

**Hospital de Clínicas de Porto Alegre**  
**Programa de Residência em área profissional da saúde**

**Estudo da prevalência de produção de carbapenemase em bactérias sensíveis  
ao meropenem**

**Luana Silva Dornelles**

**PORTO ALEGRE**

**2023**

**Luana Silva Dornelles**

**Estudo da prevalência de produção de carbapenemase em bactérias sensíveis  
ao meropenem**

**Trabalho de conclusão de Residência  
apresentado ao programa de Residência em  
Área Profissional da Saúde do Hospital de  
Clínicas de Porto Alegre como requisito  
parcial para obtenção do título de  
especialista em Análises Clínicas:  
Microbiologia.**

**Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Larissa Lutz**

**Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Mariana Preussler Mott**

**PORTO ALEGRE  
2023**

### CIP - Catalogação na Publicação

Dornelles, Luana Silva  
Estudo da prevalência de produção de carbapenemase  
em bactérias sensíveis ao meropenem / Luana Silva  
Dornelles. -- 2023.  
41 f.  
Orientador: Larissa Lutz.

Coorientador: Mariana Preussler Mott.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Hospital de  
Clínicas de Porto Alegre, Programa de Residência em  
Área Profissional da saúde, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Carbapenamses. 2. Triagem meropenem. 3.  
Resistência Bacteriana. I. Lutz, Larissa, orient. II.  
Mott, Mariana Preussler, coorient. III. Título.

## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Justificativa.....</b>	<b>5</b>
<b>3. Revisão da literatura.....</b>	<b>6</b>
<b>4. Objetivo.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 Objetivos secundários.....</b>	<b>13</b>
<b>5. Resultados.....</b>	<b>13</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>33</b>
<b>7. Referências.....</b>	<b>34</b>

## 1. Introdução

A resistência bacteriana aos antimicrobianos tornou-se uma ameaça à saúde pública de uma maneira global, devido à disseminação e gravidade de bactérias multirresistentes as quais as opções terapêuticas são limitadas (DORTET et al., 2018; MA et al., 2023), impactando diretamente na mortalidade e morbidade dos pacientes (TACCONELLI et al., 2018). De acordo com modelos estatísticos preditivos da resistência antimicrobiana (MURRAY et al., 2022), estima-se que 4,95 milhões de mortes no mundo foram associadas à resistência bacteriana em 2019, incluindo 1,27 milhão de mortes causadas diretamente pela resistência bacteriana aos antibióticos.

De acordo com relatórios da Organização Mundial de Saúde — OMS (2020), o uso indiscriminado de antibióticos é preocupante, de maneira global ainda não há desenvolvimento de novos tratamentos antibacterianos, embora a conscientização seja crescente sobre o problema, um novo relatório da OMS emitido em dezembro de 2022, revela altos níveis de resistência em bactérias que causam a sepse, e a diminuição da sensibilidade ao tratamento de patógenos frequentemente associados a infecções na população, com base em dados relatados por 87 países em 2020 (“Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos — OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde”, [s.d.]).

Estima-se que cerca de dez milhões de pessoas morrerão de infecções causadas por bactérias multirresistentes, em 2050. Caso novos antimicrobianos não sejam descobertos e o atual cenário se mantenha, as infecções causadas por tais bactérias deverão ser a principal causa de morte no mundo em um futuro próximo, superando doenças como o câncer ou a diabetes (O’NEILL, 2014).

Algumas bactérias são consideradas ameaças mais eminentes. A OMS e o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Diseases Control and Prevention — CDC) apontam os bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenêmicos (BGN-RC) como um dos principais problemas. Por estarem frequentemente relacionadas a falhas terapêuticas, infecções causadas por estas bactérias resultam em internações hospitalares mais longas, custos de saúde mais altos e maior mortalidade do que infecções bacterianas sensíveis aos carbapenêmicos (BOGAN et al., 2014; BONOMO et al., 2018; PEREZ; BONOMO, 2019).

Um dos mecanismos de resistência dos BGN-RC envolve a produção de enzimas que destroem ou neutralizam antibióticos de forma irreversível. Essas enzimas são capazes de (i) destruírem o sítio ativo do antibiótico ou (ii) modificar covalentemente os principais elementos estruturais do fármaco para impedir a interação bacteriana no sítio-alvo (DE OLIVEIRA et al., 2020).

A disseminação de produção de carbapenemases em *Enterobacterales* está se tornando um grande problema, já que estas geralmente estão associadas a outros mecanismos de resistência, levando à resistência a múltiplas drogas (NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012) tornando as opções terapêuticas limitadas ou, como o que ocorre em alguns casos, não existindo um antimicrobiano que seja eficaz, havendo apenas uma combinação de drogas com diferentes efeitos colaterais para o paciente (DURANTE-MANGONI; ANDINI; ZAMPINO, 2019; SABINO et al., 2019).

