



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



JENIFER FRANCISCO DE ALCÂNTARA LOPES
VERONICA LORENA DE LIMA FIGUEIREDO

**DETECÇÃO DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS PRODUTORES DE
CARBAPENEMASES UTILIZANDO TESTE BLUE-CARBA**

RIBEIRÃO PRETO
2018



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



**JENIFER FRANCISCO DE ALCÂNTARA LOPES
VERONICA LORENA DE LIMA FIGUEIREDO**

**DETECÇÃO DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS PRODUTORES DE
CARBAPENEMASES UTILIZANDO TESTE BLUE-CARBA**

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP/ Departamento de Apoio Médico (DAM)

Área: Microbiologia/Controle de Infecção Hospitalar

Orientador(a): Dr. Leonardo Neves de Andrade

Supervisor(a) Titular: Renata Helena Candido Pocente

**RIBEIRÃO PRETO
2018**

Autorizamos a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

AGRADECIMENTOS

Agradecemos, em primeiro lugar, a Deus, pelo dom da vida e por ter nos guiado todos os dias nessa caminhada de aprendizado da vida e do aprimoramento, nos dando sabedoria e conhecimento.

Agradecemos aos nossos pais e maridos, pelo incentivo, nos apoiando nos bons e maus momentos que passamos ao longo do aprimoramento, nos demonstrando que a família é a maior riqueza que Deus pode nos dar.

Aos colegas do aprimoramento, pela convivência, amizades que foi construída ao longo do programa. Agradecemos, Brenda e Luana, que foram parceiras no nosso trabalho de resistência bacteriana, pelas horas de dedicação dos preparos das amostras.

A todos os funcionários, pelo conhecimento transpassado, atenção, dedicação, paciência que tiveram conosco para realização desse trabalho. Agradecemos, a Renata, nossa supervisora, pelo carinho, amizade e ensinamento.

A Profa. Ana Lúcia Costa Darini, que sempre esteve disposta a nos ajudar, dando todo o auxílio necessário para a elaboração desse trabalho.

Ao Dr. Leonardo Neves de Andrade, agradecemos pela dedicação que nos foi instruída para que esse trabalho fosse realizado, pela orientação e paciência. Pela oportunidade que nos foi dado para que aprendêssemos mais sobre resistência bacteriana, nossos sinceros agradecimentos.

RESUMO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é um importante problema de saúde pública, mais recentemente, em especial, a resistência de bacilos gram-negativos aos antibióticos carbapenêmicos (ertapenem, meropenem e imipinem). Considerando essa importância, houve a necessidade de novos métodos de detecção da resistência para auxiliar o diagnóstico e a terapêutica. A produção de beta-lactamases é um dos principais mecanismos de resistência aos antibióticos beta-lactâmicos em bacilos gram-negativos. Em especial, a produção de carbapenemases confere resistência a todos os antibióticos beta-lactâmicos, com destaque para as carbapenemases metalo-beta-lactamases (MBL), oxacilinases (OXA) e KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase). O objetivo do presente estudo foi detectar fenotipicamente bacilos gram-negativos produtores de carbapenemases utilizando o método Blue-Carba. Foram avaliados 55 bacilos gram-negativos resistentes às cefalosporinas de amplo espectro e/ou aos carbapenêmicos. Todas as bactérias foram isoladas de líquidos nobres de pacientes durante a rotina de diagnóstico do Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP – USP). Dos isolados avaliados, dois dos que apresentaram resistência às cefalosporinas de amplo espectro, apresentaram também a produção de carbapenemase, sendo que um destes isolados apresentou a produção de carbapenemase apenas na suplementação de sulfato de zinco. No método utilizado, foi observado uma maior frequência de produção de carbapenemase nas espécies *Klebsiella pneumoniae*, seguida por *Acinetobacter baumannii*. Podemos concluir que foi possível, portanto, detectar a produção de carbapenemases utilizando o método Blue-Carba.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Resultado dos Testes Blue-Carba sem e com adição de zinco em três diferentes tempos de leitura.....	8
------------------	---	---

