

Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre

Primeira submissão em 24/02/10
Última submissão em 06/07/10
Aceito para publicação em 20/11/10
Publicado em 20/02/11

Phenotypes of beta-lactamases in Klebsiella pneumoniae from emergency hospital of Porto Alegre

Gabriela Meyer¹; Simone Ulrich Picoli²

unitermos	resumo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<p>Introdução: Mundialmente, o crescente aumento de infecções hospitalares gera a necessidade de estudos na área de resistência bacteriana. Uma das bactérias Gram-negativas de maior prevalência no ambiente nosocomial é a <i>Klebsiella pneumoniae</i>, capaz de expressar uma diversidade de enzimas de resistência, justificando seu monitoramento constante. Objetivo: Analisar a frequência fenotípica das enzimas betalactamases de espectro estendido (ESBL), cromossômicas (AmpC) plasmidial, metalobetalactamase (MBL) e <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase (KPC) oriundas de hospital de emergência em Porto Alegre (RS). Material e método: Foram incluídos no estudo 58 isolados bacterianos com sensibilidade diminuída a cefalosporinas de terceira geração e/ou a cefoxitina. Nestas, foram aplicados os testes de disco-difusão compatíveis para as respectivas betalactamases. Resultados: Encontrou-se elevada frequência de ESBL (48,3%), seguida por ESBL simultânea à AmpC plasmidial (15,5%), além de duas cepas com carbapenemases. Discussão: O elevado índice de ESBL e ESBL/AmpC conduz à necessidade de uso terapêutico de carbapenens. Consequentemente, o uso massivo desses fármacos gera pressão seletiva que favorece o aparecimento de cepas mais resistentes, como as produtoras de carbapenemases (KPC e/ou MBL). As carbapenemases são muito relevantes devido à limitação terapêutica inerente e por seu potencial de disseminação. A resistência a todos os fármacos betalactâmicos usados no <i>screening</i> por disco-difusão pode ser um “sinalizador” laboratorial para a presença desses relevantes mecanismos de resistência. Conclusão: A pesquisa de fenótipos de resistência em <i>Klebsiella</i> é ferramenta fácil e exequível nos laboratórios de microbiologia, além de ser fundamental para o conhecimento da epidemiologia local das betalactamases, possibilitando a adequação da terapia antimicrobiana mais conveniente.</p>
Resistência bacteriana	
ESBL	
KPC	
AmpC plasmidial	
MBL	

abstract

Introduction: Worldwide, the incidence of nosocomial infections raises the studies of bacterial resistance. *Klebsiella pneumoniae* is a Gram-negative bacteria most prevalent in the nosocomial environment, capable of expressing a variety of resistance enzymes, justifying their continued monitoring. **Objective:** We sought to determine the frequency of beta-lactamases ESBL, AmpC plasmid, MBL and KPC in *K. pneumoniae* strains from emergency hospital in Porto Alegre (RS). **Material and method:** Fifty-eight bacterial isolates *K. pneumoniae* with reduced susceptibility to third generation cephalosporins and/or cefoxitin were included in this study. Phenotypic detection of beta-lactamases was carried out by using specific tests for ESBL, AmpC plasmid, KPC and MBL. **Results:** Were detected a high frequency of ESBL (48.3%), followed by the AmpC plasmid/ESBL (15.5%), and two carbapenemase strains. **Discussion:** The high rates of ESBL and ESBL/AmpC leads to the therapeutic use of carbapenens. Consequently, the massive use of carbapenens creates selective pressure favoring the more resistant strains, such as carbapenemase producing (KPC and/or MBL). The carbapenemase is very relevant due to the inherent therapeutic limitation, as well as their potential to spread. The resistance to all beta-lactam drugs used in the screening by disk diffusion can be a “flag” laboratory for presence of relevant mechanisms of resistance. **Conclusion:** Research of resistance phenotypes in *Klebsiella* is easy and feasible tool in microbiology laboratories, and is fundamental to understanding the local epidemiology of beta-lactamases, allowing the appropriateness of antimicrobial therapy more convenient.

key words

Klebsiella pneumoniae
Bacterial resistance
ESBL
KPC
AmpC plasmidic
MBL

1. Biomédica do Instituto Geral de Perícias.

2. Mestra em Microbiologia; professora adjunta da Universidade Feevale/RS.

O estudo foi realizado no Setor de Bacteriologia do Laboratório de Biomedicina da Universidade Feevale/RS.