O desempenho da vigilância ativa para *Enterobacterales* resistentes a carbapenêmicos (ERC) entre populações de alto risco pode facilitar a detecção precoce e a coorte de casos, minimizando o risco de transmissão, assim como os programas de gerenciamento antimicrobiano devem fazer parte de todos os ambientes de saúde da comunidade; sendo associados a uma redução de 50% na incidência de BGN-RC em ambientes hospitalares (MILLS; MARCHAIM, 2021).

## 2. Justificativa

Segundo o BrCAST (Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos), mesmo em isolados classificados como sensíveis pelo ponto de corte clínico, é preciso pesquisar a produção de carbapenemases em isolados de *Enterobacterales* com diâmetros de halos de inibição de 25-27 mm para o meropenem, se resistentes à piperacilina-tazobactam e/ou temocilina, e sempre que o diâmetro da zona de inibição para meropenem for < 25 mm.

A sensibilidade intermediária e até mesmo a sensibilidade aos carbapenêmicos foram observadas para produtores de todos os tipos de carbapenemase. Isso é particularmente verdadeiro para produtores de OXA-48/OXA-181 que não co-produzem uma ESBL (extended-spectrum beta-lactamases) (CASTANHEIRA et al., 2011; NORDMANN et al., 2012; NORDMANN; NAAS; POIREL, 2011). A pesquisa da produção de carbapenemases

deve ser realizada em quaisquer isolados de enterobactérias com ligeira diminuição na sensibilidade aos carbapenêmicos, essa teoria é apoiada em parte pela atual escassez de experiência clínica no tratamento de infecções causadas por bactérias produtoras de carbapenemases, o alto inóculo de produtoras de carbapenemase no local da infecção *in vivo* (por exemplo, pneumonia) e a possibilidade de selecionar mutantes *in vivo* com níveis aumentados de resistência aos carbapenêmicos e possuidores de mecanismos adicionais que contribuem para a resistência aos carbapenêmicos (NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012).

Atualmente, na nossa instituição se desconhece a prevalência de produção de carbapenemases em isolados com diâmetro da zona de inibição ao meropenem > 22 mm, o que é categorizado como sensível pelo ponto de corte clínico estabelecido pelo BrCAST. O estudo da prevalência de carbapenemases, poderá contribuir para:

- uso de antibióticos específicos;
- suspensão de terapias empíricas desnecessárias contribuindo para redução da resistência bacteriana;
- redução do número de dias de internação;
- redução nos custos da internação;
- redução da morbimortalidade.

### 3. Revisão da literatura

Os carbapenêmicos são considerados uma das poucas opções eficazes para o tratamento de *Enterobacterales* que produzem  $\beta$ -lactamases. No entanto, sua utilidade está sendo comprometida pela crescente ocorrência de *Enterobacterales* que produzem carbapenemases (DAY et al., 2020; GLUPCZYNSKI et al., 2012; NORDMANN et al., 2012).

*Enterobacterales* resistentes aos carbapenêmicos produtores de carbapenemases (ERCPC), *P. aeruginosa* multirresistentes (PaMDR) e bactérias do complexo *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos (CAbRC) são um problema de saúde pública e acometem principalmente pacientes críticos atendidos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (POGUE; BONOMO; KAYE, 2019; SHIRLEY, 2018; VAN DUIN; BONOMO, 2016), estando frequentemente associados

a infecções com elevada morbimortalidade. Bacteremias associadas a essas bactérias atingem taxas de mortalidade entre 40 a 50% (“Orientação da instalação para controle de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenem (CRE): atualização de novembro de 2015 — kit de ferramentas CRE”, [s.d.]) sendo valores elevados quando comparados a infecções pelas mesmas bactérias sensíveis aos carbapenêmicos (CHOTIPRASITSAKUL et al., 2019).

Em estudo realizado por Bartolleti e colaboradores em 2016, foi demonstrado que, entre *Enterobacterales*, a resistência aos carbapenêmicos, que era de 6,8% em 2011, aumentou significativamente para 35,5% em 2015. O que demonstra um número alarmante, pois já se tem evidências da relação entre ERCPC e aumento de mortalidade entre os pacientes (BOGAN et al., 2014; LODISE et al., 2019; PEREZ; BONOMO, 2019; SABINO et al., 2019).

