

Análise das Infecções por Microrganismos Resistentes aos Carbapenemes no Hospital do Divino Espírito Santo

Dissertação de Mestrado

Bernardete Alves Taveira

Mestrado em
Ciências Biomédicas



Ponta Delgada

2021

UNIVERSIDADE DOS AÇORES
Faculdade de Ciências e Tecnologia

Rua da Mãe de Deus
9500-321 Ponta Delgada
Açores, Portugal

Análise das Infecções por Microrganismos Resistentes aos Carbapenemes no Hospital do Divino Espírito Santo

Dissertação de Mestrado

Bernadete Alves Taveira

Orientadores

Professor Doutor Luís Filipe Dias e Silva

Professora Doutora Maria do Carmo Barreto

Dissertação de Mestrado submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências Biomédicas



AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Doutor Luís Filipe Dias e Silva e à Doutora Maria do Carmo Barreto por terem aceite serem orientadores do meu trabalho final de mestrado, bem como por todo o empenho que demonstraram na transmissão de conhecimentos e no apoio à elaboração deste projeto.

Gostaria de agradecer também à Dr.^a Rita Pinto, Diretora do Serviço de Patologia Clínica do Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada, pela disponibilidade no apoio à pesquisa e à preparação deste trabalho.

À minha família e amigos, por me proporcionarem o apoio, solidariedade e confiança durante o meu percurso académico.

RESUMO

Introdução: A emergência e disseminação global de *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenemes (CRE) constituem ameaças à saúde pública, estando associadas a um aumento das taxas de morbidade e mortalidade, com particular relevância em doentes imunodeprimidos ou portadores de múltiplas patologias. Testes de sensibilidade aos antimicrobianos evidenciam um incremento de resistências destas bactérias, em virtude da variedade de mecanismos de resistência adquiridos. Em Portugal destaca-se *Klebsiella pneumoniae* da família das *Enterobacteriaceae*, associada maioritariamente a infeções urinárias.

Material e Métodos: Estudo retrospectivo efetuado no Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada, E.P.E., entre março 2017 e dezembro de 2020. Foram considerados todos os doentes colonizados ou infetados com CRE.

Resultados: Foram detetados 80 doentes, apresentando uma média de idade de 67,8 anos com ligeiro predomínio do género masculino, a maioria apresentando múltiplas patologias. Os casos foram maioritariamente associados a infeções urinárias (33,8%), mas incluindo igualmente colonizações (38,8%). *Klebsiella pneumoniae* foi detetada em 56,3% dos casos. Os antibióticos mais utilizados no tratamento destas infeções foram a ciprofloxacina (12,5%) e o meropenem (12,5%), tendo sido atribuída a designação de CRE a estas infeções sobretudo por resistência ao ertapenem (90%).

Discussão: Os resultados obtidos confirmam resultados anteriores publicados em diversos estudos efetuados em hospitais de Portugal continental. Verificou-se que a maioria das infeções estavam associadas a infeções urinárias por *Klebsiella pneumoniae* e os doentes eram, maioritariamente, portadores de múltiplas patologias, provindo as amostras sobretudo dos serviços de Urgência, Medicina e Cirurgia. Relativamente à frequência de resistência aos antibióticos, não foi possível encontrar a mesma concordância, visto que nem sempre foram utilizados os mesmos antibióticos nos diversos estudos.

Conclusão: Apenas 11,3% dos casos detetados no HDES poderão estar associados à morte dos pacientes. É difícil correlacionar o aumento da mortalidade com as infeções por CRE, visto que estes pacientes, na sua maioria, são portadores de múltiplas patologias ou padecem de doenças graves. No entanto, as infeções agravam o quadro clínico dos doentes, aumentando o tempo de internamento hospitalar e os custos associados aos cuidados de saúde, sendo de extrema importância cumprir com o plano nacional para a contenção das multirresistências.

Palavras-Chave: Enterobacteriaceae; Carbapenemes; *Klebsiella pneumoniae*; Resistência antibiótica.

ABSTRACT

Introduction: The emergence and global spread of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) are threats to public health, associated to morbidity and mortality rates increase, with relevance in immunocompromised patients or patients with multiple pathologies. Antimicrobial sensitivity tests show an increase in resistance results of these bacteria, due to the variety of acquired resistance mechanisms. In Portugal, *Klebsiella pneumoniae* of the Enterobacteriaceae family get particular emphasis, mostly associated with urinary infections.

Material and Methods: Retrospective study carried out at Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada, E.P.E. (HDES), between March 2017 and December 2020. All patients colonized or infected with CRE were considered.

Results: 80 patients were detected, with a mean age of 67.8 years, with a slight predominance of male genre, most of them presenting multiple pathologies. Cases were mostly associated with urinary tract infections (33.8%) but also including colonizations (38.8%). *Klebsiella pneumoniae* was detected in 56.3% of cases. The most used antibiotics in the treatment of these infections were ciprofloxacin (12.5%) and meropenem (12.5%). Designation of CRE were given mainly due to resistance to ertapenem (90%).

Discussion: The results obtained confirm previous results published in several studies carried out in hospitals in Portugal. Most studied infections were associated with urinary infections caused by *Klebsiella pneumoniae* and the patients were mostly carriers of multiple pathologies. The analysed samples coming mainly from the Emergency, Medicine and Surgery services. The analysed samples are mainly related to the Emergency, Medicine and Surgery services. Regarding the frequency of antibiotic resistance, it was not possible to find the same agreement, as the same antibiotics were not always used in different studies. Concerning the assessment of the frequency of antibiotic resistance, it was not possible to find the same concordance, as the same antibiotics were not always used in different studies.

Conclusion: Only 11.3% of detected cases in HDES could be associated with patient death. Considering that the most part of analysed patients have multiple pathologies or suffer from serious diseases, it is difficult to establish correlation of the increase in mortality with SRC infections. However, infections aggravate the clinical condition of patients, increasing the length of hospital stay and the costs associated with healthcare, and it is extremely important to comply with the national plan for the control of multidrug resistance.

Keywords: Enterobacteriaceae; Carbapenems; *Klebsiella pneumoniae*; Antimicrobial resistance.

ÍNDICE GERAL

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Enquadramento geral	1
1.2	Enterobacteriáceas resistentes aos Carbapenemes.....	3
1.2.1	Colonização versus Infecção	4
1.2.2	Carbapenemes	5
1.2.3	Opções terapêuticas para as CRE.....	6
1.2.4	Mecanismos de resistência	8
1.2.4.1	Degradação enzimática através da produção de carbapenemases	8
1.2.4.2	Aumento da expressão de bombas de efluxo	9
1.2.4.3	Diminuição da permeabilidade da membrana externa devido a mutações de porinas. 10	
1.2.5	Epidemiologia.....	11
1.3	Métodos de diagnóstico das carbapenemases	15
1.3.1	Testes fenotípicos	15
2	MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1	Contexto Hospitalar	21
2.2	Recolha de informação hospitalar.....	21
2.3	Dados Microbiológicos.....	23
2.4	Tratamento Estatístico	23
3	RESULTADOS	25
3.1	Origem dos casos	25
3.2	Material biológico e tipo de infecção.....	28
3.3	Microorganismos isolados.....	31
3.4	Origem das infecções.....	32
3.5	Patologias associadas e mortalidade.....	34
3.6	Antibioterapia.....	35
3.7	Resistência aos carbapenemes.....	36
4	DISCUSSÃO	39
5	CONCLUSÕES	45
6	BIBLIOGRAFIA	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Percentagem do número de isolamentos de <i>K. pneumoniae</i> resistentes a carbapenemes em alguns países europeus em 2018. Adaptado de [1].....	14
Figura 2 – Teste MHT para deteção de KPC em três estirpes de <i>K. pneumoniae</i> . [62]	16
Figura 3 – Teste RAPIDEC® CARBA NP positivo. [59]	17
Figura 4 – Meio chromID® CARBA SMAR. Crescimento com coloração rosa no meio Carb, indicando a possibilidade de <i>E.coli</i> produtora de KPC. Crescimento com coloração verde indicando a possibilidade de <i>K. pneumoniae</i> produtora de OXA-48. [59]	18
Figura 5 – Distribuição da idade e do género numa amostra de 80 pacientes diagnosticados com CRE entre 2017 e 2018, no HDES. Em cima: histogramas da idade por sexo; Em baixo: Gráfico de quartis da idade pelo género (F – Feminino, M – Masculino). Os círculos brancos correspondem a valores extremos.	26
Figura 6 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 62 pacientes, em função do serviço hospitalar, entre março de 2017 e fevereiro de 2020 no HDES. Em cima: número de casos por serviço ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por serviço hospitalar.	27
Figura 7 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 18 pacientes, em função do serviço hospitalar, entre março de 2020 e dezembro de 2020 no HDES. Esquerda: número de casos por serviço em 2020; Direita: percentagem de casos por serviço hospitalar.	28
Figura 8 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes, em função do tipo de amostra biológica, entre março de 2017 e dezembro de 2020 no HDES. Em cima: número de casos por tipo de amostra ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por tipo de amostra.	29
Figura 9 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o tipo de infeção, no HDES. Em cima: número de casos por tipo de infeção ou devido a colonização ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por tipo de infeção ou por colonização.	30
Figura 10 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre 2017 e 2018, de acordo com microrganismo isolado, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Em cima: número de casos por microrganismo ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por microrganismo.	32
Figura 11 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a origem dos casos, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Em cima: número de casos por origem da infeção ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por origem da infeção. Colonização associada ao Hospital de São José (Coloni\HSJ), Infeções associadas a cuidados de saúde (IACS) relacionadas com o Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), Hospital de Santo Espírito da Ilha Terceira	

(HSEIT), Hospital do Divino Espírito Santo (HDES) e Hospital de Santa Maria (HSM). As colonizações foram incluídas para evidenciar a sua relevância face ao número de infeções..... 33

Figura 12 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o contexto patológico, no HDES em Ponta Delgada, Açores..... 34

Figura 13 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com as respetivas patologias, no HDES em Ponta Delgada, Açores. 34

Figura 14 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o desenlace, no HDES em Ponta Delgada, Açores..... 35

Figura 15 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo os antibióticos utilizados no tratamento, no HDES em Ponta Delgada, Açores... 36

Figura 16 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico ertapenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios..... 37

Figura 17 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico imipenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios..... 37

Figura 18 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico meropenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios..... 38