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Resultados representativos do Teste Blue-Carba.....	6
------------------	---	---

LISTA DE SIGLAS

IRAS	Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde
PBPs	Proteínas Ligadoras da Penicilina
ESBLs	Beta-lactamase de espectro estendido
MβL	Metallo-Beta-lactamase
OXA	Oxacilinase
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	04
2.1 . Objetivos gerais	04
2.2 . Objetivo específico	04
3. METODOLOGIA	05
3.1 . Isolados bacterianos	05
3.2 . Teste Blue-Carba	05
3.3 . Teste Blue-Carba com a adição de sulfato de zinco (SO ₄ Zn)	06
4. RESULTADO	08
5. DISCUSSÃO	12
6. CONCLUSÃO	13
REFERÊNCIAS	14

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento e disseminação da resistência aos antimicrobianos, na segunda metade do século XX foi necessário a busca por novas opções terapêuticas para o combate de infecções por bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases, foi descoberto então o “ácido olivânico”, obtido a partir da bactéria gram-positiva *Streptomyces clavuligerus*, presente primariamente no solo aonde atuam como importantes decompositores (Teodoro, 2008). Este foi o primeiro composto a ser descoberto, porém devido a sua toxicidade teve sua produção comercial abandonada logo em seguida ao seu descobrimento. Após dois anos o “ácido clavulênico” e a tienamicina também foram descobertos, sendo que a tienamicina foi extraída do *Streptomyces cattleya*. Assim, a tienamicina foi considerada o primeiro carbapenêmico descoberto e serviu como base para a produção de diversos outros compostos da mesma classe, alguns deles já disponibilizados para uso clínico. Por sua potência e amplo espectro de ação, estes antimicrobianos foram considerados a “última linha” para tratamento de infecções graves por gram-negativos, principalmente aqueles associados às infecções relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) (SANTOS; FONSECA; BELLO, 2018).

Os Carbapenêmicos exercem seu efeito terapêutico através da ligação às Proteínas Ligadoras da Penicilina (PBPs do inglês - Penicillin Binding Proteins) na parede celular bacteriana e, partir dessa ligação, são liberadas enzimas autolíticas que promovem a degradação da parede celular, consequentemente a morte bacteriana (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Devido a sua potencial ação em bacilos gram-negativos, são opções seguras como monoterapia para tratamento de infecções polimicrobianas graves (como, exemplo, sepse de foco abdominal). Os principais representantes desta classe de fármacos são o imipenem, sendo ele o primeiro carbapenêmico disponibilizado para uso clínico, há cerca de trinta anos, o meropenem segundo carbapenêmico disponibilizado para uso clínico e com risco terapêutico menor, devida à baixa toxicidade renal, e o ertapenem, o mais recente carbapenêmico disponibilizado para uso clínico no Brasil. Estes fármacos mantêm boa atividade contra bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e contra cepas produtoras de beta-lactamases cromossomais do tipo AmpC (PAPP-WALLACE et al., 2011).

Entretanto, especialmente nos últimos anos, a emergência de bacilos gram-negativos “multirresistentes” incluindo os carbapenêmicos, tem ameaçado a posição destes antibióticos, como última fronteira no tratamento de infecções por estes patógenos, tornando-se um problema clínico e epidemiológico em diversas instituições de saúde, devido a sua disseminação e elevada taxa de mortalidade (MENDES et al., 2006).

Dentre os múltiplos mecanismos de resistência apresentados por bacilos gram-negativos resistentes aos carbapenêmicos, é de destaque a produção de beta-lactamases chamadas “carbapenemases”, como as metalo-Beta-lactamase (M β L), oxacilinases (OXA) e em especial a produção da carbapenemase KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) foi identificada pela primeira vez em 2001, inicialmente em *K. pneumoniae* nos Estados Unidos, e atualmente, é detectada em outras enterobactérias e bacilos gram-negativos não fermentadores, devido à grande capacidade de transferência de material genético, localizado em plasmídeos (MACIEL; MATTOS, 2013).