Já se tem estabelecido uma menor taxa de mortalidade, especialmente, de sepse, quando a administração de antibioticoterapia é apropriada, em infecções bacterianas graves (GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ et al., 2017; LEVY; EVANS; RHODES, 2018). As terapias empíricas são baseadas na utilização de um ou mais antibióticos de amplo espectro, atualmente sendo um grande desafio devido ao aumento de microrganismos multirresistentes. Estima-se que o tratamento empírico sem atividade *in vitro* contra o patógeno recuperado em cultura ocorra em cerca de 30% das infecções, do ponto de vista de saúde pública, o uso inadequado de antibióticos eleva os custos hospitalares e induz a pressão seletiva de microrganismos resistentes (KADRI et al., 2021; KARIV et al., 2013; MARQUET et al., 2015). Outro fator impactante para a redução da mortalidade é o início precoce da administração do antibiótico. Uma meta-análise demonstrou haver uma redução significativa em todas as causas de mortalidade com o tratamento antibiótico empírico adequado, considerando a escolha do antibiótico e o momento do início da sua administração (PAUL et al., 2010). E, neste contexto, resultados de estudos observacionais têm estimulado os guias atuais de sepse a recomendar o início da terapia antimicrobiana dentro de 1 a 3 h após diagnóstico clínico (BALTAS et al., 2021, 2021; EVANS et al., 2021; FALCONE et al., 2020; FERRER et al., 2014; HUNG; LEE; KO, 2022).

Portanto, a rápida identificação bacteriana, a determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e a determinação do tipo de carbapenemase podem impactar na escolha terapêutica, na morbimortalidade e no tempo de

internação do paciente, principalmente em UTI. As opções terapêuticas para infecções por estas bactérias são restritas, sendo, muitas vezes, a polimixina B o antimicrobiano de escolha, apesar de sua alta nefrotoxicidade. Novas opções terapêuticas têm sido avaliadas, contudo, sua eficácia depende da carbapenemase envolvida no mecanismo de resistência (POGUE; BONOMO; KAYE, 2019; SHIRLEY, 2018; VAN DUIN et al., 2018; VAN DUIN; BONOMO, 2016).

Os laboratórios clínicos devem ter acesso a testes de triagem fenotípica simples para a detecção precisa de ERCPC. Vários testes foram desenvolvidos para a detecção de carbapenemases (BERNABEU; POIREL; NORDMANN, 2012; CUZON et al., 2012; DAY et al., 2020; DOYLE et al., 2012; HRABÁK et al., 2012; NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012; POIREL et al., 2011), mas estes são realizados apenas se houver suspeita suficiente com base nos resultados do teste de suscetibilidade antimicrobiana. No entanto, inferir a atividade da carbapenemase a partir de um antibiograma nem sempre é simples, porque alguns isolados de ERCPC são sensíveis *in vitro* a carbapenêmicos, enquanto isolados sem carbapenemases podem parecer resistentes (NORDMANN et al., 2012). Desta forma, para garantir melhores desfechos, os laboratórios necessitam de testes eficazes e rápidos, para determinação da sensibilidade aos antimicrobianos e detecção da produção de carbapenemases. Metodologias consolidadas por laboratórios de microbiologia, tendem a exigir 16 – 20 h para determinação dos resultados, o que é considerado um tempo extenso considerando o fato de início de tratamento estar associado a mortalidade (BRCAS, 2017).

O uso de testes de diagnóstico rápido pode melhorar significativamente o gerenciamento de antimicrobianos para pacientes com doenças infecciosas por bactérias multidrogas resistentes (MDR). Quando combinados com programas de gestão antimicrobiana, mostraram um impacto ainda maior nos resultados dos pacientes (BEGANOVIC et al., 2019).

A resistência aos carbapenêmicos é mediada por dois mecanismos principais: (i) a associação de uma permeabilidade de membrana externa bacteriana reduzida com a produção de enzimas do tipo cefalosporinases e/ou beta-lactamases de espectro estendido; e (ii) a produção de enzimas do tipo carbapenemases, capazes de hidrolisar carbapenêmicos (NORDMANN; POIREL, 2019); sendo a produção de carbapenemases o principal deles, se tratando de termos clínicos quanto epidemiológicos. O aumento preocupante na prevalência de resistência aos

carbapenêmicos em *Enterobacterales* é devido, maioritariamente, à disseminação de bactérias produtoras destas enzimas (VAN DUIN; DOI, 2017).