Introdução

Sabe-se que a infecção hospitalar é um problema de saúde pública, pois na vigência de tratamento malsucedido são geradas recidivas ou pode ocorrer até a morte do paciente. Consequentemente, essa situação conduz ao aumento dos custos da terapia medicamentosa e do tempo de internação, bem como do trabalho dos profissionais da saúde, gerando mais demora no atendimento de outros pacientes.

Um dos gêneros bacterianos comumente isolado em casos de infecção hospitalar, como pneumonia, infecção urinária e septicemia, é a *Klebsiella pneumoniae*⁽⁸⁾, relacionada com as altas taxas de morbimortalidade^(14, 18). Relatos cada vez mais frequentes de surtos hospitalares causados por esse agente justificam sua monitoração no ambiente hospitalar⁽¹⁸⁾.

As infecções hospitalares que se tornam recidivantes têm como uma das causas principais a produção de enzimas responsáveis pela resistência da bactéria frente a determinados antimicrobianos. Essas enzimas estão classificadas de acordo com sua ação sobre os antibióticos⁽²⁴⁾.

No contexto hospitalar, as enzimas mais prevalentes pertencem ao diversificado grupo das betalactamases. Estas degradam os antimicrobianos betalactâmicos, que correspondem a uma classe amplamente empregada no tratamento de infecções graves. São exemplos desses fármacos as cefalosporinas de amplo espectro (ceftazidima, cefotaxina, cefepima, entre outros) e os carbapenens (imipenem [IPM], meropenem [MEM] e ertapenem [ETP]).

Até o momento, as betalactamases de interesse clínico e que apresentam espectro de ação distinto sobre os fármacos betalactâmicos são quatro: betalactamase de espectro estendido (ESBL), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), metalobetalactamase (MBL) e betalactamase classe C (AmpC).

Conceitualmente, as ESBLs hidrolisam a cadeia oximino-betalactâmica, degradando penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos, exceto carbapenens, e são inibidas por inibidores de betalactamase, como clavulanato, sulbactam e tazobactam. Outra enzima, designada KPC, descoberta nos EUA em 2001, é predominantemente encontrada em *K. pneumoniae*, mas já foi reportada em *Enterobacter* sp. e *Salmonella* sp.

Ela tem se expandido notavelmente e confere resistência à totalidade dos betalactâmicos, mesmo àqueles associados a inibidores de betalactamase⁽²⁾. Devido a sua crescente disseminação, em 2009, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) passou a recomendar o uso do teste de Hodge modificado para detecção de KPC em *K. pneumoniae*. Porém, a interpretação deste pode ser dificultada por não individualizar a enzima em questão, indicando somente a existência de uma carbapenemase, ou seja, revela a presença de mecanismo associado à inativação de carbapenens. Por outro lado, o uso de ácido borônico (BA) tem sido muito útil na pesquisa laboratorial da enzima⁽⁵⁾.

A resistência a carbapenens no antibiograma de *K. pneumoniae* muitas vezes não prediz a presença da enzima KPC, mas sim ESBL associada à AmpC⁽¹⁷⁾, ou ainda outro mecanismo de resistência, como perda de porina. Por isso o antibiograma deve ser cuidadosamente analisado para que essas diferentes enzimas sejam bem identificadas sempre que possível⁽¹²⁾.

Outra carbapenemase importante é a MBL, que degrada todos os betalactâmicos, exceto aztreonam *in vitro*⁽³⁾ e é inibida por agentes quelantes como o ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e o ácido 2-mercaptopropiônico (2-MPA). Não existe um consenso sobre o melhor substrato a ser empregado na detecção laboratorial e tampouco qual é o melhor inibidor dessa enzima. Nesse contexto, uma das opções é o uso de discos de IPM com e sem EDTA⁽²⁷⁾.