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I – Antibióticos usualmente testados nos CRE e respectivas concentrações mínimas inibitórias (MIC), seguindo as diretrizes de EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).	7
Tabela II – Variantes das carbapenemases expressas com maior frequência e base do mecanismo de ação, associadas à classificação de Ambler.	9
Tabela III – Primers e sondas utilizados para detecção dos genes das carbapenemases KPC (<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase) e OXA-48 (Oxacillinase-48).	19

NOMENCLATURA

BGN-NF - Bacilos Gram Negativos Não Fermentadores

CRE - Enterobacteriáceas Resistentes ao Carbapenemes

CVC - Cateter Venoso Central

DGS - Direção-Geral da Saúde

EDCD - European Centre for Disease Prevention and Control

ERP - Enterprise Resource Planning

ESBL - Betalactamases de Espectro Alargado

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

HDES - Hospital do Divino Espírito Santo

IACS - Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde

IACS/CHUC - Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde no Centro Hospitalar da Univ. de Coimbra

IACS/HDES - Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde no Hospital do Divino Espírito Santo

IACS/HSEIT - Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde no Hospital do Santo Espírito da Ilha Terceira

IACS/HSM - Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde no Hospital de Santa Maria

IMI - / - NMC-A - Imipenemase / - non - metalcarbapenemase - A

IMP - Imipenemase Metallo-betalactamase

ITU - Infeção do Trato Urinário

KPC - Carbapenemase de *Klebsiella pneumoniae*

MHT - Teste de Hodge Modificado

MIC - Concentração Mínima Inibitória

NDM - Nova Deli Metallo-betalactamase

OXA-48 - Oxacilinase tipo 48

PBP - Proteínas de Ligação à Penicilina

PCR - Polymerase Chain Reaction T

SDI - Serviço de Doenças Infeciosas

SME - *Serratia marcescens* Enzyme

SMI - Serviço de Medicina Interna

TGI - Infeção do Trato Gastrointestinal

TSA - Teste de Suscetibilidade aos Antibacterianos

UCI - Unidade de Cuidados Intensivos

UCP - Unidades de Cuidados Paliativos

VIM - Verona Integron-encoded Metallo-betalactamas

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENQUADRAMENTO GERAL

Nos últimos anos, tem-se verificado um grande crescimento das taxas de resistência dos microrganismos em diferentes ramos da terapêutica antimicrobiana [1].

Os antimicrobianos são fármacos usados na prevenção e tratamento de infecções bacterianas. No entanto, existem bactérias, causadoras de infecção, que se tornaram resistentes aos antibióticos diminuindo as linhas de tratamento. Estas resistências estão associadas a prescrições incorretas e ao uso inadequado destes fármacos em humanos e animais, ao não cumprimento da posologia por parte do doente ou, ainda, à automedicação, levando ao aumento do tempo de internamento hospitalar, da mortalidade por infecções graves e dos custos inerentes à saúde [2].

Um dos exemplos mais problemáticos é o da resistência aos carbapenemes. Trata-se de antibióticos cuja utilização transmitia um grau de confiança significativo quanto ao tratamento adequado dos focos e tipos de infecção para os quais estavam recomendados. Atualmente, devido ao aparecimento de vários mecanismos de resistência por parte das bactérias, têm-se verificado um aumento gradual, nos testes de sensibilidade a estes antibióticos, de resultados que apresentam resistência para vários microrganismos, destacando-se em Portugal *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter 1886) Trevisan 1887 (Enterobacteriaceae) [3,30]. Esta problemática tem levado à procura de outras opções terapêuticas, incluindo o resgate de antigos antimicrobianos, praticamente abandonados da prática clínica, e à investigação de novos fármacos com um espectro de ação cada vez mais amplo [1]. Tem-se verificado, no entanto, que esta busca segue a um ritmo muito mais lento

que o da aquisição de resistências por parte das bactérias [3]. De entre os principais responsáveis pela veiculação da resistência a carbapenemes, encontram-se várias estirpes de *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900 (Pseudomonadaceae) e a família Enterobacteriaceae [1], debruçando-se o presente estudo sobre as últimas.

As Enterobacteriaceae são uma família de bacilos gram-negativos comensais do trato gastrointestinal (TGI) [4]. Estas bactérias estão associadas a infeções graves como sépsis, pneumonia, infeções do trato urinário (ITU), peritonite ou infeções relacionadas com dispositivos médicos, entre outras [5]. Esta família desenvolveu a capacidade de produzir beta-lactamases de espectro alargado (ESBL) sobre as quais as penicilinas e cefalosporinas não demonstram eficácia.

Os carbapenemes tornaram-se o tratamento empírico de eleição de último recurso para fazer face às infeções provocadas por bactérias produtoras de ESLB. Isto culminou na emergência de CRE com capacidade de sobreviverem a concentrações elevadas de carbapenemes e/ou capazes de produzirem carbapenemases [6,7]. Os mecanismos de resistência são diversos, com rápida capacidade de disseminação e podem provocar infeções que estão associadas a elevadas taxas de mortalidade e morbilidade, para as quais as opções terapêuticas são escassas [8]. As CRE estão associadas a cuidados de saúde onde a conjugação de vários fatores aumenta o risco de aquisição, tais como um consumo inadequado de antibióticos, o não cumprimento de medidas de controlo de infeção (higiene das mãos e medidas de isolamento), a gravidade e complexidade dos casos de pacientes com doenças crónicas, os internamentos prolongados e uma maior utilização de dispositivos invasivos (e.g., cateter venoso central e sonda vesical) [9,10]. No entanto, tem-se verificado também um aumento das infeções e colonizações ao nível da comunidade em geral, devido aos seus

mecanismos de resistência, disseminação (i.e., transferência horizontal dos genes) e transmissão (e.g., interpessoal, através das mãos, superfícies, alimentos e água contaminadas) [7].

O estudo dos mecanismos de resistência e transmissão, a epidemiologia, os rastreios para identificação de doentes colonizados ou infetados, e os fatores de risco das CRE ganham particular importância de forma à adoção de medidas preventivas eficazes de controlo da infeção, bem como à seleção das abordagens terapêuticas mais adequadas, com vista à diminuição da transmissão e disseminação das CRE [11,12]. De forma a minimizar esta problemática, existe em Portugal um sistema nacional de vigilância, um laboratório nacional de referência e um plano nacional para a sua contenção, sendo obrigatória a sua notificação às autoridades de saúde [3].

O objetivo geral deste trabalho é uma quantificação da ocorrência de infeções por CRE no Hospital do Divino Espírito Santo (Ponta Delgada, Açores). Mais especificamente, pretende-se: i) analisar a tendência de evolução recente, ii) identificar os serviços hospitalares com maior número de casos; iii) analisar os perfis tipo dos pacientes (e.g. idade, sexo, outras patologias, estado geral de saúde) no que respeita à ocorrência e à recuperação da infeção; iv) identificar os antibióticos mais utilizados no tratamento; e v) verificar quais os carbapenemes que apresentam maior número de casos de resistência.

1.2 ENTEROBACTERIÁCEAS RESISTENTES AOS CARBAPENEMES

As enterobacteriáceas são uma família de bacilos gram-negativos que fazem parte da flora intestinal (comensais) e estão sobretudo implicadas em infeções urinárias, intra-abdominais ou em bacteremias. São exemplos *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani & Chalmers 1919, e os géneros *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*,

Morganella e *Providencia* [4]. Tendo como referência o *Centers for Disease Control and Prevention*, CRE são bactérias da família Enterobacteriaceae produtoras de uma carbapenemase ou que são resistentes a pelo menos um carbapeneme no Teste de Suscetibilidade aos Antibacterianos (TSA) [12]. Sempre que algum microrganismo apresente resistência intrínseca a algum carbapeneme é necessário testar a sua suscetibilidade a outros carbapenemes, de forma a determinar se cumprem ou não os critérios da definição de CRE. As enterobacteriáceas dos géneros *Proteus*, *Morganella*, e *Providencia*, são exemplos de bactérias com resistência intrínseca ao imipenem [13].

Para além da resistência intrínseca associada a algumas bactérias, verificou-se o aparecimento de mecanismos de resistência por parte dos mesmos e/ou de outros géneros bacterianos. Alguns mecanismos dependem de enzimas, as carbapenemases, que possuem potencial de hidrolisar a maioria dos antibióticos beta-lactâmicos, incluindo os carbapenemes [17]. Outros mecanismos identificados devem-se a mutações que levam a alterações morfológicas nas membranas dos microrganismos [26].

1.2.1 Colonização versus Infeção

A incidência de colonização e infeção por CRE nas unidades de saúde portuguesas tem vindo a aumentar. Esta situação preocupa os profissionais e as estruturas responsáveis pela prevenção associada aos cuidados de saúde e pelas resistências aos antimicrobianos [18].

Considera-se colonização a presença de microrganismos na pele, membranas mucosas, feridas, secreções ou excreções, mas que não provoca sinais clínicos ou sintomas adversos [19]. Todavia, a presença de CRE aumenta o risco de transmissão a outros doentes, que podem vir a desenvolver infeção [4,13,17].

As CRE podem ser invasivas, provocando sinais e sintomas de doença, originando infecções como pneumonia, ITU, bacteriemia e infecções da pele, tecidos moles e abscessos intra-abdominais [13,19,21]. No entanto, o indivíduo pode manter-se colonizado durante um longo período, havendo estudos que concluem que o tempo de colonização depende da exposição à antibioterapia, da duração do internamento e do uso continuado de cateteres [22]. Desta forma, a prevenção, identificação e eliminação da colonização por CRE é muito importante para a prevenção e diminuição da mortalidade e morbidade associada a estas infecções [21].

Estima-se que 10 a 30% dos doentes colonizados possam vir a desenvolver uma infeção por CRE. O tipo de microrganismo e a doença de base do paciente podem potenciar o desenvolvimento de infeção, verificando-se com maior frequência em doentes imunodeprimidos, sujeitos a quimioterapia, transplantes ou nos portadores de uma doença que comprometa o sistema imune [23].

Assim, as medidas de prevenção deverão ser aplicadas a indivíduos colonizados (e.g., identificados através de rastreios retais) e infetados, sendo o diagnóstico de infeção e a decisão de início de antibioterapia definido por um conjunto de critérios clínicos após isolamento laboratorial do microrganismo [22].

1.2.2 Carbapenemes

Nos últimos 60 anos utilizou-se a penicilina para o tratamento de infeções graves devido à sua eficácia, segurança e perfis de tolerância. No entanto, o seu uso excessivo originou resistências bacterianas, principalmente por meio das enzimas β -lactamases, levando a comunidade científica a procurar inibidores dessas enzimas. Em 1976 descobriram-se os primeiros inibidores gerados a partir de bactérias Gram-positivas, os chamados ácidos

olivânicos. No entanto, devido à sua fraca estabilidade e baixa capacidade de penetração nas células bacterianas, perdeu-se o interesse neste produto natural. Posteriormente, surgiram os inibidores, o ácido clavulânico e a tienamicina, sendo o segundo o primeiro carbapeneme a ser produzido e considerado como o composto principal para a produção de outros carbapenemes [14].