Carbapenemases são enzimas que degradam carbapenêmicos, bem como todos os outros antibióticos beta-lactâmicos. Embora possam ser codificadas por genes cromossômicos, as enzimas codificadas por genes localizados em plasmídeos são mais relevantes, por permitirem a disseminação horizontal e rápida dessa característica de resistência entre bactérias de diferentes gêneros e espécies. (MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE, 2020)

Ambler propôs um esquema onde as carbapenemases são classificadas considerando suas características moleculares, agrupando-as nas classes A, B e D. Carbapenemases da classe A de Ambler apresentam uma serina no sítio ativo de ação da enzima, têm uma alta capacidade hidrolítica sobre carbapenêmicos e são o mecanismo mais importante de resistência a esses antimicrobianos em isolados clínicos de *Enterobacterales*. Existem diversas enzimas nessa classe (SME, IMI, GES, NMC, dentre outras), sendo a mais prevalente a KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase) (QUEENAN; BUSH, 2007; TOOKE et al., 2019).

As enzimas da classe B de Ambler são conhecidas como metalo beta-lactamases por apresentarem um átomo de zinco no sítio ativo da molécula. Desse grupo, as principais representantes são as enzimas NDM, IMP, VIM e SPM. Elas são codificadas, geralmente, por genes localizados em plasmídeos com alta taxa de disseminação entre os BGN, sendo a NDM (Nova-Deli Metalo- $\beta$ -lactamase) a mais importante em *Enterobacterales*.

Na classe D de Ambler estão as oxacarbapenemases (OXA). A capacidade hidrolítica destas enzimas sobre os carbapenêmicos é, de forma geral, menor se comparada às enzimas das classes A e B de Ambler. Por isso, não raras vezes, sua detecção fenotípica no laboratório de microbiologia fica comprometida. Em isolados de *Enterobacterales* a carbapenemase mais prevalente, particularmente, no sul do Brasil, tem sido a serino-carbapenemase KPC (ANDRADE et al., 2011; ANTOCHEVIS et al., 2018; RIBEIRO et al., 2013); e a segunda carbapenemase que tem sido relatada como mais prevalente é a carbapenemase do tipo metalo NDM (JOHNSON; WOODFORD, 2013; ROZALES et al., 2014).

Com isso, essa resistência aos carbapenêmicos é uma preocupação de saúde pública, e se torna mais um desafio para os laboratórios de microbiologia. Até

pouco tempo, para fins de determinação do tratamento do paciente, não era necessário que se definisse laboratorialmente o mecanismo de resistência aos carbapenêmicos, apenas a sensibilidade ou não a esta classe. No entanto, com a disponibilidade das novas combinações de beta-lactâmicos com inibidores de beta-lactamases, este cenário rapidamente se modificou. Isto porque estas novas combinações são ativas contra tipos específicos de enzimas carbapenemases. Portanto, reconhecer que a resistência aos carbapenêmicos está associada à produção de carbapenemases e, além disso, discriminar qual o tipo de enzima em questão tornou-se, recentemente, informação essencial para a otimização do uso de antibióticos, tanto no contexto clínico, quanto no contexto de políticas de *stewardship*. Além disso, considerando que diferentes tipos de enzimas podem estar associados a concentrações inibitórias mínimas mais ou menos elevadas, discriminar entre as classes é também relevante para otimizar o esquema terapêutico (PUDPONG et al., 2022).

Ceftazidima-avibactam, é um exemplo de combinação de beta-lactâmico com inibidor de beta-lactamases, liberada pela ANVISA para utilização no Brasil no segundo semestre de 2018, sendo ativa contra isolados produtores de carbapenemases das classes A e D, mas não possui atividade contra metalo beta-lactamases. Reconhecer o tipo de enzima produzido pela bactéria será, portanto, essencial para a adequada e efetiva utilização desse novo composto (MOREIRA; CAIERÃO, 2021).

O Guia de Detecção de Mecanismos de Resistência e Resistências Específicas de Importância Clínica e/ou Epidemiológica do BRCAST/EUCAST (EUCAST, 2017) recomenda testes fenotípicos de detecção da produção de carbapenemases pela inativação do antibiótico carbapenêmico e a adição do EDTA para diferenciação do tipo de carbapenemase entre serino-carbapenemase e metalo-betalactamase tais como o mCIM e eCIM; testes bioquímicos (colorimétricos) como o BlueCarba, o CarbaNP e o beta-Carba.

O teste CarbaNP é um teste bioquímico rápido, levando cerca de 2 h para a detecção da hidrólise do carbapenem, a qual leva a uma mudança de pH da solução de vermelho de fenol, resultando em uma mudança de cor de vermelho para amarelo (DORTET et al., 2015; NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012). O teste Carba NP tem demonstrado resultados muito acurados, que indicam uma alta sensibilidade e especificidade do método, contudo, existem alguns problemas de

interpretação com base na leitura visual da mudança de cor com resultados duvidosos e uma certa proporção de resultados não interpretáveis, mesmo nos ensaios com a versão comercial do teste (DORTET et al., 2015; KABIR et al., 2016; TIJET et al., 2013; VASOO et al., 2013). Outra desvantagem é a incapacidade de diferenciar o tipo de carbapenemase presente no isolado bacteriano testado.