A produção de carbapenemases confere resistência a todos os antibióticos beta-lactâmicos, como penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos, contribuindo para o aumento da resistência bacteriana, resultando em menor eficácia de fármacos antimicrobianos (SEIBERT et al., 2014).

A rápida detecção destes microrganismos multirresistentes auxilia em medidas de controle de disseminação, prevenção e tratamento adequado dos pacientes. Atualmente, a detecção da produção de carbapenemases em enterobactérias e bacilos gram-negativos não fermentadores pode ser realizada por métodos de difusão de disco (disco combinado), colorimétricos (ex: Carba-NP, Blue-Carba) e, moleculares (ex: Reação em cadeia da polimerase - PCR), entre outros.

Desses métodos o teste fenotípico que está ganhando destaque por ser rápido e simples é o Blue-Carba.

O teste Blue-Carba é uma versão modificada do teste Carba NP, modificado por Pires, Novais e Peixe (2013). Esse teste consiste na detecção da hidrólise do anel β -lactâmico por carbapenemases utilizando o indicador azul de bromotimol. Quando a bactéria produzir carbapenemases ocorrerá alteração da cor da solução de azul para amarelo/verde. Nesse método o zinco pode ser utilizado como um co-fator para atividade enzimática das metalo- β -lactamases (M β L). Como toda carbapenemase pode ser codificada ou transmitida por elementos genéticos móveis,

esse método aumenta a possibilidade da sua rápida detecção e auxilia a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) na prevenção da disseminação desse mecanismo de resistência no ambiente hospitalar (BERTONCHELI; HÖRNER, 2008).

Considerando a importância e disseminação desse mecanismo de resistência, pouco investimento e descoberta de novos agentes antimicrobianos, o seu uso abusivo, a automedicação de pacientes e pacientes imunodeprimidos, testes rápidos para a detecção de bactérias multirresistentes são de fundamental importância para o desenvolvimento de um método viável (BERTONCHELI; HÖRNER, 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Detectar fenotipicamente bacilos gram-negativos produtores de carbapenemases utilizando o método Blue-Carba.

2.2 Objetivo específico

Detectar fenotipicamente bacilos gram-negativos produtores de carbapenemases em isolados clínicos, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP).

3 METODOLOGIA

3.1 Isolados Bacterianos

Todas as bactérias estudadas foram isoladas e identificadas na rotina de diagnóstico do Laboratório de Microbiologia do HCFMRP-USP.

Foram isolados 151 bacilos gram-negativos de amostras biológicas de sangue, líquido ascítico, peritoneal, sinovial, pleural, LCR e LBA no período de setembro a novembro de 2018. Após o isolamento, as cepas foram semeadas em meio Mueller-Hinton e incubadas a 37°C por 24 horas e posteriormente armazenadas em caldo BHI com 20% de glicerol, congeladas em freezer a -80°C.

Dentre o total de bactérias isoladas, 55 foram selecionadas para a realização do teste Blue-Carba. O critério de seleção utilizado foi: isolados resistentes aos antibióticos carbapenêmicos (ertapenem, meropenem, imipenem), e/ou isolados resistentes as cefalosporinas de amplo espectro, estes últimos para serem utilizados como controle negativo nos testes Blue-Carba. Dentre as 55 bactérias estudadas foram encontrados isolados de *Escherichia coli* (n= 14), *Klebsiella pneumoniae* (n= 15), *Enterobacter aerogenes* (n= 1), *Enterobacter cloacae* (n= 5), *Morganella morganii* (n= 2), *Salmonella enterica* (n= 1), *Serratia marcescens* (n= 2), *Pseudomonas aeruginosa* (n= 3), *Acinetobacter baumannii* (n= 9), *Acinetobacter Iwoffii* (n=1), *Aeromonas hydrophilia* (n=1) e *Ralstonia mannitolilytica* (n= 2), todos isolados clínicos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP - USP).

