongada com antibióticos.²

As cepas de ERCs se disseminam com facilidade, sendo a sua contenção um grande desafio para os serviços de controle de infecção hospitalar, devido ao número limitado de agentes disponíveis para o tratamento.^{3,4} Além do mais, algumas ERCs se tornam resistentes a maioria dos antibióticos.¹ As polimixinas, aminoglicosídeos e a tigeciclina representam opções terapêuticas por apresentarem atividade *in vitro* frente a estas bactérias.⁵ A fosfomicina tem sido relatada como efetiva para o tratamento de infecções não complicadas do trato urinário.⁶

Vários mecanismos são responsáveis pela resistência aos carbapenêmicos entre Enterobacteriaceae. A resistência ocorre por diminuição da permeabilidade da membrana externa (perda ou alterações na estrutura de porinas), alteração do sítio de ligação aos antibióticos, atividade de bombas de efluxo que promovem a diminuição da concentração do antimicrobiano no interior da bactéria e por ação enzimática (betalactamases), como as carbapenemases, que degradam ou inativam eficazmente os antibióticos carbapenêmicos, penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos.⁷⁻⁹ As carbapenemases mais importantes clinicamente produzidas por Enterobacteriaceae são

da classe B, *metalo-Beta-lactamases (MBLs)*, representadas por *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase (VIM)*, *Imipenem as metallo-β-lactamase (IMP)*, e *New Delhi metallo-β-lactamase (NDM)*; a classe A, representada pela *Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)* e a classe D, representada pela *OXA-48*.^{3,10} Outras carbapenemases são também descritas, porém ocorrem muito raramente (SME, IMI, SPM).⁶ A produção de carbapenemases em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* têm ocorrido com maior frequência, mas outras Enterobacteriaceae podem ser importantes em algumas regiões. Algumas bactérias dessa família possuem CIMs (concentrações inibitórias mínimas) elevadas ao imipenem por outros mecanismos que não a produção de carbapenemases (*Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Providencia* spp.).¹¹

Assim, estudos de prevalência de ERCs são úteis para o desenvolvimento de estratégias visando controlar a disseminação destas bactérias, bem como contribuir para a tomada de decisões terapêuticas adequadas. Baseado nessa realidade, o objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência de ERCs no Hospital Geral Roberto Santos - HGRS.

MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no laboratório de bacteriologia do Hospital Geral Roberto Santos (HGRS), em Salvador, Bahia, Brasil. O HGRS é um hospital de referência em procedimentos de alta complexidade e o segundo maior hospital de emergência da Bahia. Dispõe de 640 leitos de internação em neurocirurgia, nefrologia, traumatismo raquimedular, traumatismo-ortopedia, Aids, gestação de alto risco, gastroenterologia e demais clínicas básicas. A Unidade de Terapia Intensiva (UTI) funciona atualmente com 22 leitos adultos, 12 pediátricos e 25 neonatais.¹²

Foram incluídos na pesquisa todos os resultados das espécies bacterianas isoladas de culturas advindas dos pacientes internados nas diversas unidades de internamento do HGRS durante o ano de 2013 sem nenhum critério de exclusão.

Realizou-se um estudo retrospectivo observacional transversal que incluiu os pacientes internados no HGRS e cujas culturas bacterianas foram realizadas no período de janeiro a dezembro de 2013. Foram coletados dados demográficos como sexo, unidade de internamento, amostra biológica, espécie bacteriana e teste de sensibilidade aos carbapenêmicos. Os dados dos pacientes com culturas positivas para ERCs foram

avaliados. Os dados foram coletados através de laudos eletrônicos oriundos do banco de dados do Laboratório de Bacteriologia do HGRS.