Além das betalactamases descritas, pode-se citar a AmpC, que é capaz de hidrolisar penicilinas, monobactâmicos e cefalosporinas até terceira geração. Nas últimas duas décadas, a transferência de plasmídios (moléculas de DNA capazes de transferir informações genéticas independente do DNA cromossômico) com betalactamase classe C tem sido reportada com frequência⁽²²⁾. A mediação de plasmídios com essa enzima em *K. pneumoniae* tem a característica de ser não induzível no antibiograma, ou seja, o teste convencional não a detecta⁽²⁴⁾. Adicionalmente, resultados de estudos epidemiológicos mostram incremento de isolados bacterianos com esse mecanismo de resistência⁽⁷⁾.

Assim, o objetivo deste estudo foi pesquisar o fenótipo dos principais mecanismos de resistência aos antimicrobianos betalactâmicos (ESBL, KPC, MBL e AmpC plasmidial) em cepas de *Klebsiella pneumoniae* oriundas de um hospital de emergência de Porto

Alegre (RS), mediante técnica laboratorial de fácil execução (disco-difusão) que pode ser incluída na rotina, visando otimizar custos em relação tratamento de pacientes com infecção hospitalar.

Material e método

Cento e dez isolados não repetitivos de *K. pneumoniae* cedidos por um hospital de emergência de Porto Alegre (RS), entre janeiro de 2007 e junho de 2009, foram estocados em caldo glicerinado (-20°C). Ao término da coleta de amostras, uma alíquota das mesmas foi semeada em ágar sangue de carneiro (MCBarth) e meio cromogênico (MCBarth) e os crescimentos secundários foram identificados por meio de provas bioquímicas compatíveis. Paralelamente, realizou-se teste de *screening* por disco-difusão com cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima, cefepime, aztreonam, IPM, MEM e ETP (Biorad), segundo normas do CLSI⁽⁴⁾ para verificação do perfil de sensibilidade. Todos os antimicrobianos testados são betalactâmicos frequentemente usados na terapêutica.

Do *screening* supracitado, resultaram 58 isolados de *K. pneumoniae* com sensibilidade diminuída a cefalosporinas de terceira geração ou cefoxitina que puderam ser avaliados quanto a mecanismos de resistência enzimáticos. Nessas amostras, foram aplicados os testes fenotípicos compatíveis para cada tipo de enzima betalactamase (ESBL, AmpC plasmidial, KPC e MBL). Todas as metodologias foram realizadas por difusão em ágar Mueller Hinton (MCBarth) com inóculo bacteriano ajustado em 0.5 de McFarland, segundo orientações do CLSI (2009).

Os diferentes mecanismos de resistência enzimáticos foram pesquisados da seguinte maneira:

1. para a enzima ESBL, aplicaram-se discos de ceftazidima 30 mg (Biorad) e ceftazidima/ácido clavulânico (30/10 mg) (Biorad), cefotaxima 30 mg (Biorad) e cefotaxima/ácido clavulânico (30/10 mg) (Biorad). Após incubação adequada, foi considerado resultado positivo a visualização de halo maior ou igual a 5 mm nos discos combinados com clavulanato em relação aos discos de cefalosporinas em separado^(4, 17);

2. para a pesquisa de AmpC plasmidial, foram usados dois discos de cefoxitina 30 mg (Biorad): um com 6 µl de solução de BA diluído em dimetilsulfóxido (50 mg/ml) e outro sem BA (Sigma Aldrich).

A apresentação de halo maior ou igual a 5 mm no disco combinado em relação ao disco de cefoxitina configurou a presença da enzima⁽²³⁾;

3. para a detecção de MBL, foram usados dois discos de IPM 10 mg (Biorad): um com 10 µl de solução 0.5 M de EDTA e outro sem EDTA. A diferença de halo maior ou igual a 5 mm entre os discos confirmou a presença de MBL⁽²⁷⁾;

4. na pesquisa de KPC, foram empregados dois discos de IPM 10 mg (Biorad), sendo um com 6 µl de BA (50 mg/ml) (Sigma Aldrich) e outro sem BA. Halo maior ou igual a 5 mm no disco combinado em relação ao disco de IPM configurou a presença de KPC^(5, 25).