A estrutura dos carbapenemes é semelhante à estrutura da penicilina. Possuem uma cadeia pentacíclica não-saturada ligada a um átomo de carbono, que caracteriza o anel carbapenema, ligada ao anel β -lactâmico. As diferenças em relação à penicilina consistem na ligação dupla C2-C3 e no facto de haver um carbono em vez de enxofre em C1. Este carbono é importante na obtenção de um largo espectro de ação e na estabilidade contra β -lactamases [14, 15].

Os antibióticos beta-lactâmicos imipenem, meropenem e ertapenem (o doripenem não é comercializado em Portugal) são carbapenemes que apresentam um espectro de atividade muito amplo. São eficazes para a maioria das ESBL e são ativos contra gram-positivos, gram-negativos e anaeróbios [16]. São sobretudo utilizados no tratamento de infeções graves, provocadas por bactérias multirresistentes, após falência dos antibióticos previamente administrados [4].

1.2.3 Opções terapêuticas para as CRE

A resistência bacteriana aos carbapenemes vem frequentemente acompanhada de resistências a outros grupos de antibióticos, como pode ser verificado na Tabela I. A decisão da terapêutica mais adequada carece de bom senso e da aplicação de critérios clínicos, de forma a reservar os fármacos de espectro mais alargado (potenciadores de resistências), estando o seu uso recomendado na ausência de alternativas [24].

Recentemente tem-se recorrido à combinação antimicrobiana ceftazidima-avibactam. A primeira componente, a ceftazidima, é uma cefalosporina de terceira geração que possui uma ampla cobertura sobre as ESBL. A segunda componente, o avibactam, é um novo inibidor das β -lactamases que adiciona um fator de proteção dado que inativa as enzimas que possam degradar a ceftazidima, conferindo-lhe um perfil de cobertura ESBL mais amplo, com atividade contra as carbapenemases. Os antibióticos gentamicina, ampicacina, colistina, tigeciclina e fosfomicina, também têm sido utilizados de forma combinada, potenciando o seu efeito terapêutico [25].

Tabela I – Antibióticos usualmente testados nos CRE e respectivas concentrações mínimas inibitórias (MIC), seguindo as diretrizes de EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Antibióticos testados nos CRE	MIC indicando resistência (mg/L)
Ceftazidima	>4
Cefepime	>4
Aztreonam	>4
Piperacilina-tazobactam	>16
Ceftazidime-avibactam	>8
Imipenem	>4
Meropenem	>8
Ertapenem	>0.5
Amicacina	>8
Gentamicina	>2
Ciprofloxacina	>0.5
Trimethoprim-sulphamethoxazole	>4
Fosfomicina	>32
Tigeciclina	>2
Colistina	>2

1.2.4 Mecanismos de resistência

Existem três mecanismos pelos quais as Enterobactereaceae adquirem resistência aos carbapenemes, podendo depender de carbapenemases, enzimas que hidrolisam os antibióticos carbapenemes e outros antibióticos β -lactâmicos (β -lactamases), ou de outros mecanismos [3].

1.2.4.1 Degradação enzimática através da produção de carbapenemases

Segundo o sistema de classificação de Ambler, as β -lactamases estão agrupadas em quatro classes (A, B, C e D), baseando-se no domínio catalítico central e preferencial dos substratos, distribuindo-se as carbapenemases pelas classes A, B e D que são codificadas principalmente em plasmídeos e altamente transmissíveis [25,27]. As enzimas da classe C hidrolisam principalmente as cefalosporinas [27]. As enzimas das classes A, C e D possuem serina no centro catalítico ativo, enquanto as enzimas da classe B são metalo β -lactamases (MBLs) com zinco no centro ativo [25-28].

Na classe A apresentam maior expressão [26]: KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), SME (*Serratia marcescens* Enzyme) e IMI - / - NMC-A (Imipenemase / - non - metalocarbapenemase - A). Na ampla família Enterobacteriaceae, o caso mais paradigmático de resistência pertence a *K. pneumoniae*, estando as infecções provocadas por estes microrganismos maioritariamente associadas aos cuidados de saúde [3].

Com maior relevância na classe B encontram-se: NDM-1 (*New Delhi Metallo- β -lactamase-1*), VIM (*Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase*) e IMP (Imipenemase) [28,27,30].

Por sua vez, na classe C encontram-se AmpC e CTX-M, enzimas β -lactâmicas que não são consideradas como carbapenemases. No entanto, apesar das suas atividades hidrolíticas

serem muito fracas ou até mesmo inexistentes contra os antibióticos carbapenémicos, em casos de alterações de permeabilidade, podem ganhar relevância. Tal ocorre particularmente em muitas enterobactérias, como nos géneros *Enterobacter*, *Proteus* e *Providencia*, nas espécies *Serratia marcescens* Bizio 1823, *Morganella morganii* (Winslow et al. 1919) Fulton 1943, e *Hafnia alvei* Møller 1954, bem como na família Peudomonadaceae (*P. aeruginosa*) [27].

Na classe D apresenta maior relevância OXA-48 (oxacilinase-48) da família das oxacilinases [25,26,27,28].

Na Tabela II listam-se as variantes das carbapenemases expressas com maior frequência e base do mecanismo de ação, associadas à classificação de Ambler.

Tabela II – Variantes das carbapenemases expressas com maior frequência e base do mecanismo de ação, associadas à classificação de Ambler.

Classificação de Ambler	Acrónimo	Base do mecanismo de hidrólise	Variantes mais comuns
A	KPC	Serina	KPC-2 / KPC-3
B	NDM	Zinco	NDM-1
B	IMP	Zinco	IMP-1
B	VIM	Zinco	VIM-1 / VIM-2
D	OXA	Serina	OXA-48

1.2.4.2 Aumento da expressão de bombas de efluxo

Embora a degradação enzimática do antibiótico por carbapenemases seja o mecanismo principal da não suscetibilidade a carbapenemes em Enterobacteriaceae, outros mecanismos, como bombas de efluxo, também podem desempenhar um papel importante.

A sobre expressão de bombas de efluxo pode contribuir para a diminuição da concentração de antibiótico na célula bacteriana [29]. Como referido anteriormente, a associação de um destes mecanismos à produção de uma β -lactamase não carbapenemase (AmpC ou ESBL) pode originar bactérias resistentes a carbapenemes [12,27].

A resistência será mais significativa quando o excesso de expressão ocorre nas bombas de efluxo que pertencem aos transportadores da família de resistência-nodulação-divisão (RND), bombas de efluxo bacteriano, especialmente identificadas em bactérias Gram-negativas localizadas na membrana citoplasmática, que transportam ativamente substratos, uma das quais, AcrAB-TolC, que se encontra em enterobacteriáceas. Este complexo abrange a membrana interna, o peri-plasma e a membrana externa, permitindo expulsar os antibióticos da célula. Pode também conferir resistência a outros antibióticos, tais como, antibióticos β -lactâmicos, macrolídeos, tetraciclina e fluoroquinolonas, entre outros. Ainda não se compreende totalmente de que forma a regulação positiva das bombas de efluxo poderá influenciar a epidemiologia global de CRE [26].

1.2.4.3 Diminuição da permeabilidade da membrana externa devido a mutações de porinas

As enterobactereáceas possuem uma membrana externa que constitui uma barreira à entrada de β -lactâmicos, impedindo a sua ligação às Proteínas de Ligação à Penicilina (PBPs) na membrana citoplasmática. Assim, estes antibióticos atravessam canais permeáveis da membrana externa, as porinas, alcançando as PBPs. Inibem-nas, impedindo a síntese da parede bacteriana [30]. Quando ocorrem mutações cromossómicas nos genes das porinas, da membrana externa da parede bacteriana, a permeabilidade aos antibióticos é reduzida, limitando a sua eficácia [31].

A ocorrência de mutações em porinas por si só não origina resistência aos carbapenemes. Em alguns casos, a combinação de uma elevada expressão de β -lactamases com uma diminuição da expressão de porinas pode levar à captura irreversível, sem degradação, do antibiótico pela enzima. Ainda não se conhece totalmente a contribuição das mutações nas porinas para a epidemiologia global de CRE. No entanto, um estudo revelou mutações de porina, *ompK35* e *ompK36*, respectivamente, em 84% e 34% de bactérias *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemes [26].

1.2.5 Epidemiologia

Os estudos epidemiológicos são cruciais para compreender a evolução e disseminação das bactérias multirresistentes, permitindo um maior controlo da problemática e apoio na seleção da terapia antimicrobiana [27].

A produção de β -lactamases é o mecanismo de resistência aos antibióticos β -lactâmicos, adquirido pelas bactérias, mais comum em todo o mundo. Contudo, nem todos os continentes são igualmente afetados. Embora a informação seja limitada para algumas regiões, verifica-se que os Bacilos Gram-negativos Não Fermentadores (BGN-NF), microrganismos aeróbios e incapazes de utilizar hidratos de carbono como fonte de energia através da fermentação, degradando-os pela via oxidativa, são os agentes patogénicos mais problemáticos, seguidos com menor proporção pelas CRE. Esta disseminação ocorre essencialmente através da transferência de plasmídeos entre bactérias e através de expansão clonal dentro dos serviços de saúde [14]. A abordagem epidemiológica terá foco nas CRE, visto ir de encontro ao tema deste trabalho.

Os Estados Unidos da América (EUA) e o Sul da Europa são as zonas com maior incidência de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenemes, dependendo do mecanismo de

produção de enzimas [32-34]. A KPC surge com maior incidência no sul da Europa, em particular na Grécia e em Itália [35-38]. A enzima OXA-48, que teve origem no Reino Unido e na Índia, ocorre sobretudo na Europa, nos países mediterrâneos e na Índia [32-35,39-42]. Esta enzima foi ainda a mais isolada entre as Enterobacteriaceae, em África [33], nomeadamente na Líbia [43]. A enzima CTX-M ocorre em todo o mundo, exceto na Antártida. Nos últimos anos, têm surgido cada vez mais casos de resistência aos carbapenemes por CTX-M nos países europeus e na Ásia [44-46]. A enzima NDM foi descoberta num doente com *K. pneumoniae*, na Suécia, que tinha recebido tratamentos médicos na Índia, país de origem da NDM e onde apresenta maior prevalência, sobretudo em Enterobacteriaceae [49]. No entanto, tem vindo a disseminar-se a outros países, como os EUA ou Singapura [34]. Existe ainda uma outra metalo β -lactamase – IMP – que surgiu no Japão, em *P. aeruginosa*, ocorrendo também na Grécia e em Taiwan [28]. As VIM surgiram em Itália e têm sido um problema no Sul da Europa, em particular na Grécia [32,48], tendo sido encontradas sobretudo em *K. pneumoniae* e em *P. aeruginosa* [43].