Um derivado do teste CarbaNP, o teste BlueCarba, é um teste bioquímico rápido de cerca de 4 h para a detecção da produção de carbapenemase (HUANG et al., 2014; NOËL et al., 2017). O teste é baseado na hidrólise *in vitro* do imipenem por colônias bacterianas (inoculação direta sem lise prévia), detectado por mudanças no pH, revelada pelo indicador azul de bromotimol (azul para verde/amarelo ou verde para amarelo). Em uma grande avaliação realizada por Pasteran e colaboradores (2015), o teste mostrou ter excelente sensibilidade para enzimas de classe A e B de Ambler, mas sensibilidade abaixo do ideal para a detecção de enzimas OXA-48. Uma desvantagem da técnica é que é de difícil interpretação e é interpretador dependente (PASTERAN et al., 2015).

O princípio do método CIM (mCIM eCIM) é detectar a hidrólise enzimática pela incubação de um antibiótico carbapenêmico com uma suspensão bacteriana. O teste mCIM utiliza discos de antibióticos como substrato. Após duas horas de incubação de uma alça carregada de colônias bacterianas com um disco de meropenem, o disco é colocado em um ágar previamente inoculado com *E. coli* ATCC 25922. A inativação enzimática é indicada por ausência de zona de inibição, enquanto ausência de atividade de carbapenemase implicará na formação de zona de inibição visto que o meropenem no disco não foi hidrolisado. O eCIM utiliza o EDTA como quelante de zinco inativando a metalo-beta-lactamase e resultando novamente na inibição bacteriana pelo meropenem se a bactéria for produtora deste tipo de carbapenemase. O teste CIM apresentou desempenho variável em diferentes estudos (TIJET et al., 2013; VAN DER ZWALUW et al., 2015; YAMADA et al., 2016), mas é uma técnica alternativa, embora o valor preditivo negativo da mesma não esteja bem estabelecido. Uma das principais desvantagens dessa técnica é que ela requer geralmente pelo menos 18 horas para obter os resultados.

Além dos testes colorimétricos, metodologias que utilizam imunocromatografia, em reações únicas ou multiplex, capazes de detectar as diferentes carbapenemases (KPC, OXA, VIM, IMP, e NDM) estão disponíveis. Eles têm se demonstrado bastante acurados e são capazes de gerar resultados em 15

minutos, porém, atualmente, o custo elevado por teste inviabiliza sua utilização em larga escala (BOUTAL et al., 2018), e também são direcionados apenas às principais enzimas e o escopo destes testes é limitado pelo reconhecimento de fragmentos específicos de proteínas, fazendo com que a ocorrência de novas mutações, como resultado da evolução das enzimas, possa reduzir sua sensibilidade (HEMARAJATA et al., 2015).

Em relação às abordagens baseadas em PCR, um número limitado de genes-alvo e a incapacidade de detectar genes emergentes representam as principais desvantagens dessas técnicas genotípicas, as reações de PCR são capazes apenas de detectar genes com sequências já reconhecidas, isto implica em dizer que, em casos de emergência de novas variantes, bastante plausível em termos evolutivos, os testes passam a ser inacurados (LUTGRING; LIMBAGO, 2016; NORDMANN et al., 2020; NORDMANN; POIREL; DORTET, 2012), além disso, foi relatada baixa sensibilidade para a detecção de MDR produtores de OXA-48 (DE LIMA-MORALES et al., 2018; PASTERAN et al., 2015) e estas metodologias tendem a ser caras e exigem profissionais treinados para execução.

Atualmente, a espectrometria de massas, através da metodologia de MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight), técnica baseada na ionização de moléculas orgânicas por dessorção a laser assistida por uma matriz, seguida pela detecção em um analisador do tipo tempo de voo (M; G, 2018) vem sendo estudada para além da identificação dos microrganismos, outras aplicabilidades na microbiologia clínica como, por exemplo, a detecção de resistência. Para esse fim, há algumas abordagens que estão sendo propostas e que têm demonstrado resultados muito animadores, mas que exigem ainda uma avaliação mais ampla e sistemática. São elas: a determinação da presença de carbapenemases pela observação da hidrólise do carbapenêmico, e a detecção direta da enzima carbapenemase.