Para fins de controle de qualidade dos ensaios, foram utilizadas cepas de *Klebsiella pneumoniae* positivas para ESBL (ATCC 700603), MBL (SPM-1 genotipada pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul [UFRGS]) e KPC (cedida pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo [HC-FMUSP]). O controle positivo para AmpC plasmidial não foi usado por não termos acesso à cepa padrão ou genotipada.

Resultados

Dos 110 isolados obtidos, 58 tiveram seguimento na pesquisa por apresentarem as características de interesse (*K. pneumoniae* com sensibilidade diminuída a betalactâmicos de amplo espectro).

Destes, 44 apresentaram alguma(s) enzima(s): 28 foram positivos para ESBL, nove para ESBL simultânea à AmpC plasmidial, cinco somente para AmpC plasmidial, um com KPC e MBL e um com KPC, MBL e ESBL (**Tabela**).

Um número expressivo de amostras (75,8%) foi positivo para pelo menos uma enzima, e dois isolados (3,4%) apresentaram carbapenemases (KPC e MBL). Essas cepas KPC e MBL mostraram resistência a todos os antimicrobianos testados *in vitro*.

Os dois isolados com fenótipo MBL não apresentaram sensibilidade ao aztreonam (devido à existência de outras betalactamases, ESBL e KPC, na mesma amostra).

Das 42 (72,4%) amostras positivas para ESBL e/ou AmpC, todas tiveram sensibilidade intermediária

Tabela Enzimas betalactamases e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos cefoxitina, cefalosporinas de terceira geração e carbapenêmicos

Enzima(s)	Número de cepas (%)	FOX R (%)	CEF 3 ^a ger. R/I (%)	IMP ≤ 20 mm (%) [*]	MEM ≤ 21 mm (%) ^{**}	ETP 21 mm (%) ^{**}
ESBL	28 (48,3)	5 (23,8)	28 (48,3)	1 (25)	1 (16,6)	11 (52,3)
AmpC	5 (8,6)	5 (23,8)	5 (8,6)	–	1 (16,6)	1 (4,7)
AmpC + ESBL	9 (15,5)	8 (38)	9 (15,5)	–	1 (16,6)	6 (28,5)
KPC + MBL	1 (1,7)	1 (4,8)	1 (1,7)	1 (25)	1 (16,6)	1 (4,7)
KPC + MBL + ESBL	1 (1,7)	1 (4,8)	1 (1,7)	1 (25)	1 (16,6)	1 (4,7)
Negativo ^{***}	14 (24,2)	1 (4,8)	14 (24,2)	1 (25)	1 (16,6)	1 (4,7)
Total	58 (100)	21 (100)	58 (100)	4 (100)	5 (100)	21 (100)

FOX: cefoxitina; CEF 3^a ger.: cefalosporinas de terceira geração; IMP: imipenem; MEM: meropenem; ETP: ertapenem; R: resistente; I: intermediário;

^{*}Pasteran, 2009¹⁶; ^{**}CLS¹⁴; ^{***} Negativo para enzimas pesquisadas; ESBL: betalactamase de espectro estendido; AmpC: betalactamase classe C; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; MBL: metalobetalactamase.

ou resistência no teste de *screening*, demonstrando a importância dos testes confirmatórios (Tabela).

As 14 amostras positivas para AmpC plasmidial apresentaram sensibilidade diminuída à cefoxitina.

Entre as 38 cepas com ESBL, 36 apresentaram teste confirmatório positivo com uso do substrato cefotaxima.

Discussão

A frequência de mecanismos de resistência enzimáticos (betalactamases) superior a 75% nos isolados de *K. pneumoniae* oriundos do hospital de emergência em Porto Alegre (RS) é dado muito relevante considerada a constante circulação de pacientes críticos vítimas de acidentes/traumas graves nesse local.

O número de cepas ESBL positivas vem aumentando em todo o mundo e apesar de ser uma enzima bem definida, reduzido número de laboratórios usam em sua rotina testes confirmatórios. No Brasil, de 30% a 60% das cepas de *Klebsiella* oriundas de unidades de tratamento intensivo são apresentadoras desse mecanismo⁽¹⁷⁾.