3.2 Teste Blue-Carba

O teste foi realizado nas bactérias selecionadas para verificar a produção de carbapenemase. A solução teste utilizada é constituída de solução aquosa de azul de bromotimol a 0,04% e pH 6.1, com posterior adição 6 mg/mL de Imipenem-Cilastatina (500 mg de Cilastatina e 500 mg imipenem) no momento do teste (PIRES; NOVAIS; PEIXE, 2013; PASTERAN et al., 2015).

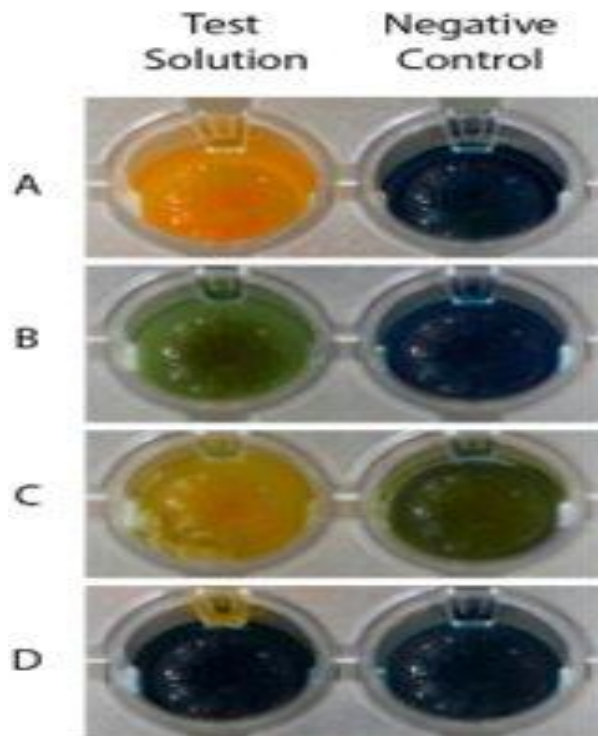
Para ser utilizada como controle negativo foi preparada uma solução de azul de bromotimol a 0,04% e pH 7.1, sem acréscimo do Imipenem-Cilastatina.

Aproximadamente 5uL de cada cultura bacteriana, isolada em ágar Mueller-Hinton, foi suspensa em 100 uL de solução teste e 100 uL de solução controle negativo já acondicionadas em eppendorf e incubada a 37°C.

Os resultados dos testes/controles foram avaliados em 30 minutos, 1 hora e 2 horas e as mudanças de cor foram registradas (PIRES; NOVAIS; PEIXE, 2013).

A mudança de cor para amarelo significa produção de carbapenemases pela bactéria estudada (Figura 1).

Figura 1- Resultados representativos do teste Blue-Carba



Fonte: PIRES, NOVAIS e PEIXE (2013). Nota: Resultados representativos do teste Blue-Carba obtidos de bacilos gram-negativos produtores de carbapenemase (A, B e C) e não produtores de carbapenemase (D) com solução de teste (esquerda) e soluções de controle negativo (direita).

(A) *E. coli* produtora de NDM-1, (B) *A. baumannii* produtor de OXA-23 e (C) *K. pneumoniae* produtora de OXA-48. (D) *E. coli* ATCC 25922. As imagens foram fotografadas após 2 horas de incubação.

3.3 Teste Blue-Carba com a adição de sulfato de zinco (SO₄Zn)

Para cada teste, foram utilizados 99uL de solução aquosa de azul de bromotimol 0,04% e pH 6.1, com adição de 1 uL de SO₄Zn 0.1 mmol/l e também adição de 6 mg/ml de Imipenem-Cilastatina (500 mg de Cilastatina e 500 mg imipenem) no momento do teste.