Num estudo prospetivo e multinacional apoiado pelo Centro Europeu para Prevenção e Controle de Doenças - Pesquisa Europeia multinacional sobre Enterobacteriaceae produtora de carbapenemase - verificou-se que 37% dos isolados de *K. pneumoniae* e 19% dos de *E. coli*, resistentes a carbapenems, possuíam um gene codificador para carbapenemases, sendo que 42% codificavam para KPC e 38% para OXA-48. Porém, também se verificou que 29,3% dos isolados de *K. pneumoniae* e 60,3% dos de *E. coli* possuíam outros mecanismos de resistência [27,49].

Dados norte-americanos indicam que aproximadamente 50% de todas as CRE são produtoras de carbapenemases. Um sistema de vigilância (*Surveillance Initiative*), tendo como

amostra pacientes de sete comunidades dos EUA, verificou que 47,9% de CRE isolados foram confirmados como enterobactereáceas produtoras de carbapenemases (todas KPC) [29]. Porém, nesse país foram também detetadas outras carbapenemases (NDM, VIM e OXA-48) [27,50]. Segundo o programa Canadano de Vigilância de Infecções Nosocomiais, as carbapenemases mais comuns eram do tipo KPC (66,9%) e NDM-1 (17,3%), verificando-se um aumento significativo de OXA-48 [27,51].

Estudos na América latina revelaram que praticamente todos os mecanismos de resistência se encontram disseminados. O primeiro caso de *K. pneumoniae* que expressou IMP-1 foi relatado no Brasil em 2005 [27,52]. Num hospital mexicano, em 2011, verificou-se um aumento significativo da ocorrência de resistência aos carbapenemes. As enzimas carbapenemase mais comumente encontradas foram a OXA, (i.e., OXA-23, OXA-58, OXA-72, OXA-143 e OXA-253). No entanto, as carbapenemases NDM-1, VIM-1, IMP-1 e IMP-10 também foram detetadas [27,53].

Em contraste com a América do Norte e a Europa, em vez da KPC, verifica-se que a NDM (originária e endêmica na Índia), a OXA-48 e outras MBL (IMP, VIM) têm sido as carbapenemases predominantes no Sudeste Asiático [27,54].

Em Portugal, à semelhança de outros países, existem resistências aos carbapenemes, no entanto, com menor dimensão. Segundo dados da *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e através do *Surveillance Atlas of Infectious Diseases*, onde são apresentados dados relativos ao isolamento de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenemes, em Portugal, numa recolha feita através dos laboratórios nacionais até 2018, verificou-se que a proporção de isolados de *E. coli* resistente foi inferior a 1%. Essa percentagem também foi verificada nos restantes países europeus, exceto na Grécia e na

Bulgária, que apresentaram uma proporção de isolados com resistência que rondavam os 5%. No caso de *K. pneumoniae*, a percentagem de bactérias isoladas, com resistência, em Portugal, tem vindo a aumentar, chegando em 2018 aos 11,7%. Este tipo de resistência atinge quase todas as faixas etárias compreendidas entre os 5 e os 64 anos.

A Grécia, Roménia e Itália apresentam percentagens de resistências, para esta bactéria, preocupantemente elevadas em comparação com os restantes países europeus estudados, como se pode verificar na figura 1.

Na distribuição global por países e regiões verifica-se que as ocorrências em Portugal estão associadas às enzimas KPC e VIM [28].

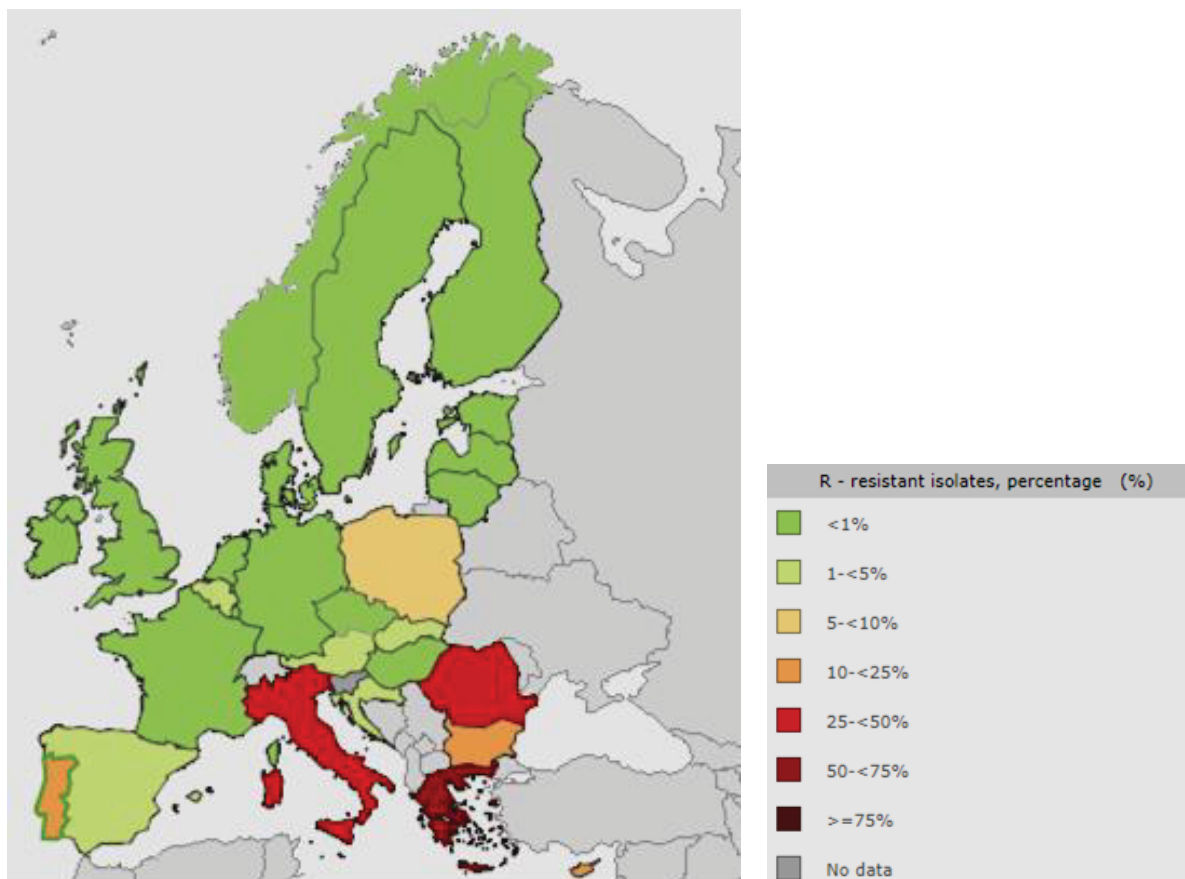


Figura 1 – Percentagem do número de isolamentos de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemes em alguns países europeus em 2018. Adaptado de [1].

1.3 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DAS CARBAPENEMASES

A identificação das carbapenemases responsáveis pelos processos de resistência revela-se bastante importante, visto garantir uma antibioterapia adequada desde a fase mais precoce da infeção por microrganismos multirresistentes e uma redução do tempo de exposição a antibioterapia de largo espectro [3,25].

Ainda não existe consenso sobre o método de deteção ideal para a identificação enzimática, devido à diversidade de mecanismos de resistência entre os diferentes tipos de carbapenemases. A conjugação de métodos fenotípicos com métodos moleculares, sempre que possível, pode facilitar e melhorar a deteção de estirpes produtoras de carbapenemases em comparação ao recurso a um único método [55].

1.3.1 Testes fenotípicos

Os testes fenotípicos permitem detetar a produção e atividade das carbapenemases. Existem várias alternativas disponíveis que podem ser implementadas nos laboratórios de microbiologia clínica, embora nenhuma delas cumpra todos os requisitos [56].

Teste de Hodge Modificado (MHT): Deteta a produção de carbapenemases clinicamente relevantes e com elevada sensibilidade para KPC [12]. Consiste em colocar uma suspensão de concentração conhecida (usualmente utiliza-se uma estirpe de *E. coli* multissensível), numa placa de agar, em contacto com um disco de carbapenem (meropenem, ertapenem ou imipenem). Em seguida, efetuam-se estrias da suspensão com as bactérias em estudo. A leitura dos resultados efetua-se observando/medindo a existência ou ausência dos halos de sensibilidade (Figura 2). O teste é considerado positivo quando se verificar distorção no halo de inibição, e negativo se não se observar distorção no halo [31]. Trata-se de um teste pouco dispendioso e com elevada sensibilidade e especificidade para enterobacteriáceas [57].

No entanto, é necessária cautela na interpretação dos resultados uma vez que apresenta uma elevada sensibilidade para KPC, o mesmo não se verificando para outras carbapenemases. Outras desvantagens deste teste prendem-se com a dificuldade e subjetividade da interpretação individual dos resultados, e com o tempo necessário para a sua leitura (24 horas) [31].

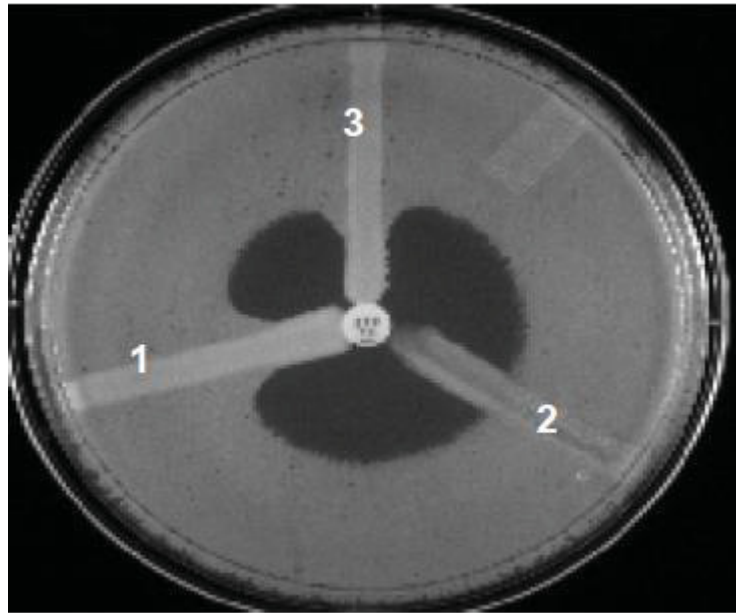


Figura 2 – Teste MHT para deteção de KPC em três estirpes de *K. pneumoniae*. [62]

Na figura 2 observa-se distorção no halo de inibição para as estirpes 1 e 3, indicando um resultado positivo para KPC. A estirpe 2 obteve um resultado negativo para KPC, uma vez que não se observou distorção no halo de inibição.