No presente estudo, a frequência de ESBL (63,8%) demonstra que a mesma está muito disseminada no referido hospital. Considerando que ela foi confirmada em grande parte das amostras por meio do substrato cefotaxima (Biorad), sugere-se que a enzima seja do tipo cefotaximase (CTX-M), degradando preferencialmente o fármaco cefotaxima. Tal achado corrobora outros trabalhos mundiais^(22, 26).

As consequências do aumento crescente dessa enzima são a falha no tratamento com betalactâmicos de amplo espectro e a necessidade de uso dos carbapenens como opção terapêutica eficaz. No entanto, o uso excessivo desses antimicrobianos oportuniza a seleção de cepas que degradem os carbapenens (bactérias produtoras de MBL e/ou KPC)⁽⁶⁾. Apesar disso, um estudo retrospectivo, em que foi analisado o tratamento de 33 neonatos com infecção por *K. pneumoniae* ESBL positiva, mostrou que seis de 18 (35,3%) neonatos morreram após tratamento com IPM enquanto seis de 13 (46,2%) morreram após tratamento com piperacilina/tazobactam⁽²¹⁾, mostrando que o tratamento com carbapenens, de fato, é a melhor escolha.

Vislumbrando auxiliar a equipe médica na eleição de terapêutica adequada, recomenda-se que o laboratório de microbiologia, no achado de cepa ESBL, libere o resultado do teste de sensibilidade como “resistente” aos fármacos betalactâmicos, exceto para carbapenens.

Por outro lado, a enzima emergente KPC continua endêmica nos EUA e segue com crescente número de casos nos últimos anos também em Israel, especialmente em pacientes sob ventilação mecânica⁽²²⁾. No Brasil, o primeiro caso reportado de KPC em *K. pneumoniae* ocorreu em 2009 e a bactéria apresentava ESBL concomitantemente⁽¹⁵⁾.

Essa enzima, no entanto, ainda é pouco reportada no Brasil e a bibliografia nacional é escassa. Porém, neste trabalho, foram encontradas duas (3,4%) amostras positivas no teste fenotípico para KPC e MBL, constituindo um dado importante e de muita

relevância epidemiológica. Tais isolados bacterianos apresentaram resistência a absolutamente todos os fármacos betalactâmicos usados no teste de *screening*, tornando esse dado útil como indicador laboratorial. Contudo, outro mecanismo que também pode conferir resistência a todos os betalactâmicos é a perda de porina, porém o mesmo não é detectável pelo teste confirmatório com BA e EDTA⁽²⁰⁾.

Recomendações de *screening* para KPC em enterobactérias foram publicadas no CLSI 2009, indicando novo critério para suscetibilidade frente a ETP e MEM^(4, 13). Em relação ao IPM, um grupo argentino propôs o seu ponto de corte em halos de inibição de 20 mm⁽¹⁶⁾.

No presente estudo, cinco amostras resistentes a ETP não apresentaram carbapenemase e, de fato, a redução de sensibilidade ao ETP não prediz obrigatoriamente a presença de KPC ou MBL⁽²⁾, dificultando sua identificação. Segundo estudo europeu recente, entre 171 amostras de *K. pneumoniae* ETP resistentes, apenas duas continham uma carbapenemase não KPC⁽¹³⁾.

O primeiro relato brasileiro de outra importante carbapenemase, a MBL, em *K. pneumoniae* ocorreu em 2005 e a bactéria apresentava simultaneamente ESBL⁽¹⁰⁾. A detecção de MBL nessa espécie parece ocorrer esporadicamente, tendo sido reportada em países da Europa, da Ásia, da América do Sul e da Austrália. O achado de 3,4% das amostras com a enzima na presente pesquisa é preocupante, uma vez que a mesma é considerada de rara ocorrência em *Klebsiella*.

O tratamento de infecções por bactérias que apresentem resistência a carbapenens devido à carbapenemases (MBL e/ou KPC) é problemático e está associado a possibilidades de desfecho não favorável ao paciente. Um dos poucos antimicrobianos de escolha é a polimixina B, um fármaco extremamente nefrotóxico e de baixa penetração pulmonar, sendo realmente opção de última escolha. Em algumas situações, antimicrobianos de outras classes, como gentamicina ou tigeciclina, podem ser empregados, apesar de já existirem relatos de linhagens com resistência à gentamicina⁽¹¹⁾. De qualquer maneira, recomenda-se que os respectivos fármacos sejam testados pelo laboratório de microbiologia antes de serem prescritos.