Para cada controle negativo foi preparado 99uL de solução aquosa de azul de bromotimol 0,04% e pH 7,1, com adição de 1 uL de sulfato de zinco (SO₄Zn) 0.1 mmol/L no momento do teste.

Foi suspenso 5 uL da cultura bacteriana em eppendorf e acondicionados na solução teste e na solução controle. O método de incubação e leituras são os mesmos do teste anterior (PIRES; NOVAIS; PEIXE, 2013; PASTERAN et al., 2015).

Em ambos os testes foram utilizadas inicialmente cepas controles, sendo elas *Enterobacter sp* CRE34 (Hiperprodutora de AmpC), *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 (produtora de ESBL), *Klebsiella pneumoniae* ATCCBAA1705 (produtora de KPC) e *Klebsiella pneumoniae* NCTC13443 (produtora de NDM).

4 RESULTADOS

Os isolados selecionados que apresentaram resistência somente às cefalosporinas de amplo espectro 42% (23/55) serviram como controle negativo para o teste. Entretanto, dois desses isolados apresentaram a produção de enzima Carbapenemase, sendo que um dos isolados, *E. coli* (N 69) apresentou resultado positivo logo na primeira leitura (30 minutos) e seguiu com o mesmo resultado nas leituras subsequentes. O outro isolado, *E. coli* (N 4) apresentou resultado positivo na terceira leitura (2 horas) e somente na presença do sulfato de zinco.

Dos isolados com resistência aos Carbapenêmicos 58% (32/55), cerca de 37,5% (12/32) não apresentaram a presença de enzima carbapenemase no teste nos testes realizados, dentre eles *Acinetobacter baumannii* (N 138), *Enterobacter cloacae* (N 43, 45, 47, 126), *Klebsiella pneumoniae* (N 13), *Morganella morganii* (N 106, 118), *Pseudomonas aeruginosa* (N 127, 139) e *Ralstonia mannitolilytica* (N 78, 79).

Os isolados *Acinetobacter baumannii* (N 5, 15, 107), *Enterobacter aerogenes* (N 27) e *Klebsiella pneumoniae* (N 14) apresentaram a presença de enzima carbapenemase somente com a suplementação de sulfato de zinco.

Os demais isolados 46% (15/32) apresentaram a presença de enzima carbapenemase, mostrando melhor leitura após 2 horas de incubação.

Os testes foram realizados em duplicata para confirmação dos resultados.

Tabela 1 – Resultados dos Testes BlueCarba sem e com adição de sulfato de zinco em três diferentes tempos de leitura.

N	Espécie	Leitura 30 minutos		Leitura 1 hora		Leitura 2 horas	
		-	com SO ₄ Zn	-	com SO ₄ Zn	-	com SO ₄ Zn
5	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	+	-	+
15	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	+	-	+
29	<i>A. baumannii</i>	-	+	+	+	+	+
31	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-
65	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	+	+	+
89	<i>A. baumannii</i>	+	+	+	+	+	+

Continua.

Continuação. **Tabela 1** – Resultados dos Testes BlueCarba sem e com adição de sulfato de zinco em três diferentes tempos de leitura.

107	<i>A. baumannii</i>	-	+	-	+	-	+
138	<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-
41	<i>A. lwoffii</i>	-	-	-	-	-	-
96	<i>A. hydrophilia</i>	+	+	+	+	+	+
1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
4	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+
19	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
21	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
22	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
34	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
39	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
54	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
55	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
57	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
61	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
63	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
66	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
69	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+
27	<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	+
43	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-
45	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-

Continua.

Continuação. **Tabela 1** – Resultados dos Testes BlueCarba sem e com adição de sulfato de zinco em três diferentes tempos de leitura.