Teste RAPIDEC® CARBA NP: É um método colorimétrico rápido e fiável que deteta carbapenemases, sem que seja feita a sua distinção. A hidrólise do imipenem por extratos de amostras com bactérias produz ácido, o que leva à alteração da cor do meio, fazendo com que a solução de vermelho fenol passe de vermelho a amarelo, em duas horas (Figura 3) [58]. Mostrou, aproximadamente, uma sensibilidade de 84% e uma especificidade de 100% para

enterobacteriáceas. No entanto, é um teste mais dispendioso, o resultado é fruto de uma análise subjetiva, não detetando a OXA-48 [56].



Figura 3 – Teste RAPIDEC® CARBA NP positivo. [59]

Meio chromID® CARBA SMAR: Este teste proporciona a associação de dois meios seletivos para identificar carbopenemases, particularmente KPC, NDM-1 e OXA-48. Possui antibióticos que permitem um crescimento seletivo, juntamente com substratos cromogénicos específicos e peptonas, que levam a uma coloração específica para uma identificação clara (Figura 4) [59]. Os métodos que, como este, recorrem a placas são mais morosos, embora sejam menos dispendiosos.

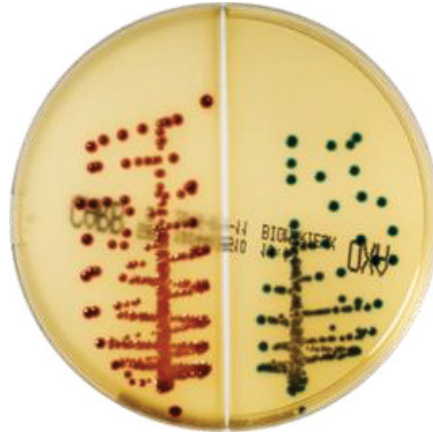


Figura 4 – Meio chromID® CARBA SMAR. Crescimento com coloração rosa no meio Carb, indicando a possibilidade de *E.coli* produtora de KPC. Crescimento com coloração verde indicando a possibilidade de *K. pneumoniae* produtora de OXA-48. [59]

1.2.2 Testes moleculares

Por último, os testes de biologia molecular obtêm bons resultados e detetam a presença de genes das carbapenemases específicos: A PCR multiplex ou simples e o *microarray* de ácido desoxirribonucleico são testes de biologia molecular que permitem obter bons resultados e detetam a presença dos genes específicos das carbapenemases.

O recurso a PCR em tempo real e a utilização de primers específicos para cada alvo das carbapenemases, possibilita uma identificação rápida (em menos de duas horas). Na tabela III podem-se observar alguns primers e sondas utilizados para a deteção das carbapenemases mais frequentes em Portugal.

Estes testes são de grande utilidade em situações de surto e de vigilância ativa, permitindo um diagnóstico precoce e a implementação atempada das medidas de isolamento de contacto, apresentando, no entanto, como principal desvantagem os custos elevados associados [59].

Tabela III – Primers e sondas utilizados para detecção dos genes das carbapenemases KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) e OXA-48 (Oxacillinase-48).

Alvo	Primers e sondas	Sequência (5`-3`)
KPC	KPC F	TGACAACAGGCATGACGG
	KPC R	GCGCATGAAGGCCGTC
	KPC sonda	Dabcyl-GCAATACAGTGAT-FAM (<i>6-Carboxifluoresceína</i>)
OXA-48	OXA-48 F	CGTAGTTGTGCTCTGGAATGA
	OXA-48 R	CATCCCACTTAAAGACTTGGTG
	OXA-48 sonda	Dabcyl-AATAGCTTGATC-ROX (<i>carboxi-X-rhodamina</i>)

No serviço de patologia clínica do HDES, quando são detetadas hemoculturas positivas, recorre-se ao sistema de PCR multiplex FilmArray™. Este sistema realiza a extração, amplificação e detecção num sistema fechado, minimizando assim eventuais contaminações. Permite a obtenção de resultados diagnósticos rápidos (aproximadamente uma hora), abrangentes e precisos para uma variedade de agentes patogénicos, associados às principais preocupações clínicas, bem como genes de resistência antimicrobiana, tais como CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA-48-like e VIM [59]. Sempre que são detetadas resistências, estas são reportadas aos clínicos, permitindo uma melhor gestão da terapêutica. A confirmação destes resultados é acompanhada por testes fenotípicos, sendo estas estirpes posteriormente reportadas e enviadas para o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge para fins estatísticos e estudos genéticos mais detalhados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONTEXTO HOSPITALAR

O Hospital do Divino Espírito Santo, em Ponta Delgada, a par do Hospital de Santo Espírito da Ilha Terceira e Hospital da Horta, integra a rede hospitalar da Região Autónoma dos Açores.

Segundo o Relatório e Contas de 2020 do HDES [60], nesse ano, foram realizadas 202 804 consultas médicas e ao nível do internamento foram registados 12 208 doentes saídos em 91 655 dias de internamento, com uma duração média de 7,5 dias, correspondendo a uma taxa de ocupação de 61,83% para uma lotação de 449 camas.

Ao nível do quadro de pessoal, segundo o mesmo documento, o HDES contava, no fim do mesmo ano, com 261 médicos, 518 enfermeiros e 895 colaboradores com outras funções.

2.2 RECOLHA DE INFORMAÇÃO HOSPITALAR

Foi efetuado um estudo observacional transversal, descritivo, de base hospitalar, com a análise dos processos clínicos de todos os pacientes diagnosticados com CRE (colonização e infeção) no Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Hospital do Divino Espírito Santo (HDES), entre março de 2017 e dezembro de 2020, tendo como referência a definição do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)[20]. Esta definição pressupõe que a bactéria isolada seja resistente a pelo menos um carbapeneme no TSA [12].

Os dados referentes aos doentes foram obtidos através do *software Clinidata*[®] e do programa hospitalar ERP (*Entreprise Resource Planning*). Consideraram-se Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS) quando diagnosticadas 48 horas após a admissão

hospitalar, ou antes das 48 horas se o doente teve alta do hospital nas 2 semanas anteriores ou se foi transferido de outra unidade hospitalar, não contando, no entanto, estes últimos para o estudo do controlo de infeção [22]. Além disso, foram também consideradas IACS os casos em que os doentes tinham sido submetidos a cirurgias no último ano [2].

Foram considerados CRE todos os microrganismos que apresentaram resultados resistentes ou intermédios a pelo são menos um carbapeneme no TSA.

Todos os diagnósticos efetuados no serviço de consulta externa de urologia e nefrologia são considerados IACS, no entanto, não são incluídos nos estudos do HDES visto não ser possível associar de forma direta estas infeções/colonizações a cuidados prestados neste Hospital, sendo, dessa forma, colocados num contexto de análise diferente.

Nos casos em que ocorreram vários episódios de identificação do mesmo microrganismo (com o mesmo padrão de resistência), cada doente foi incluído apenas uma vez, correspondendo sempre ao primeiro episódio de infeção por esta bactéria. Isolamentos da mesma bactéria com antibiogramas diferentes, identificação de bactérias diferentes no mesmo doente, assim como transições de colonizações para infeções, foram incluídos no estudo. Foi também recolhida informação relativa a idade e género, serviço hospitalar, produto biológico de isolamento, microrganismo isolado, origem da infeção, patologias associadas, antibióticos utilizados no tratamento, perfil de resistência aos carbapenemes (sensível, sensibilidade intermédia e resistente) e mortalidade associada.

Devido à Covid-19 e fruto do plano de contingência interno, a análise da distribuição da incidência de CRE pelos serviços hospitalares, a partir de março de 2020, será feita de forma independente. Os serviços de internamento e equipas de trabalho foram sujeitos a profundas alterações estruturais e funcionais.

2.3 DADOS MICROBIOLÓGICOS

As bactérias são isoladas de produtos biológicos (amostras respiratórias, urinas, exsudados vaginais, biópsias, cateteres vasculares cerebrais, líquidos ascíticos, líquido biliar, pus (abdômen e laringe), sangue e rastreios de exsudados retais e de feridas no Serviço de Patologia Clínica do HDES.

Efetua-se a identificação do microrganismo e o antibiograma através de um sistema automatizado baseado em microdiluições - Vitek2, BioMérieux, e as concentrações inibitórias mínimas são interpretadas de acordo com os valores de referência do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Paralelamente, recorre-se ao teste RAPIDEC® CARBA NP [59] de forma a confirmar a presença de bactérias produtoras de carbapenemases nas estirpes em estudo, assim como ao meio chromID® CARBA SMAR [11].

2.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

No tratamento estatístico foi utilizado o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 22. Para as variáveis qualitativas apresentou-se a frequência absoluta e a percentagem dos resultados, indicando a tendência ao longo dos anos de estudo e uma visão global dos dados.

3 RESULTADOS

3.1 ORIGEM DOS CASOS

Entre março de 2017 e dezembro de 2020 foram detetadas, na microbiologia do serviço de patologia do HDES, 80 doentes portadores de CRE.

Observou-se uma ligeira prevalência do género masculino com 43 doentes (53,8%), em comparação com os 37 doentes (46,3%) portadores de CRE do género feminino. A incidência de CRE por faixa etária apresentou uma distribuição não normal por enviesamento à direita, com uma média de 67,85 anos, uma mediana de 72 anos, variando entre 12 e 97 anos. A distribuição etária foi semelhante nos dois géneros. As infeções foram detetadas sobretudo entre os 65 e os 85 anos (Figura 5).

Não se rejeita a normalidade da variável idade para o género masculino (teste de Kolmogorov-Smirnov, $p=0,200$), mas rejeita-se para o género feminino (teste de Kolmogorov-Smirnov, $p=0,029$). Não se verificaram diferenças significativas para a distribuição da idade, entre os géneros (Mann-Whitney U = 932,0; $p=0,202$).