A AmpC plasmidial em *K. pneumoniae* foi descrita em 1999 e desde então vem sendo relatada em todo o mundo, já existindo mais de oito variedades somente em cepas dessa espécie⁽¹⁹⁾. Isolados com AmpC

plasmidial correspondem a apenas 10% das publicações em diferentes continentes e as enzimas predominantes são cefaminases⁽²³⁾ (degradam cefamicinas como a cefoxitina); até o momento, não existem publicações no Brasil. Contudo, nesta pesquisa, 22,4%⁽⁹⁾ dos isolados foram positivos para AmpC, refletindo em dado epidemiologicamente importante e que pode explicar falhas no tratamento de pacientes em uso de cefalosporinas de terceira geração.

Das 42 cepas (72,4%) com positividade para ESBL e/ou AmpC, 12 (16,5%) apresentaram diminuição de sensibilidade ou resistência a algum carbapenem. Estudos mostram que, em geral, cefotaximases (ESBLs) associadas à hiperprodução de AmpC podem gerar pequena hidrólise de carbapenens, sem a presença de carbapenemase⁽¹⁶⁾.

O ácido borônico, reagente empregado neste trabalho, é conhecido há anos como inibidor reversível de enzimas classe C⁽¹⁾ e teve seu uso primário na detecção de AmpC em enterobactérias. Porém, foi visto que ele apresentava atividade contra outra betalactamase, a KPC. Tsakris *et al.* demonstraram pela primeira vez a facilidade de execução e interpretação do método, bem como a alta sensibilidade e especificidade quando usado com cefepime ou carbapenens⁽²⁵⁾. Outro estudo que usou método semelhante mostrou alta sensibilidade usando discos de IPM combinados com BA, inclusive afirmando que se pode considerar positiva a amostra com diferença de halo maior ou igual 4 mm usando 10 µl de BA 300 mg/ml (Sigma Aldrich)⁽¹⁶⁾.

O mecanismo de inibição do BA em cepas KPC ainda não é bem conhecido. Um viés da técnica com esse reagente é o mascaramento da enzima AmpC plasmidial na presença da KPC, visto que na confirmação fenotípica de ambas as enzimas emprega-se o BA, possibilitando resultado falso positivo para AmpC⁽²³⁾. Esse fato limita a obtenção de dados epidemiológicos corretos sobre AmpC, mas não gera problemas terapêuticos, uma vez que a KPC tem espectro de ação mais amplo (destrói todos os betalactâmicos) que a AmpC (inativa cefalosporinas até terceira geração).

Conclusão

A situação de resistência bacteriana no ambiente hospitalar se agrava progressivamente, pois

mecanismos ainda não descritos na literatura nacional estão ocorrendo em nosso meio.

Reforça-se a necessidade do conhecimento dos fenótipos de resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos mediante o uso de técnica manual simples, a disco-difusão, que é exequível em qualquer laboratório. Com a pesquisa rotineira por meio das metodologias descritas, pode-se estabelecer o perfil epidemiológico das bactérias circulantes, fornecendo resultados que permitam ao médico a eleição do antimicrobiano mais apropriado, visando prolongar a sobrevivência dos pacientes, principalmente os internados em unidades de terapia intensiva (UTIs).

A presença de carbapenemases nas cepas estudadas denota um panorama crítico tanto no tocante à antibioticoterapia, uma vez que as opções terapêuticas tornam-se limitadíssimas, quanto pelo potencial

de disseminação das enzimas (por intermédio de plasmídios).

O ácido borônico vem sendo motivo de estudos há anos, mas somente agora passou a ser usado como auxiliar na detecção de betalactamases e parece ser uma boa metodologia para pesquisa laboratorial de KPC e de AmpC plasmidial.

Acredita-se que os laboratórios de microbiologia devam fazer a confirmação de mecanismos de resistência em cepas com perfil de sensibilidade diminuído aos beta-lactâmicos, usando disco-difusão com substratos e agentes inibidores das enzimas adequados. Com esse dado, o médico deterá maior poder sobre o sucesso do tratamento, com a diminuição de recidivas atribuídas à escolha equivocada do fármaco, reduzindo os custos relativos à internação dos pacientes.