De acordo com o protocolo utilizado na rotina laboratorial do HGRS, as amostras biológicas foram inoculadas nos meios de cultura Agar-sangue (*bioMérieux*, Brasil S.A.) e Agar-MacConkey (*bioMérieux*, Brasil S.A.), sendo acrescido o caldo BHI (*bioMérieux*, França) para as secreções. Para as amostras de sangue, estas foram inoculadas em frascos de hemoculturas (BacT/ALERT®, *bioMérieux*, França) e semeadas em Agar MacConkey e Agar Chocolate (*bioMérieux*, Brasil S.A.). As espécies bacterianas isoladas foram identificadas em aparelho automatizado VITEK® 2Compact, *bioMérieux*, França, seguindo os protocolos recomendados pelo fabricante. O teste de sensibilidade foi realizado utilizando-se o método de microdiluição em caldo usando o mesmo equipamento (cartões AST 239 e AST 238 para amostras isoladas do trato urinário). Os pontos de corte da concentração inibitória mínima (CIM) para os carbapenêmicos utilizados foram os preconizados pelo CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*), conforme documento M100-S23, 2013.¹³ Os carbapenêmicos analisados nesse estudo foram: Imipenem, Meropenem e Ertapenem.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa do HGRS, sob o parecer CEP/HGRS nº 09/2013.

DISCUSSÃO E RESULTADOS

Klebsiella pneumoniae Carbapenemases (KPC) foram originalmente identificadas nos EUA em 1996. Desde então, estas beta-lactamases versáteis têm se espalhado mundialmente entre as bactérias Gram-negativas, especialmente a *K. pneumoniae*, embora sua epidemiologia precisa seja diversificada entre várias regiões e países^{10,14}. Os genes de resistência aos carbapenêmicos podem, potencialmente, se espalhar rapidamente através de plasmídeos transmissíveis produzindo infecções de difícil controle uma vez debelada.¹⁵ As bactérias da família Enterobacteriaceae são habitantes da flora intestinal e são disseminados facilmente entre os humanos (através das mãos, água ou comida contaminada ou de fontes ambientais).¹⁶ A disseminação hospitalar de ERCs é preocupante, causando infecções graves nas unidades de internamento, principalmente nas UTIs, haja visto que nessas unidades os pacientes são gravemente enfermos. Infecções por ERCs são relatadas com índice de mortalidade

variando em alguns estudos (15,8% a 71,9%).¹⁷⁻¹⁹ Quando há a detecção dessas cepas em uma unidade hospitalar faz-se necessário a adoção de uma estratégia de controle intensiva como a instituição de precauções de contato, reforço na higienização de mãos e realização de culturas de vigilância epidemiológica para identificar portadores.²⁰ Assim, é importante conhecer a prevalência de ERCs nas unidades de saúde de cada região para se implementar medidas de controle de sua disseminação.

Os resultados deste estudo apresentam a primeira estimativa sobre a magnitude e distribuição de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos no HGRS. A identificação dessa resistência foi realizada por detecção automatizada (*Vitek 2 Compact*). É importante considerar que alguns estudos já demonstraram que falsas resistências ao imipenem podem ser detectadas em painéis comercialmente disponíveis, devido à degradação da droga ou a problemas na sua manufatura exibindo concentrações muito baixas do imipenem.²¹⁻²³