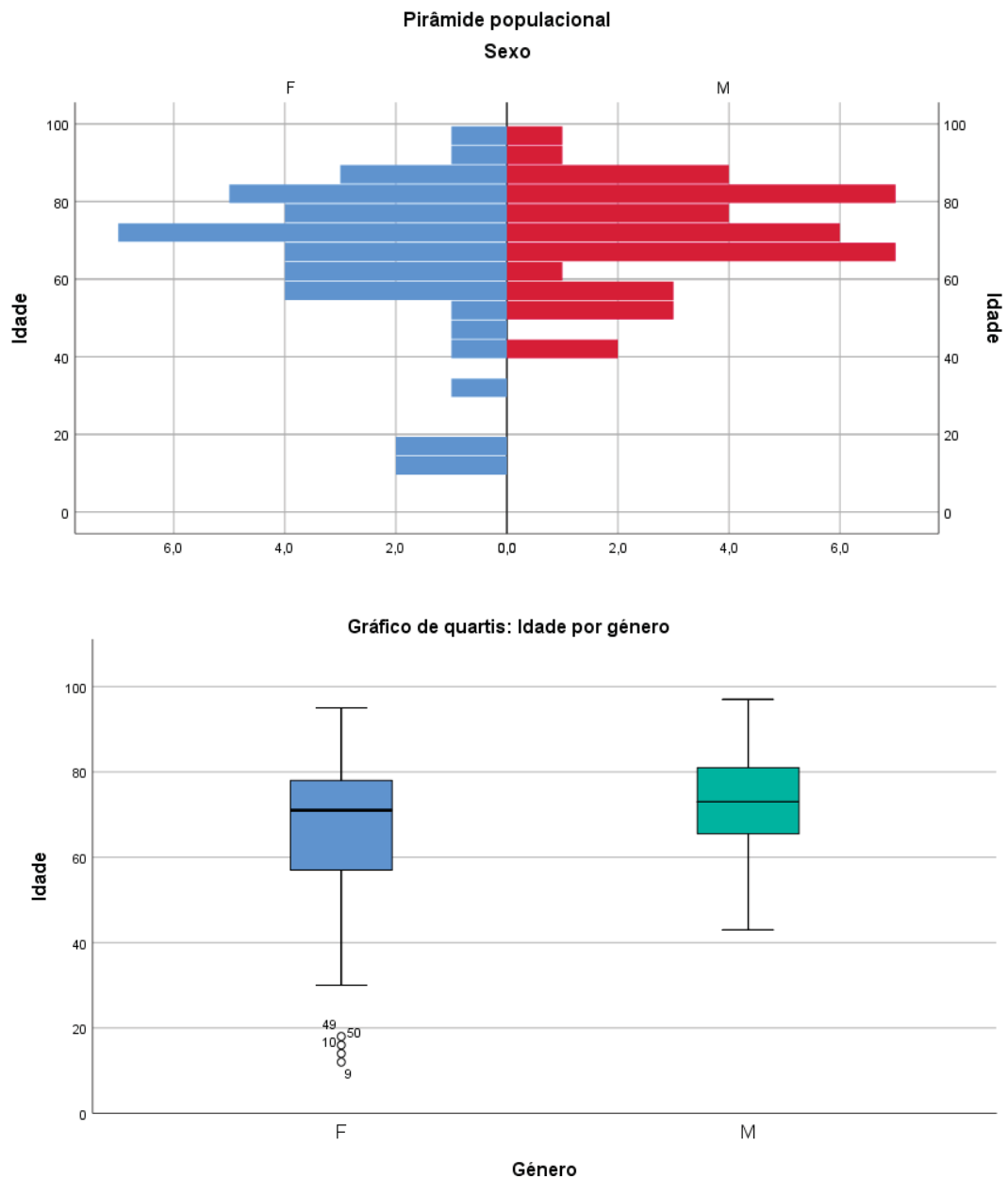


Figura 5 – Distribuição da idade e do gênero numa amostra de 80 pacientes diagnosticados com CRE entre 2017 e 2018, no HDES. Em cima: histogramas da idade por sexo; Em baixo: Gráfico de quartis da idade pelo gênero (F – Feminino, M – Masculino). Os círculos brancos correspondem a valores extremos.

As amostras provieram de vários departamentos, tais como consulta externa, hospital de dia, internamentos e urgência (Figuras 6 e 7), não tendo apresentado grandes oscilações, com um total anual de perto de 20 casos entre 2017 e 2020. Os serviços em que se

concentraram mais casos corresponderam à Cirurgia, Medicina, Serviço de Medicina Interna e Urgência, como se comprova também nas Figuras 6 e 7.

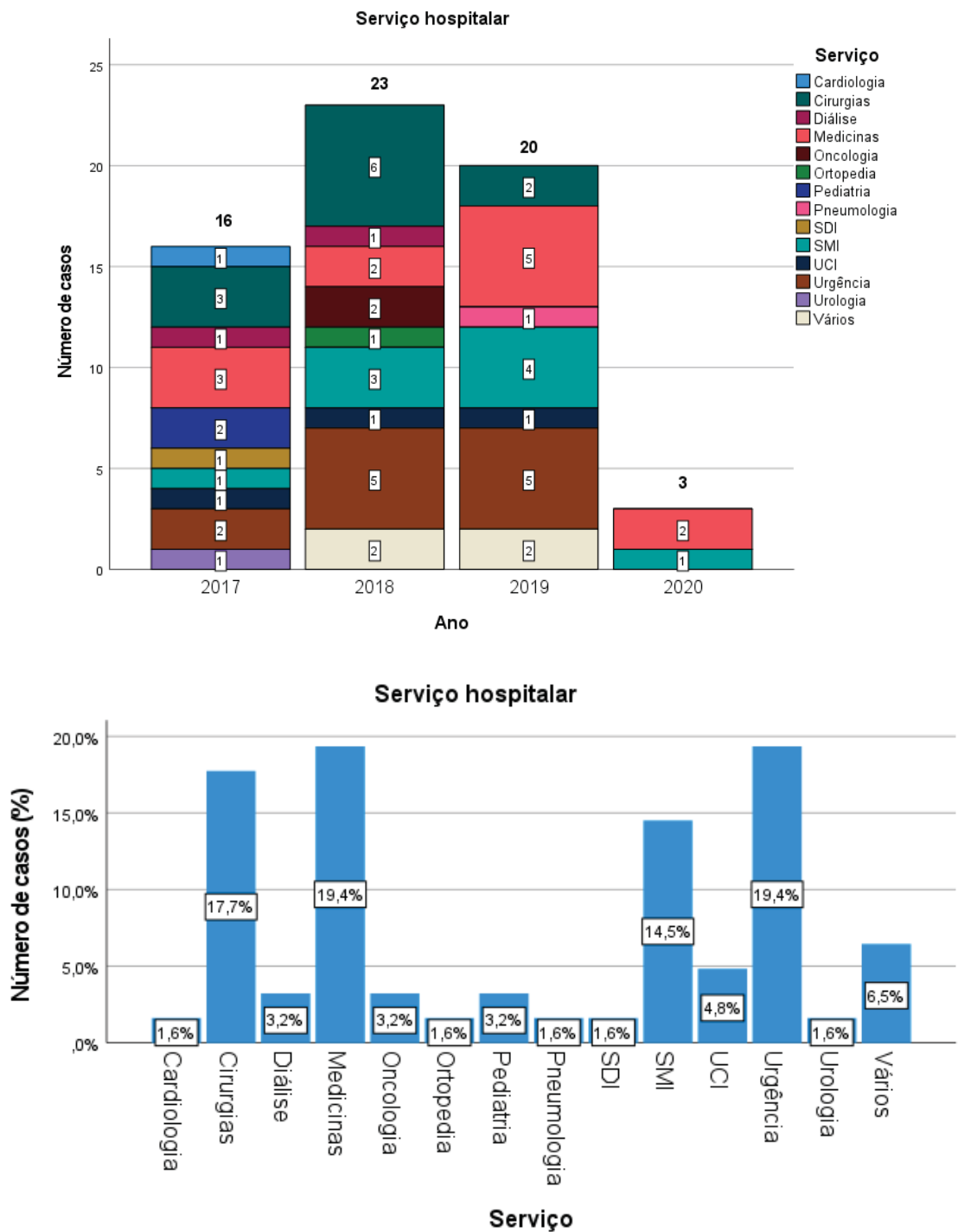


Figura 6 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 62 pacientes, em função do serviço hospitalar, entre março de 2017 e fevereiro de 2020 no HDES. Em cima: número de casos por serviço ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por serviço hospitalar.

Como referido anteriormente, os dados referentes ao período compreendido entre março de 2020 e dezembro de 2020 foram tratados separadamente, devido à Covid-19.

Verificou-se que a concentração de casos por serviço apresentou o mesmo padrão, exceto a Unidade de Cuidados Intensivos, tendo esta última apresentado maior destaque ao longo deste período (Figura 7).

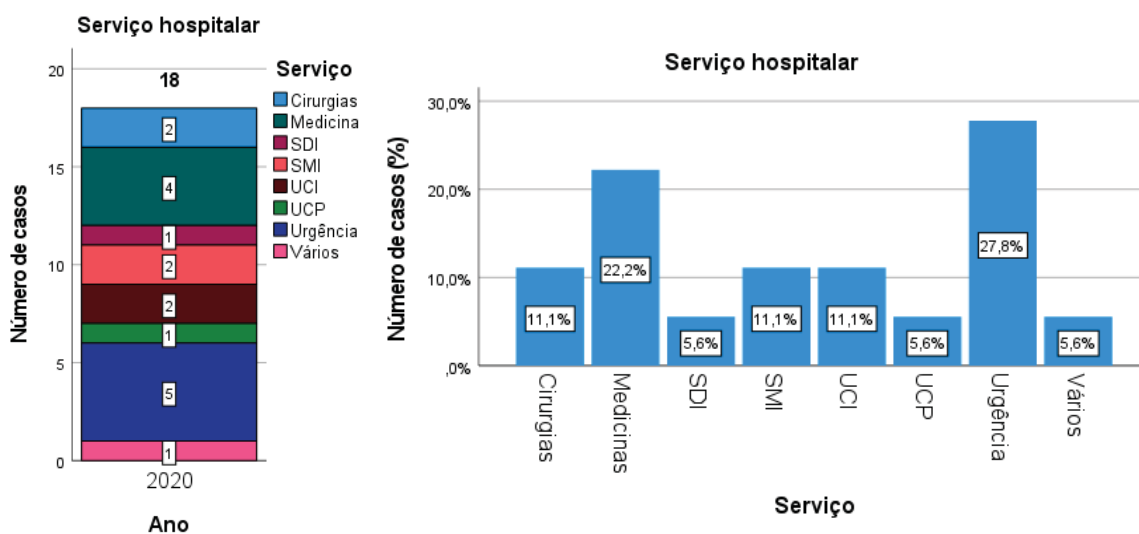


Figura 7 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 18 pacientes, em função do serviço hospitalar, entre março de 2020 e dezembro de 2020 no HDES. Esquerda: número de casos por serviço em 2020; Direita: percentagem de casos por serviço hospitalar.