47	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-
62	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-
126	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-
7	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
13	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
14	<i>K. pneumoniae</i>	-	+	-	+	-	+
23	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
64	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
67	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
81	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
83	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
87	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
88	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
98	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
99	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
101	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
136	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
142	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
106	<i>M. morgani</i>	-	-	-	-	-	-
118	<i>M. morgani</i>	-	-	-	-	-	-
97	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-

Continua.

Conclusão. **Tabela 1** – Resultados dos Testes BlueCarba sem e com adição de sulfato de zinco em três diferentes tempos de leitura.

127	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
139	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
78	<i>R. mannitolilytica</i>	-	-	-	-	-	-
79	<i>R. mannitolilytica</i>	-	-	-	-	-	-
90	<i>S. enterica</i>	-	-	-	-	-	-
60	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-
95	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-

5 DISCUSSÃO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é um importante problema de saúde pública e nos últimos anos está se tornando mais frequente, tanto no ambiente hospitalar como na comunidade, ameaçando a eficácia terapêutica empregada nas infecções bacterianas. Os bacilos gram-negativos fermentadores da família Enterobacteriaceae, como *K. pneumoniae*, *E. coli* e bacilos gram-negativos não fermentadores, como *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, são os que mais apresentam multirresistência no ambiente hospitalar pelo acúmulo de mecanismos de resistência, destacando a produção de enzimas beta-lactamases como ESBL e KPC, a presença dessas bactérias em processos infecciosos tem demonstrado elevado índice de morbidade e mortalidade, tornando-se um problema grave no Brasil e em outros países (MOTA; OLIVEIRA; SOUTO, 2018).

Durante este estudo foram isoladas apenas dois isolados de *E. coli* produtoras de carbapenemases (N69 e N4), destacando que o isolado N4 apresentou a enzima carbapenemase somente com a presença de SO_4Zn , sugerindo uma Metallo-Beta-Lactamase (MBL). As MBLs hidrolisam todos os beta-lactâmicos comercialmente disponíveis, sendo única exceção o monobactam e o aztreonam. Essas enzimas necessitam da utilização de dois íons divalentes, usualmente o zinco, como co-fator para a sua atividade catalítica (MENDES et al., 2006).

No presente estudo, das 16 bactérias produtoras de carbapenemase, pode ser observado uma maior frequência da espécie *K. pneumoniae*, seguida de *Acinetobacter baumannii*. Essa frequência foi observada também no estudo de Silva e Velasquez (2017), no qual os isolados de *K. pneumoniae* produtoras de carbapenemase apresentam elevado aumento em todo mundo, por se tratar de uma bactéria oportunista, isolada principalmente em indivíduos hospitalizados. O uso de antibióticos beta-lactâmicos de amplo espectro contribuiu para o aumento de isolados produtores de ESBL e, conseqüentemente, o uso elevado de carbapenêmicos como escolha terapêutica para o tratamento de infecções por enterobactérias multirresistentes também contribuiu para a emergência e disseminação de enzimas carbapenemases, como a KPC, e disseminação da resistência aos carbapenêmicos (SILVA; VELASQUEZ, 2017).

6 CONCLUSÃO

A partir do Teste Blue-Carba foi possível detectar a produção da enzima carbapenemase em diferentes bactérias, demonstrando uma satisfatória sensibilidade do método. A implementação de procedimentos confirmatórios como o teste Blue-Carba é particularmente importante em Hospitais, onde medidas precisas e rápidas de controle de infecção, bem como isolamento de pacientes colonizados / infectados, são prioridade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Leonardo Neves; DARINI, Ana Lúcia Costa. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla bla bla é esse? **Official Journal Of The Brazilian Association Of Infection Control And Hospital Epidemiology**, Brazil, v. 6, n. 3, p.1-10, 17 jan. 2017. Disponível em: <<http://jic-abih.com.br/index.php/jic/article/viewFile/173/pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

ANVISA. Serviços de saúde. **Gram negativos - resistência aos antimicrobianos**. Modulo 3. Brasília 2007.