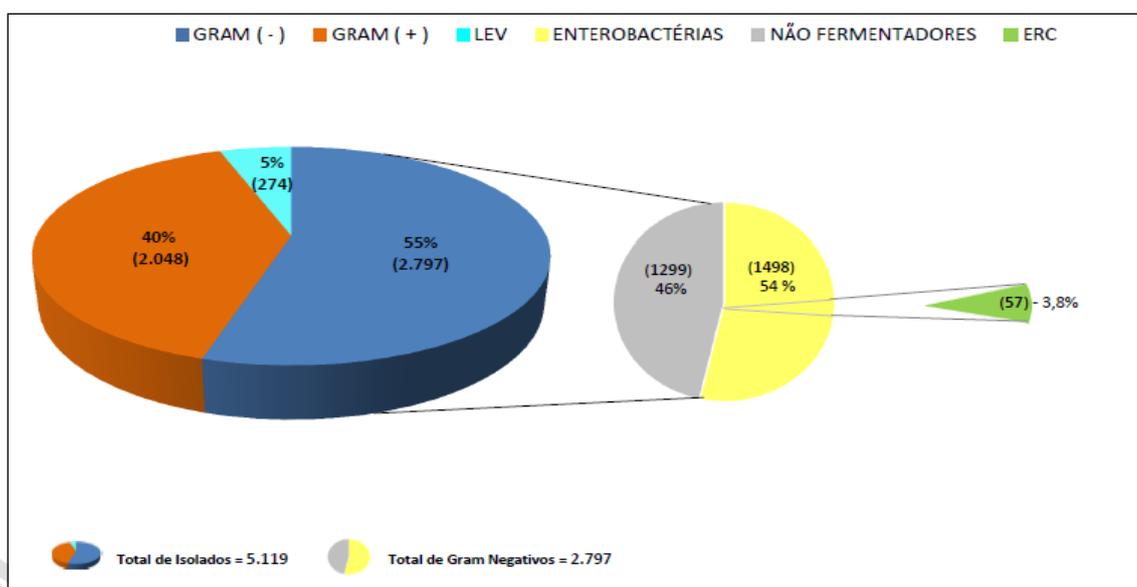
O Laboratório de Bacteriologia do HGRS não dispõe de metodologia molecular para a identificação da resistência aos carbapenêmicos nem de testes fenotípicos com discos de ácido fenilborônico, EDTA e cloxacilina.²⁴ O Teste de Hodge Modificado (THM) é um teste fenotípico que apesar da elevada sensibilidade ($\geq 90\%$) na detecção fenotípica da produção de carbapenemases, enterobactérias produtoras de β -lactamases do tipo AmpC ou ESBL podem apresentar um resultado fracamente positivo no THM e, conseqüentemente, fornecer resultados falso-positivos. Nem todas as cepas produtoras de carbapenemases são THM positivas e pode haver THM positivo por outro mecanismo de resistência que não a produção dessas enzimas. A partir de 2012, o *CLSI* (documento M100-S22) recomendou a realização do THM apenas para fins epidemiológicos.²⁵ O THM ainda apresenta baixa sensibilidade para detecção de New Delhmetalho-beta-lactamase (NDM) ($\leq 50\%$); portanto, até que mais evidências científicas sejam acumuladas este teste não deve ser utilizado para detecção de carbapenemases.²⁴ A confirmação da produção de carbapenemases deve ser realizada preferencialmente por métodos de biologia molecular, os quais permitem a identificação do mecanismo de resistência envolvido.^{26,27} Isolados produtores de NDM-1 são altamente resistentes a outros antibióticos como fluorquinolonas e aminoglicosídeos, usualmente utilizados para tratar infecções por Gram-negativos.²⁸ Já foram relatados casos de NDM-1 no Brasil.²⁴

Neste estudo foram avaliadas as distribuições de ERCs por sexo, unidade de internamento, amostra biológica, identificação bacteriana e teste de sensibilidade aos

carbapenêmicos. Foram analisados um total de 36.488 laudos de culturas bacterianas realizadas durante o ano de 2013 no HGRS. Desse total, 5.119 representaram culturas positivas para o isolamento de bactérias ou leveduras.

O gráfico 1 apresenta a distribuição dos microrganismos isolados para culturas positivas, onde verificou-se que houve 2.797/5.119 isolamentos de bactérias Gram-negativas (55%), sendo que deste quantitativo 1.498/2.797 (54%) são representadas pela família Enterobacteriaceae. Esses dados são concordantes com a literatura, que descreve essa família como a mais isolada na rotina laboratorial.²⁹ Do quantitativo de enterobactérias isoladas, 57/1.498 (3,8%) apresentaram resistência a algum dos seguintes carbapenêmicos: imipenem, meropenem ou ertapenem.

Gráfico 1 - Distribuição dos microrganismos isolados em culturas bacterianas no HGRS durante o ano de 2013.