3.2 MATERIAL BIOLÓGICO E TIPO DE INFEÇÃO

Foi notória a prevalência nos produtos urinários, 47 amostras, representando 59% dos casos, seguida dos produtos respiratórios, 13 amostras, representando 16% dos casos. Observaram-se 5 amostras de sangue e 5 amostras de pus abdominal positivas, representando cada uma 5% dos casos totais. A deteção de CRE nas restantes amostras foi menos frequente, representando, em conjunto, 15% das infeções (Figura 8).

ANÁLISE DAS INFEÇÕES POR MICRORGANISMOS RESISTENTES AOS
CARBAPENEMES NO HOSPITAL DO DIVINO ESPÍRITO SANTO

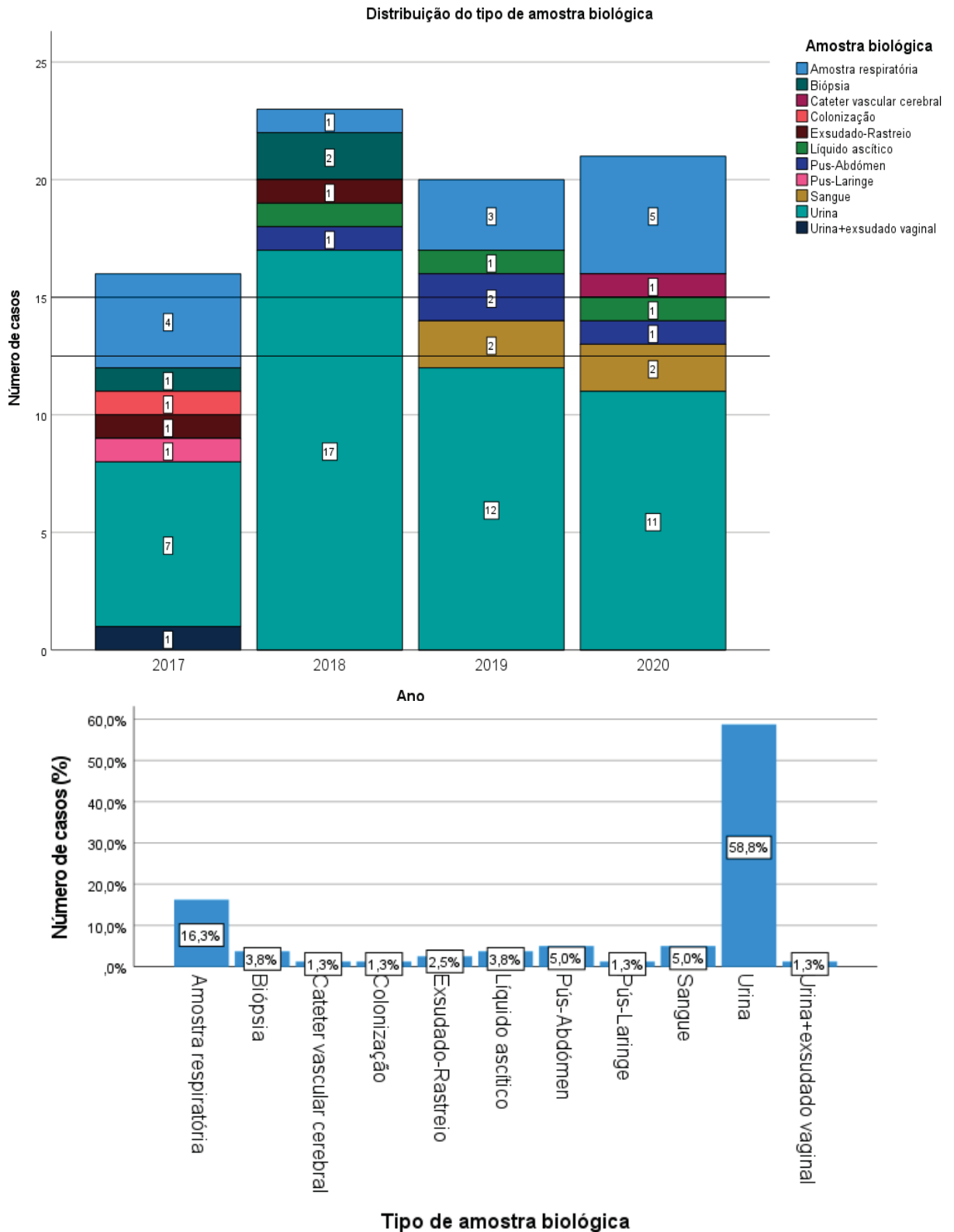


Figura 8 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes, em função do tipo de amostra biológica, entre março de 2017 e dezembro de 2020 no HDES. Em cima: número de casos por tipo de amostra ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por tipo de amostra.

Grande parte dos casos foram considerados colonização, não estando por isso associados a um tipo de infecção. Verificaram-se 27 infecções urinárias, representando 34% dos casos, 8 infecções respiratórias, representando 10% dos casos e 3 casos de sépsis, representando 3,75% dos casos. Cada um dos restantes tipos de infecção, apresentaram somente um episódio, representado 14% dos casos (Figura 9).

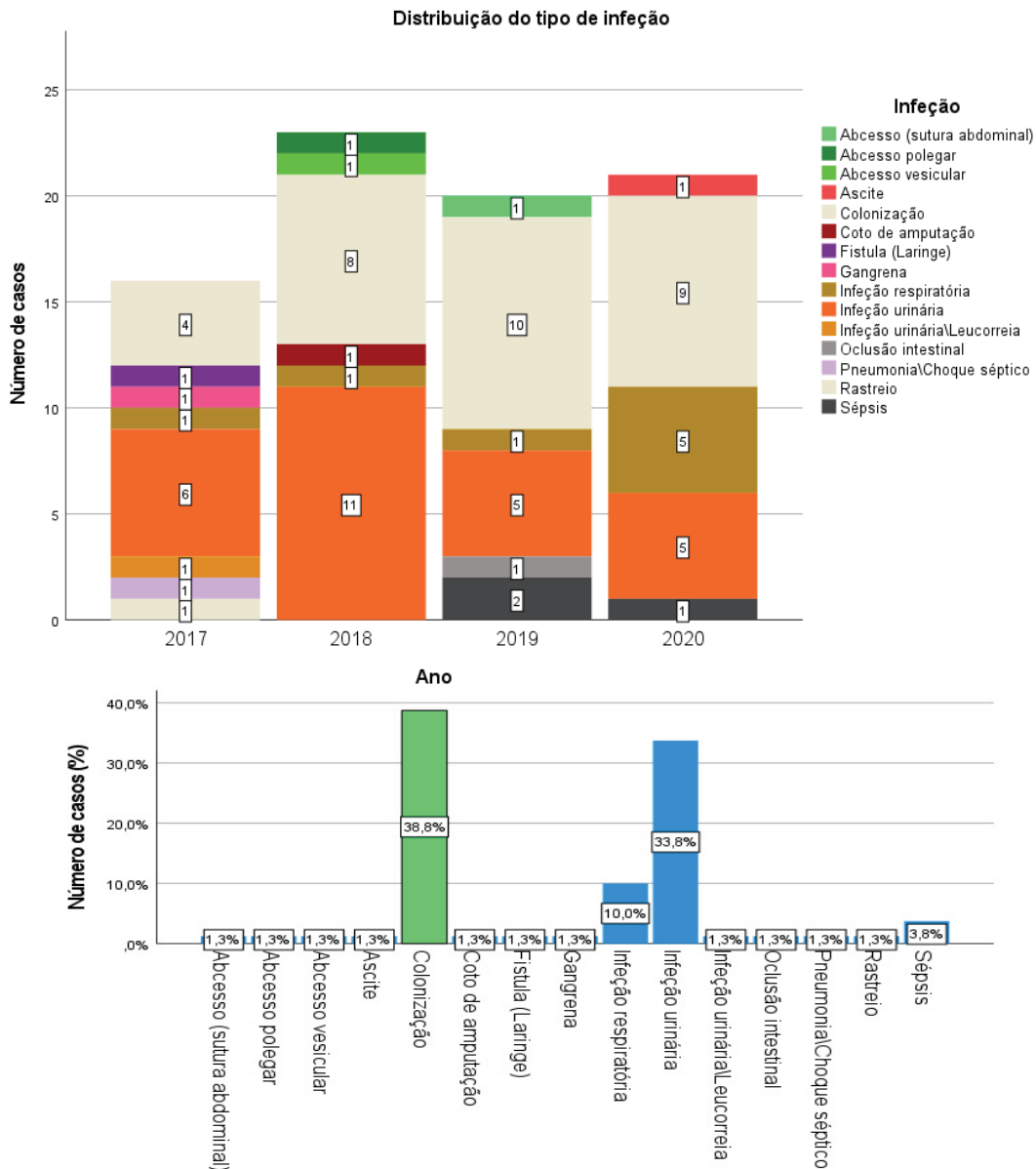
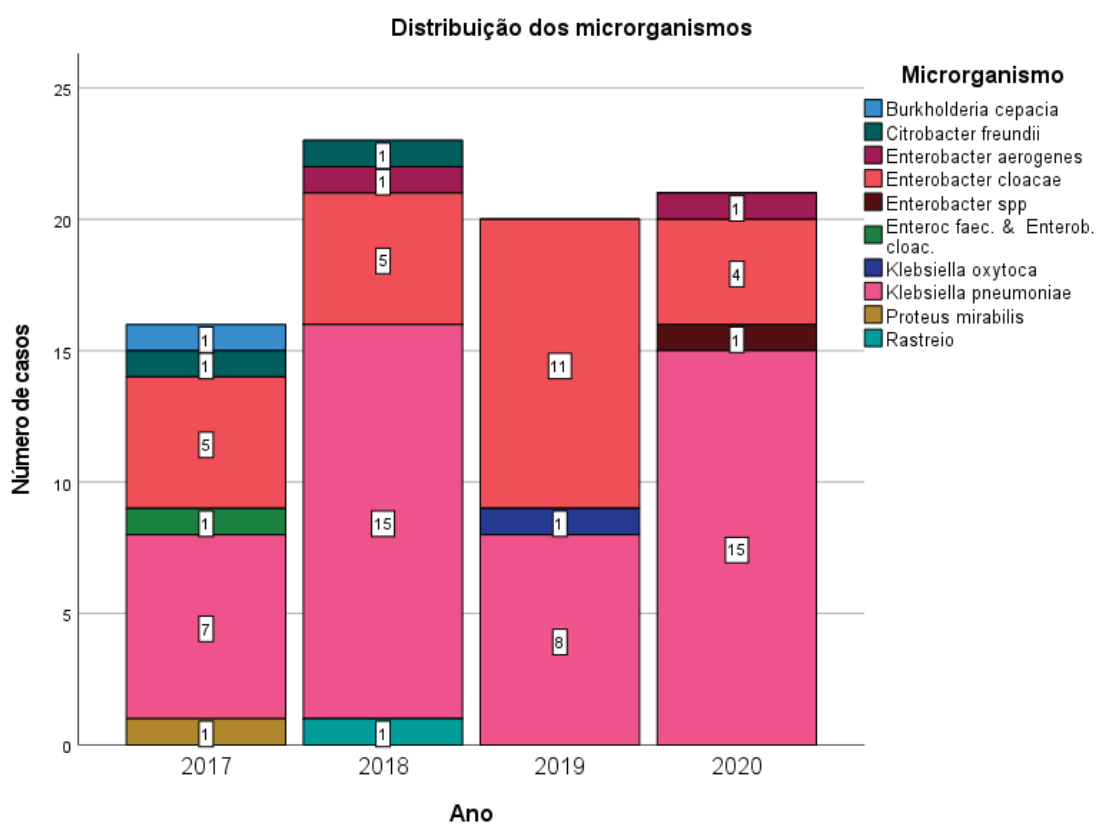