Mais recentemente, foi proposto um novo método cromogênico, utilizando como substrato o nitrocefim, o qual é uma cefalosporina cromogênica (NORDMANN et al., 2020) . O racional por trás desta metodologia é a extração da enzima e a incubação na presença do substrato, com ou sem o ertapenem, que atua, neste caso, inibindo a atividade enzimática de beta-lactamases não carbapenemases, tais como ESBL ou AmpC. Além disso, o teste utiliza inibidores enzimáticos, quais sejam: avibactam (inibe KPC e OXA-48 e suas variantes), ácido dipicolínico (inibe

MBL) e vaborbactam (inibe KPC). Através da combinação de resultados, é possível definir se a resistência aos carbapenêmicos está associada à produção de carbapenemases, bem como discriminar entre as principais. Embora ainda limitadas as publicações sobre esta metodologia, ela parece ter um desempenho satisfatório. No entanto, por exigir (i) o preparo de diferentes soluções, (ii) a utilização do nitrocefim em pó e (iii) por necessitar de sucessivas etapas de pipetagem, não é o ideal para a rotina dos laboratórios de microbiologia clínica. Além disso, o fato de o nitrocefim ser substrato para outras enzimas, mesmo com a utilização do ertapenem, pode definir uma especificidade que pode ser, em alguns cenários, abaixo da aceitável.

Diversas formas de detecção de carbapenemases foram citadas, demonstrando a importância do conhecimento da produção dessas enzimas, e como pode se enquadrar na rotina laboratorial conforme sua estrutura.

#### 4. Objetivo

Avaliar a prevalência de produção de carbapenemase em *Enterobacterales* que apresentam diâmetro da zona de inibição ao meropenem < 28 mm e piperacilina/tazobactam resistente (< 20 mm) e diâmetro da zona de inibição ao meropenem < 25 mm independentemente do diâmetro da zona de inibição da piperacilina/tazobactam no método de disco-difusão.

##### 4.1 Objetivos secundários

- Realizar a comparação entre testes fenotípicos e genotípicos de detecção de produção de carbapenemases em isolados com diâmetro da zona de inibição ao meropenem < 28 mm no método de disco-difusão.

- Avaliar o tratamento antimicrobiano adotado e o desfecho clínico do paciente.

#### 5. Resultados

O artigo resultante do presente trabalho de conclusão de residência, intitulado

“Carbapenemases in meropenem-sensitive *Enterobacterales*” será submetido à revista The Brazilian Journal of Infectious Diseases.

## 6. Conclusão

Este estudo destacou a importância do rastreamento de carbapenemases para controle epidemiológico e orientação terapêutica, apontando que 5% das cepas testadas apresentaram carbapenemases mesmo com meropenem sensível. A implementação desta rotina de rastreio em laboratórios hospitalares ajudaria a reduzir o risco de transmissão horizontal, assim como direcionar há uma antibioticoterapia adequada o que pode resultar em um tempo de permanência menor no hospital e reduzir custos da internação.

Acreditamos que novos estudos devam ser realizados abrangendo outras enzimas, pois este estudo abrangeu cinco tipos de carbapenemases, o que pode estar limitando ou subestimando a quantidade de carbapenemases nestes isolados. Além disso, uma perspectiva futura para este estudo poderia ser a realização de uma caracterização clonal por tipagem molecular de isolados bacterianos sensíveis ao meropenem e produtores de carbapenemases, além de avaliar melhores técnicas para detecção destas enzimas. As principais desvantagens das tecnologias de base molecular para detecção de genes de carbapenemases são o custo, a necessidade de técnicos treinados e a incapacidade de detectar novos genes de carbapenemases.

Outra perspectiva futura é verificar a produção de carbapenemases em *Pseudomonas aeruginosa* e o Complexo *Acinetobacter baumannii*, quando ainda apresentarem o perfil sensível ao meropenem, por serem um problema de saúde pública e estarem frequentemente associados a infecções com elevada morbidade e mortalidade.

## 7. Referências

ANDRADE, L. N. et al. Dissemination of blaKPC-2 by the Spread of *Klebsiella pneumoniae* Clonal Complex 258 Clones (ST258, ST11, ST437) and Plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among Enterobacteriaceae Species in Brazil ▽. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3579–3583, jul. 2011.

ANTOCHEVIS, L. C. et al. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from Brazilian hospitals: What (still) remains active? **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 15, p. 173–177, dez. 2018.

BALTAS, I. et al. Impact of antibiotic timing on mortality from Gram-negative bacteraemia in an English district general hospital: the importance of getting it right every time. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. 3, p. 813–819, 11 fev. 2021.

BEGANOVIC, M. et al. Interplay between Rapid Diagnostic Tests and Antimicrobial Stewardship Programs among Patients with Bloodstream and Other Severe Infections. **The Journal of Applied Laboratory Medicine**, v. 3, n. 4, p. 601–616, 1 jan. 2019.

BERNABEU, S.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Spectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 74, n. 1, p. 88–90, set. 2012.