Em relação à distribuição dos microrganismos resistentes aos carbapenêmicos, foram encontradas as seguintes ocorrências segundo o sexo: 28 casos do sexo masculino e 29 do sexo feminino. As frequências das espécies por sexo encontram-se demonstradas na tabela 1. Percebeu-se que a *Klebsiella pneumoniae*, o microrganismo mais prevalente, também distribuiu-se de maneira equitativa em ambos os sexos.

Tabela 1 - Distribuição das ERCs isoladas por sexo no HGRS durante o ano de 2013.

Sexo	ERCs	Percentual	Bactéria	nº de isolados	Percentual
Masculino	28	49,12%	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	42,86%
			<i>Enterobacter cloacae</i>	6	21,43%
			<i>Proteus mirabilis</i>	4	14,29%
			<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	10,71%
			<i>Morganella morganii</i>	2	7,14%
			<i>Providencia spp</i>	1	3,57%
Feminino	29	50,88%	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	55,17%
			<i>Proteus mirabilis</i>	5	17,24%
			<i>Enterobacter cloacae</i>	4	13,79%
			<i>Morganella morganii</i>	2	6,90%
			<i>Escherichia coli</i>	1	3,45%
			<i>Serratia marcescens</i>	1	3,45%

Na tabela 2 encontram-se a frequência dos microrganismos isolados e seus respectivos percentuais de resistência frente aos carbapenêmicos estudados. Verificou-se que as ERCs mais isoladas foram *Klebsiella pneumoniae* (28/57), *Enterobacter cloacae* (10/57) e *Proteus mirabilis* (09/57) com os percentuais de 49%,17% e 16% respectivamente. O isolamento de *Klebsiella pneumoniae* em maior frequência é concordante com diversos trabalhos, e sua prevalência nesse estudo em relação ao total de enterobactérias foi de 1,87%, semelhante aos percentuais encontrados por HU, 2012 (1,95%), avaliando enterobactérias isoladas a partir de culturas em um hospital terciário.³⁰⁻³⁶ Entretanto, para o ano de 2009 os mesmos autores relataram uma prevalência de 12,87%. Outros estudos apontaram taxas variáveis como HUANG, 2012 (2,97%), FRANCIS, 2012 (7,00%) e LAI, 2013 (8,60%).³⁶⁻³⁸ Quanto à resistência aos carbapenêmicos observou-se uma expressão maior de microrganismos resistentes ao imipenem (35) seguido pelo meropenem (28) e ertapenem (24). *Klebsiella pneumoniae* apresentou os maiores percentuais de resistência, sendo similar para os três carbapenêmicos, porém sendo superiores aos observados por RAMANA, et al, 2014 (28,7%).³⁹ Identificou-se que cinco cepas de *Klebsiella pneumoniae* apresentaram sensibilidade ao ertapenem e resistência aos demais carbapenêmicos testados. Diversas publicações descrevem ser o ertapenem o marcador mais sensível para a produção de carbapenemases por membros da família Enterobacteriaceae, entretanto, as informações

disponíveis sobre a especificidade do ertapenem são conflitantes em alguns trabalhos publicados.⁴⁰ Sabe-se que algumas cepas podem se apresentar como sensíveis por outros mecanismos de resistência tais como a produção de ESBL e/ou AmpC associada a perda de porinas.⁴¹

Todas as cepas de Enterobactercloacae isoladas apresentaram alta resistência ao ertapenem (100%), não se observando para os demais carbapenêmicos. Igualmente para as cepas de *Klebsiella pneumoniae* que foram sensíveis ao ertapenem, estas cepas de enterobactercloacae não foram conformados por outra metodologia (disco-difusão ou biologia molecular). Em um trabalho realizado por LAI (2013), esta bactéria também foi a segunda ERC mais prevalente. *Proteus mirabilis* exibiu alta resistência ao imipenem, em acordo com a literatura.⁴²⁻⁴⁴

Tabela 2 - Distribuição dos microrganismos isolados e seus perfis de resistência aos carbapenêmicos, a partir de culturas realizadas no HGRS durante o ano de 2013