Referências

1. BEESLEY, T. *et al.* The inhibition of class C beta-lactamases by boronic acids. *Biochemical Journal*, v. 209, p. 229-33, 1983.
2. BRATU, S. *et al.* Emergence of KPC possessing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 49, p. 3018-20, 2005.
3. BUSH, K.; JACOBY, G.; MEDEIROS, A. A functional classification scheme for beta-lactamases and correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 39, p. 1211-33, 1995.
4. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Table: M100 - S19; 940 West Valley Road, Suite 1400 Wayne, PA 19087-1898 USA, 2009.
5. DOI, Y. *et al.* Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type beta-lactamase by use of a boronic acid compound. *J Clin Microbiol*, v. 46, p. 4083-6, 2008.
6. GUPTA, A. *et al.* Extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a review of the literature. *Journal of Perinatology*, v. 23, p. 439-43, 2003.
7. HANSON, N. AmpC beta-lactamses: what do we need to know for the future? *J Antimicrob Chemother*, v. 52, p. 2-4, 2003.
8. LANDMAN, D. *et al.* Evaluation of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. *J Antimicrob Chemother*, v. 60, p. 78-82, 2007.
9. LEE, K. *et al.* Evaluation of the Hodge test and imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, v. 41, p. 4623-9, 2003.
10. 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. 516-9, 2005.
11. LIVERMORE, D. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother*, v. 64, p. 29-36, 2009.
12. MARTINEZ-MARTINEZ, L. *et al.* Roles of beta-lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 43, p. 1669-73, 1999.
13. McGETTIGAN, S.; ANDREACCHIO, K.; EDELSTEIN, P. Specificity of ertapenem susceptibility screening for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *J Clin Microbiol*, v. 47, p. 785-6, 2009.
14. MEYER, K. S. *et al.* Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* infection resistant to late generation cephalosporins. *Ann Inter Med*, v. 119, p. 353-8, 1993.
15. MONTEIRO, J. *et al.* First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 53, p. 333-4, 2009.
16. PASTERAN, F. *et al.* Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*, v. 47, p. 1631-9, 2009.
17. PATERSON, D.; BOBOMO, R. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, v. 18, p. 657-86, 2005.
18. PEREIRA, A. *et al.* Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella*

- pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido. *J Bras Patol Med Lab*, v. 39, p. 301-8, 2003.
19. PHILIPPON, A.; ARLET, G.; JACOBY, G. Plasmid-determined AmpC- type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 46, p. 1-11, 2002.
 20. PICHARDO, C. *et al.* Activity of cefepime and carbapenems in experimental pneumonia caused by porin deficient *Klebsiella pneumoniae* producing FOX-5 beta-lactamase. *Clinical Microbiology & Infection*, v. 11, p. 31-8, 2005.
 21. PILLAY, T. *et al.* Piperacillin/tazobactam in the treatment of *Klebsiella pneumoniae* infections in neonates. *Amer J Perinatol*, v. 15, p. 47-51, 2007.
 22. PITOUT, J. Multiresistant *Enterobacteriaceae*: new threat of an old problem. *Expert Rev Anti Infec Ther*, v. 6, p. 657-69, 2008.
 23. PITOUT, J. *et al.* Detection of AmpC beta-lactamase in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* and *Proteus mirabilis* in a region clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infection*, v. 18, p. 1469-71, 2009.
 24. ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. *Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma*. São Paulo: Atheneu, 2005.
 25. TSAKRIS, A. *et al.* Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*, v. 47, p. 362-7, 2009.
 26. WINOKUR, P. *et al.* Variations in the prevalence of strains expressing na extended-sepectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis*, v. 32, p. 94-103, 2001.
 27. YONG, D. *et al.* Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- β -lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, v. 40, p. 3798-801, 2002.

Endereço para correspondência

Simone Ulrich Picoli
 Universidade Feevale
 Laboratório de Biomedicina
 RS 239, nº 2.755
 CEP: 93352-000 – Novo Hamburgo-RS