BOGAN, C. et al. Outcomes of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolation: matched analysis. **American Journal of Infection Control**, v. 42, n. 6, p. 612–620, jun. 2014.

BONOMO, R. A. et al. Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of**

**America**, v. 66, n. 8, p. 1290–1297, 3 abr. 2018.

BOUTAL, H. et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 4, p. 909–915, 1 abr. 2018.

CASTANHEIRA, M. et al. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing *Enterobacteriaceae* in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 3, p. 1274–1278, mar. 2011.

CHOTIPRASITSAKUL, D. et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a 5-year experience at a tertiary care hospital. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, p. 461–468, 20 fev. 2019.

CUZON, G. et al. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 8, p. 1865–1869, ago. 2012.

DAY, K. M. et al. Use of Faropenem as an Indicator of Carbapenemase Activity in the *Enterobacteriaceae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 1881–1886, 21 dez. 2020.

DE LIMA-MORALES, D. et al. Rapid Detection of Carbapenemase Production Directly from Blood Culture by Colorimetric Methods: Evaluation in a Routine Microbiology Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 9, p. e00325-18, 27 ago. 2018.

DE OLIVEIRA, D. M. P. et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 3, p. e00181-19, 17 jun. 2020.

DORTET, L. et al. Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 11, p. 3014–3022, nov. 2015.

DORTET, L. et al. Rapid detection and discrimination of chromosome- and MCR-plasmid-mediated resistance to polymyxins by MALDI-TOF MS in *Escherichia coli*: the MALDIxin test. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 12, p. 3359–3367, 1 dez. 2018.

DOYLE, D. et al. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 12, p. 3877–3880, dez. 2012.

DURANTE-MANGONI, E.; ANDINI, R.; ZAMPINO, R. Management of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. **Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 25, n. 8, p. 943–950, ago. 2019.

EVANS, L. et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. **Critical Care Medicine**, v. 49, n. 11, p. e1063–e1143, 1 nov. 2021.

FALCONE, M. et al. Time to appropriate antibiotic therapy is a predictor of outcome in patients with bloodstream infection caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Critical Care (London, England)**, v. 24, n. 1, p. 29, 30 jan. 2020.

FERRER, R. et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. **Critical Care Medicine**, v. 42, n. 8, p. 1749–1755, ago. 2014.

GLUPCZYNSKI, Y. et al. Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates in Belgian hospitals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 2, p. 168–172, fev. 2012.

GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ, B. et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (INCREMENT): a retrospective cohort study. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 17, n. 7, p. 726–734, jul. 2017.

HEMARAJATA, P. et al. Development of a Novel Real-Time PCR Assay with High-Resolution Melt Analysis To Detect and Differentiate OXA-48-Like  $\beta$ -Lactamases in Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.

59, n. 9, p. 5574–5580, set. 2015.

HRABÁK, J. et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 7, p. 2441–2443, jul. 2012.

HUANG, T.-D. et al. Comparative Evaluation of Two Chromogenic Tests for Rapid Detection of Carbapenemase in *Enterobacteriaceae* and in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 8, p. 3060–3063, ago. 2014.

HUNG, Y.-P.; LEE, C.-C.; KO, W.-C. Effects of Inappropriate Administration of Empirical Antibiotics on Mortality in Adults With Bacteraemia: Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in Medicine**, v. 9, p. 869822, 30 maio 2022.

JOHNSON, A. P.; WOODFORD, N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. Pt 4, p. 499–513, abr. 2013.

KABIR, M. H. et al. A two-centre evaluation of RAPIDEC® CARBA NP for carbapenemase detection in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 5, p. 1213–1216, maio 2016.

KADRI, S. S. et al. Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 241–251, fev. 2021.

KARIV, G. et al. Benchmarking inappropriate empirical antibiotic treatment. **Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 19, n. 7, p. 629–633, jul. 2013.

LANGFORD, B. J. et al. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 12, p. 1622–1629, 1 dez. 2020.

LEVY, M. M.; EVANS, L. E.; RHODES, A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. **Intensive Care Medicine**, v. 44, n. 6, p. 925–928, jun. 2018.

LODISE, T. P. et al. Antimicrobial Resistance or Delayed Appropriate Therapy-Does One Influence Outcomes More Than the Other Among Patients With Serious Infections Due to Carbapenem-Resistant Versus Carbapenem-Susceptible *Enterobacteriaceae*? **Open Forum Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. ofz194, jun. 2019.

LUTGRING, J. D.; LIMBAGO, B. M. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-Enterobacteriaceae Detection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 529–534, mar. 2016.

M, O.; G, B. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Rapid Detection of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Beyond. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 1, 28 nov. 2018.