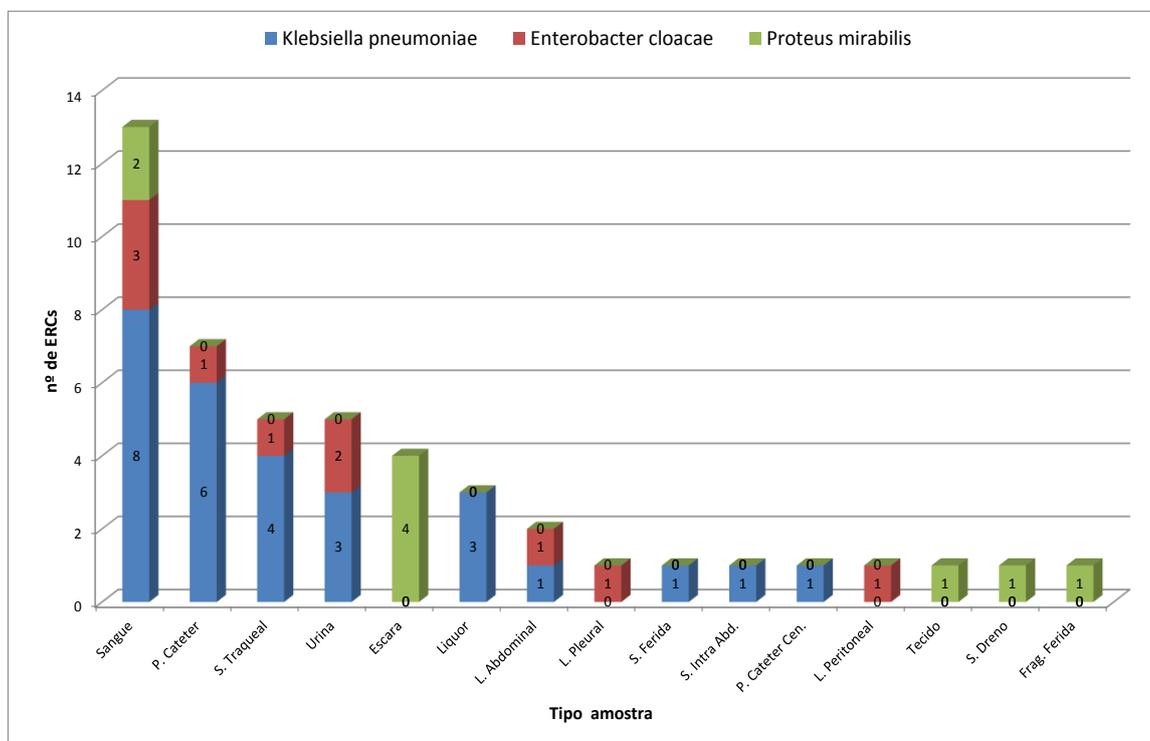
Bactéria	Nº de isolados	Imipenem	Meropenem	Ertapenem
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28	19 (67,85%)*	18 (64,28%)*	13 (46,42%)*
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	1 (10,00%)*	2 (20,00%)*	10 (100,00%)*
<i>Proteus mirabilis</i>	9	7 (77,77%)*	3 (33,33%)*	0 (00,00%)*
<i>Morganella morganii</i>	4	3 (75,00%)*	1 (25,00%)*	0 (00,00%)*
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	3 (100,00%)*	2 (66,66%)*	1 (33,33%)*
<i>Escherichia coli</i>	1	0 (00,00%)*	1 (100,00%)*	0 (00,00%)*
<i>Providencia spp.</i>	1	1 (100,00%)*	1 (100,00%)*	0 (00,00%)*
<i>Serratia marcescens</i>	1	1 (100,00%)*	0 (00,00%)*	0 (00,00%)*

Nota: * Valor percentual de resistência para cada carbapenêmico em relação ao número de isolados para as respectivas bactérias.