BERTONCHELI, Claudia de Mello; HÖRNER, Rosmari. Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s.l.], v. 44, n. 4, p.577-599, dez. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322008000400005>.

HAWKEY, P. M.. The growing burden of antimicrobial resistance. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.1-9, 1 set. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkn241>.

LISELOTTE DIAZ HÖGBERG (Suécia). The European Centre For Disease Prevention And Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe: : Pseudomonas aeruginosa. **Surveillance Report: Antimicrobial resistance surveillance in Europe**, Estolcomo, p.33-46, 2014.

MACIEL, Bruna Calil; MATTOS, Liliana Patrícia Vital de. A BACTERIA MULTIRRESISTENTE KLEBSIELLA PNEUMONIAE CARBAPENAMASE (KPC). **Atas de Ciências da Saúde**, São Paulo, v. 1, n. 2, p.675-686, 06 fev. 2013. Disponível em: <<http://www.revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/553/675>>. Acesso em: 06 fev. 2019.

MENDES, Rodrigo Elisandro et al. Metallo-beta-lactamases. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 42, n. 2, p.103-113, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442006000200007>.

MOTA, Fernanda Soares da; OLIVEIRA, Heloísa Aquino de; SOUTO, Renata Carneiro Ferreira. Profile and prevalence of antimicrobial resistance of negative-Gram bacteria isolated from intensive care patients. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.270-277, 2018. Revista Brasileira de Análises Clínicas. <http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201800740>.

NOVAIS, Ângela et al. **Evaluation of the Recently Launched Rapid Carb Blue Kit for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria**: TABLE 1. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 53, n. 9, p.3105-3107, 15 jul. 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01170-15>.

PAPP-WALLACE, Krisztina M. et al. Carbapenems: Past, Present, and Future. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 55, n. 11, p.4943-4960, 22 ago. 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00296-11>.

PASTERAN, Fernando et al. Evaluation of the Blue-Carba Test for Rapid Detection of Carbapenemases in Gram-Negative Bacilli: TABLE 1. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 53, n. 6, p.1996-1998, 25 mar. 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.03026-14>

PIRES, J.; NOVAIS, A.; PEIXE, L.. Blue-Carba, an Easy Biochemical Test for Detection of Diverse Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 51, n. 12, p.4281-4283, 9 out. 2013. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01634-13>.

ROSSI, Flávia; ANDREAZZI, Denise B.. Antibióticos e Resistência Bacteriana: Principais mecanismos de ação dos antimicrobianos. In: ROSSI, Flávia. **Resistência Bacteriana: Interpretando o Antibiograma**. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 3. p. 21-21.

SANTOS, Juliana Graça dos; FONSECA, Bianca Oliveira de; BELLO, Alexandre Ribeiro. **Avaliação de transferência de marcadores de resistência por conjugação em enterobactérias resistentes aos antimicrobianos e telurito de potássio no ambiente hospitalar**. 2018. 41 f. Monografia (Especialização) - Curso de Microbiologia e Imunologia, /departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da Uerj, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://revistapensar.com.br/biologia/pasta_upload/artigos/a159.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2019.

SEIBERT, Gabriela et al. Nosocomial infections by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.282-286, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082014ao3131>

SILVA, Ana Carolina Pereira da; VELASQUEZ, Patrícia Amaral Gurgel. PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLADAS DE PACIENTES DA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA DE UM HOSPITAL NO SUDOESTE DO PARANÁ1. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p.259-270, 28 set. 2017.

TEODORO, Juliana Conceição. **Influencia das condições de alimentação de glicerol e ornitina na produção de ácido clavulânico por *Strptomyces clavuliderus***. 2008. 455 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Ufscar, São Carlos, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/3857/1771.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 06 fev. 2019.