MA, J. et al. Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. **Microbiological Research**, v. 266, p. 127249, jan. 2023.

MARQUET, K. et al. Incidence and outcome of inappropriate in-hospital empiric antibiotics for severe infection: a systematic review and meta-analysis. **Critical Care (London, England)**, v. 19, n. 1, p. 63, 16 fev. 2015.

MILLS, J. P.; MARCHAIM, D. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria: Infection Prevention and Control Update. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 35, n. 4, p. 969–994, dez. 2021.

MOREIRA, N. K.; CAIERÃO, J. Ceftazidime-avibactam: are we safe from class A carbapenemase producers' infections? **Folia Microbiologica**, v. 66, n. 6, p. 879–896, dez. 2021.

MURRAY, C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 12 fev. 2022.

NOËL, A. et al. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 510–518, fev. 2017.

NORDMANN, P. et al. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 18, n. 5, p. 432–438, maio 2012.

NORDMANN, P. et al. NitroSpeed-Carba NP Test for Rapid Detection and Differentiation between Different Classes of Carbapenemases in *Enterobacterales*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 9, p. e00932-20, 24 ago. 2020.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791–1798, out. 2011.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. Supplement\_7, p. S521–S528, 13 nov. 2019.

NORDMANN, P.; POIREL, L.; DORTET, L. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 9, p. 1503–1507, set. 2012.

**Orientação da instalação para controle de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenem (CRE): atualização de novembro de 2015 - kit de ferramentas CRE.** Disponível em: <<https://stacks.cdc.gov/view/cdc/79104>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

PASTERAN, F. et al. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1996–1998, jun. 2015.

PAUL, M. et al. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 11, p. 4851–4863, nov. 2010.

PEREZ, F.; BONOMO, R. A. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: global action required. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 19, n. 6, p. 561–562, jun. 2019.

POGUE, J. M.; BONOMO, R. A.; KAYE, K. S. Ceftazidime/Avibactam, Meropenem/Vaborbactam, or Both? Clinical and Formulary Considerations. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of**

**America**, v. 68, n. 3, p. 519–524, 18 jan. 2019.

POIREL, L. et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 1, p. 119–123, maio 2011.

PUDPONG, K. et al. Association Between Types of Carbapenemase and Clinical Outcomes of Infection Due to Carbapenem Resistance Enterobacterales. **Infection and Drug Resistance**, v. 15, p. 3025–3037, 2022.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3, p. 440–458, table of contents, jul. 2007.

**Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2022-relatorio-sinaliza-aumento-da-resistencia-antibioticos-em-infeccoes-bacterianas>>. Acesso em: 21 ago. 2023.

RIBEIRO, V. B. et al. Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing isolates in southern Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. Pt 11, p. 1721–1727, nov. 2013.

ROZALES, F. P. et al. Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Porto Alegre, Brazil. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 25, p. 79–81, ago. 2014.

SABINO, S. et al. A Cohort Study of the Impact of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections on Mortality of Patients Presenting with Sepsis. **mSphere**, v. 4, n. 2, p. e00052-19, 10 abr. 2019.

SHIRLEY, M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. **Drugs**, v. 78, n. 6, p. 675–692, abr. 2018.

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, mar. 2018.

TIJET, N. et al. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of

carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 9, p. 4578–4580, set. 2013.

TIMBROOK, T. T.; HUETH, K. D.; GINOCCHIO, C. C. Identification of bacterial co-detections in COVID-19 critically ill patients by BioFire® FilmArray® pneumonia panel: a systematic review and meta-analysis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 101, n. 3, p. 115476, nov. 2021.

TOOKE, C. L. et al.  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 18, p. 3472–3500, 23 ago. 2019.

VAN DER ZWALUW, K. et al. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. **PloS One**, v. 10, n. 3, p. e0123690, 2015.

VAN DUIN, D. et al. Colistin Versus Ceftazidime-Avibactam in the Treatment of Infections Due to Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 66, n. 2, p. 163–171, 6 jan. 2018.

VAN DUIN, D.; BONOMO, R. A. Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation  $\beta$ -Lactam/ $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combinations. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 63, n. 2, p. 234–241, 15 jul. 2016.

VAN DUIN, D.; DOI, Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Virulence**, v. 8, n. 4, p. 460–469, 19 maio 2017.

VASOO, S. et al. Comparison of a Novel, Rapid Chromogenic Biochemical Assay, the Carba NP Test, with the Modified Hodge Test for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 9, p. 3097–3101, set. 2013.

YAMADA, K. et al. Comparison of the Modified-Hodge test, Carba NP test, and carbapenem inactivation method as screening methods for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 128, p. 48–51, set. 2016.