O gráfico 2 apresenta a distribuição de isolamento para as três ERCs mais prevalentes por amostras biológica. Observou-se que a amostra onde ocorreu a maior frequência foi o sangue, com um quantitativo de 13 amostras, seguida por ponta de cateter, com 07 amostras, urina e secreção traqueal com 05 amostras cada. Isso pode ter alguma associação com o fato de que o maior número de culturas recebidas pelo laboratório são as hemoculturas (aproximadamente 700 amostras por mês), no entanto, no caso da urina, esta associação não é sugestiva, pois apesar do segundo maior

quantitativo ser representado pelas uroculturas (aproximadamente 300 amostras por mês) a urina ficou em quarto lugar no isolamento de ERC.

Gráfico 2 - Distribuição das ERCs isoladas por amostra biológica no HGRS durante o ano de 2013.



Esse dado encontrado em nosso trabalho foi importante, pois a UTI é considerada um dos ambientes hospitalares mais críticos à resistência bacteriana, atingindo índices de 5 a 10% das infecções hospitalares. As principais razões para isto estão associadas ao risco intrínseco de transmissão de agentes infecciosos entre pacientes e ao uso excessivo de antimicrobianos.^{29,45,46} O uso de antimicrobianos, por sua vez, leva à pressão seletiva –o que promove a seleção de bactérias e fungos usualmente resistentes à maioria dos antibióticos. Estes microrganismos permanecem como colonizantes de pacientes e fazendo parte da microbiota ambiental, os quais por sua vez, serão agentes de infecções subsequentes. Associe-se a isso o fato de que a transmissão interpacientes é ampliada em UTIs, em função da baixa adesão à higienização das mãos, associada ao excesso de trabalho dos profissionais de saúde.²⁹

Os resultados apresentados demonstram a importância de se capacitar o Laboratório de Bacteriologia do HGRS no diagnóstico molecular da resistência aos carbapenêmicos concomitante ao estabelecimento de uma política de vigilância molecular. Esta medida faz-se necessária para que se possam avaliar as resistências de

maior impacto clínico com o objetivo de se estabelecer uma política de uso racional desses antibióticos, bem como instituir medidas de combate e controle de disseminação de ERCs. Além do mais, considerando que a maior prevalência de ERCs ocorreu nas UTIs, estudos de epidemiologia molecular nestas unidades seriam relevantes para elucidar se a disseminação destas cepas ocorre por pressão seletiva frente aos antibióticos ou se deve à falhas no uso de barreiras de contato, no lavar de mãos, ou a uma combinação destas medidas. Este conhecimento ajudaria a estabelecer prioridades nas ações de controle.³⁵

Concordante com a maioria dos dados na literatura, *Klebsiella pneumoniae* foi a ERC mais prevalente. Apesar da taxa de prevalência das ERCs (3,80%) não ter sido alarmante, comparando-se com outros dados obtidos na pesquisa literária, houve uma prevalência significativa de isolamento de ERCs na UTI Geral (29,82%), seguida da UTI Semi-intensiva (10,52%). Isso justifica uma necessidade de segmento deste estudo, da implantação de metodologias moleculares de identificação de carbapenemases, bem como de uma política de vigilância epidemiológica. Além do mais, são necessárias medidas mais rigorosas de controle de infecção para combater e evitar a rápida propagação destes microrganismos no referido hospital, principalmente por se considerar que poucos antibióticos foram descobertos para se tratar estas cepas pan-resistentes.

Uma limitação desse estudo foi a ausência de testes moleculares confirmatórios da produção de carbapenemases o que permitiria uma melhor comparação com os dados da literatura, além de que se identificaria o tipo de gene envolvido sendo possível fazer o mapeamento de clones intra-hospital.

AGRADECIMENTOS

Claudia Maria da Cunha Borges, Gúbio Soares Campos e Carlos Vladimir Neco, pelas contribuições apresentadas para este manuscrito. Ao apoio financeiro do Centro Universitário da Bahia-Estácio/FIB. Ao Hospital Geral Roberto Santos pela concessão dos dados para esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Centers For Disease Control And Prevention (US). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) in Healthcare Settings. Atlanta, 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/>.

2. Minnesota Department Of Health(US). About Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). 2013. Disponível em: <http://www.health.state.mn.us/divs/idepc/dtopics/cre/basics.html>.
3. Ryan SA, Kerri AT, Saarika S, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-Producing Bacteria. South Med J 2011; 104 (1): 40–5.
4. Lee GC, Burgess DS. Treatment of *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*(KPC) infections: a review of published case series and case reports. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2012; 11(32): 1-9.
5. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae carbapenemases* (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. J Antimicrob Chemother 2010; 65 (6): 1119-25.
6. Health Protection Agency And The Advisory Committee On Antimicrobial Resistance And Healthcare Associated Infections (ARHAI). Advice on Carbapenemase Producers: Recognition, infection control and treatment. 2011. Disponível em: <http://www.nric.org.uk/IntegratedCRD.nsf/f0dd6212a5876e448025755c003f5d33/3b0de2e644c527a88025782900507e8e?OpenDocument>.
7. Moland S, Hanson ND, Herrera VL, et al. Plasmid-mediated, carbapenem hydrolysing beta-lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. J Antimicrob Chemother 2003; 51(3): 711-4.
8. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45 (4): 1151-61.
9. Figueiredo DQ, Castro LF, Santos KR, et al. Detecção de metalo-beta-lactamases em amostras hospitalares de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. J Bras Patol Med Lab 2009; 45 (3): 177-184.
10. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. Clin Microb Rev 2012; 25 (4): 682-707.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (US). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Five Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, Pennsylvania, 2015.
12. Governo do Estado da Bahia. Ouvidoria Geral. Investimentos melhoram qualidade e ampliam atendimento nos hospitais estaduais. Salvador, 2014. Disponível em: <http://www.ouvidoriageral.ba.gov.br/tag/hospital/>.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (US). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, Pennsylvania, 2013.
14. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* e *carbapenemases*. Lancet Infect Dis 2013; 13 (9): 785-96.

15. Pournaras S, Protonotariou E, Voulgari E, et al. Clonal spread of KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64 (2): 348–52.
16. Lynch JP, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14 (2): 199-210.
17. Daikos GL, Petrikos P, Psychogiou M, et al. Prospective Observational Study of the Impact of VIM-1Metallo- β -Lactamase on the Outcome of Patients with *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Antimicrob Agents and Chemother* 2009; 53 (5): 1868–73.
18. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (1): 54–60.
19. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenber K, et al. Attributable Mortality Rate for Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30 (10): 972–76.
20. Lledo W, Hernandez M, Lopez E, et al. Guidance for Control of Infections with Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Acute Care Facilities. *CDC - MMWR* 2009; 58 (10): 256-60.
21. Centers for Disease Control and Prevention (US). Laboratory Detection of Imipenem or Meropenem Resistance in Gram-negative Organisms. Atlanta, 2010. Disponível em: http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/lab_imipenem.html#a7.
22. O'rourke EJ, Lambert KG, Parsonnet KC, et al. False resistance to imipenem with a microdilution susceptibility testing system. *J Clin Microbiol* 1991; 29 (4): 827-29.
23. Grist R. External factors affecting imipenem performance in dried microdilution MIC plates. *J Clin Microbiol* 1992; 30 (2): 535-36.
24. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Nota Técnica nº 01/2013: Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília, 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ea4d4c004f4ec3b98925d9d785749fbd/Microsoft+Word++NOTA+T%C3%89CNICA+ENTEROBACTERIAS+17+04+2013%281%29.pdf?MOD=AJPERES>.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (US). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22 2012; 32 (3). Wayne, Pennsylvania. Disponível em: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/M100S22E.pdf>.
26. Dienstmann R, Picoli SU, Meyer G, et al. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) em *Enterobacteriaceae* de ambiente hospitalar. *J Bras Patol Med Lab* 2010; 46 (1): 23-27.
27. Cai JC, Zhou HW, Zhang R, et al. Emergence of *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Isolates Possessing the Plasmid-Mediated

Carbapenem-Hydrolyzin Beta-Lactamase KPC-2 in Intensive Care Units of a Chinese Hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52 (6): 2014-18.

28. Chen PL, Ko WC. A Continuous Challenge from Gram-negative Bacteria: More Carbapenemases. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; 43 (5): 351-3.

29. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: módulo 4 - Prevenção de infecções em unidade de terapia intensiva. Rev 1.0. São Paulo, 2004. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/iras/M%F3dulo%204%20Preven%E7%E3o%20de%20Infec%E7%F5es%20em%20Unidade%20de%20Terapia%20Intensiva.pdf>.

30. Shanmugam P, Meenakshisundaram J, Jayaraman P. Bla_{KPC} gene Detection in Clinical Isolates of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae in a Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagn Res* 2013; 7 (12): 2736-38.

31. Benenson S, Temper V, Cohen MJ, et al. Imipenem Disc for Detection of KPC Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Practice. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (4): 1617-20.

32. Li H, Zhang J, Liu Y, et al. Molecular characteristics of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in China from 2008 to 2011: Predominance of KPC-2 enzyme. *J Clin Microbiol* 2014; 78 (1): 63-5.

33. Seki LM, Pereira PS, de Souza Conceição M, et al. Molecular epidemiology of CTX-M producing Enterobacteriaceae isolated from bloodstream infections in Rio de Janeiro, Brazil: emergence of CTX-M-15. *Braz J Infect Dis* 2013; 17 (6): 640-46.

34. Hu F, Chen S, Xu X, et al. Emergence of carbapenem-resistant clinical Enterobacteriaceae isolates from a teaching hospital in Shanghai, China. *J Med Microbiol* 2012; 61 (1): 132-6.

35. Pacheco R, Osorio L, Correa AM, et al. Prevalência de bactérias Gram negativas portadoras de genes bla KPC em hospitais de Colombia. *Bio Rev Inst Nacion Sal* 2014; 34 (1): 81-9.

36. Lai CC, Wu UI, Wang JT, et al. Prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and its impact on clinical outcomes at a teaching hospital in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2013; 112(8): 492-6.

37. Huang SR, Liu MF, Lin CF, et al. Molecular surveillance and clinical outcomes of carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* infections. *J Microbiol Immunol Infect* 2012; 47 (3): 187-96.

38. Francis RO, Wu F, Della-Latta P, et al. Rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* e *carbapenemases* genes in enterobacteriaceae directly from blood culture bottles by real-time PCR. *Am J Clin Pathol* 2012; 137 (4): 627-32.

39. Ramana KV, Rao R, SharadaChV, et al. Modified Hodge test: A useful and the low-cost phenotypic method for detection of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae members. *J Nat Sci Biol Med* 2013; 4 (2): 346-8.

40. McGettigan SE, Andreacchio K, Edelstein PH. Specificity of ertapenem susceptibility screening for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *J Clin Microbiol* 2009; 47 (3): 785-6.
41. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009; 9 (4): 228–36.
42. Villar HE, Danel F, Livermore DM. Permeability to carbapenems of *Proteus mirabilis* mutants selected for resistance to imipenem or other β -lactams. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40 (3): 365-70.
43. Yourassowsky E, Van der Linden MP, Crokaert F. Antibacterial effect of meropenem and imipenem on *Proteus mirabilis*. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26 (2): 185-92.
44. Clinical and Laboratory Standards Institute (US). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, Pennsylvania. 2014. Disponível em: http://clsi.org/blog/2014/01/27/m100-s24_em100_2014/.
45. Moraes AAP, Santos RDL. Infecção em UTI geral de um hospital universitário. *Rev Bras TerIntens* 2003; 15 (4): 135-41.
46. Garcia LM, César ICO, Braga CA, et al. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. *Rev Epidemiol Contr Infec* 2013; 3 (2): 45–9.