Figura 9 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o tipo de infecção, no HDES. Em cima: número de casos por tipo de infecção ou devido a colonização ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por tipo de infecção ou por colonização.

3.3 MICRORGANISMOS ISOLADOS

Durante o período do estudo, verificou-se uma prevalência da bactéria *Klebsiella pneumoniae*, 45 isolamentos, representando 56% dos casos, seguida pela bactéria *Enterobacter cloacae* (Jordan 1890) Hormaeche and Edwards 1960, 25 isolamentos, representando 31% dos casos tendo-se verificado alguma flutuação no tipo de infecção predominante ao longo dos anos (Figura 10). As restantes bactérias apresentaram uma frequência máxima de dois isolamentos representando, em conjunto, 13% dos casos.



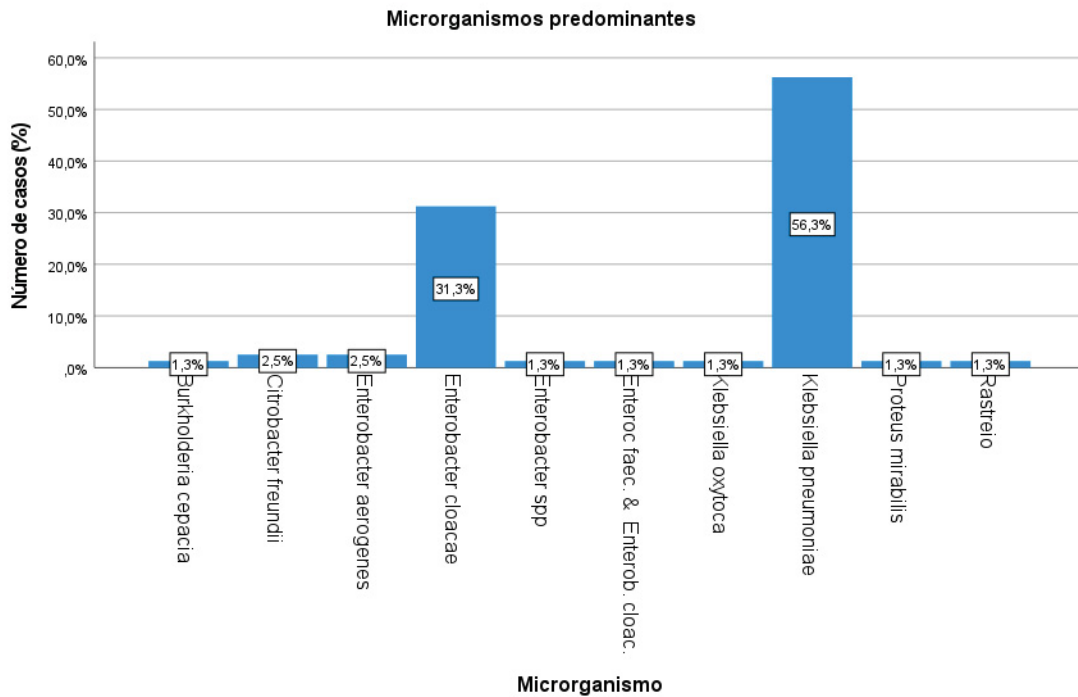


Figura 10 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre 2017 e 2018, de acordo com microrganismo isolado, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Em cima: número de casos por microrganismo ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por microrganismo.

3.4 ORIGEM DAS INFEÇÕES

Os casos estavam maioritariamente associados a colonizações. Verificaram-se 31 casos de colonização representando 38% dos pacientes. A origem das infeções estava essencialmente relacionada com a prestação de cuidados de saúde no HDES (30% dos casos) e também à sua contração ao nível da comunidade (28% dos casos). As restantes infeções estavam associadas a cuidados de saúde em quatro instituições hospitalares exteriores (Figura 11).

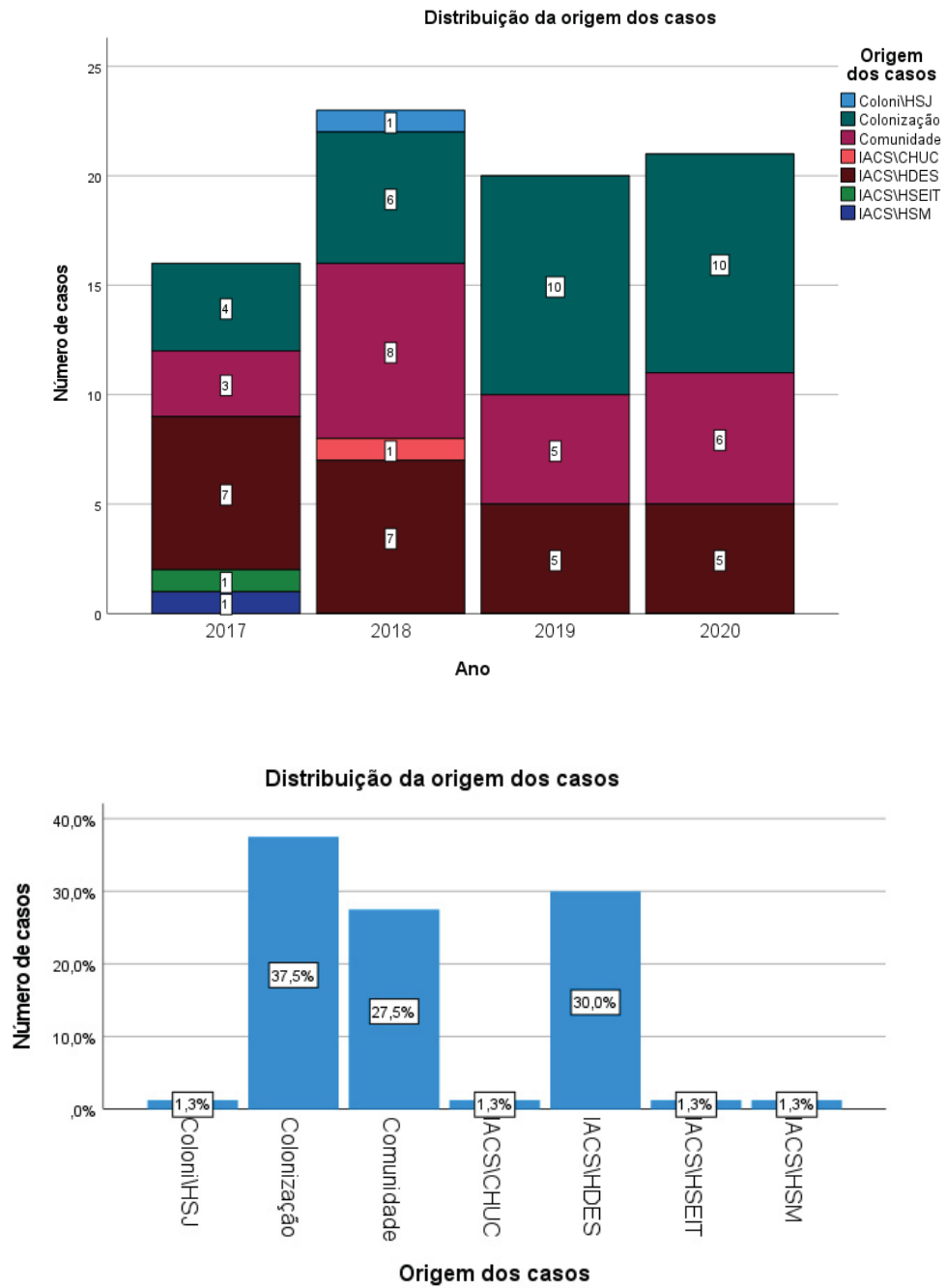


Figura 11 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a origem dos casos, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Em cima: número de casos por origem da infeção ao longo dos anos; em baixo: percentagem de casos por origem da infeção. Colonização associada ao Hospital de São José (Coloni\HSJ), Infeções associadas a cuidados de saúde (IACS) relacionadas com o Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), Hospital de Santo Espírito da Ilha Terceira (HSEIT), Hospital do Divino Espírito Santo (HDES) e Hospital de Santa Maria (HSM). As colonizações foram incluídas para evidenciar a sua relevância face ao número de infeções.

3.5 PATOLOGIAS ASSOCIADAS E MORTALIDADE

Verificou-se uma elevada frequência de pacientes com doenças crónicas (56% dos casos), seguindo-se os doentes oncológicos, os portadores de doença aguda, e os pacientes que sofreram acidentes que levaram à hospitalização (Figura 12). Deste modo, cerca de um terço dos pacientes apresentavam múltiplas patologias e um pouco menos de um quinto eram doentes oncológicos (Figura 13). No que diz respeito à mortalidade dos pacientes portadores de CRE, apenas se estabeleceu uma possível associação em 9 doentes (11%) (Figura 14).

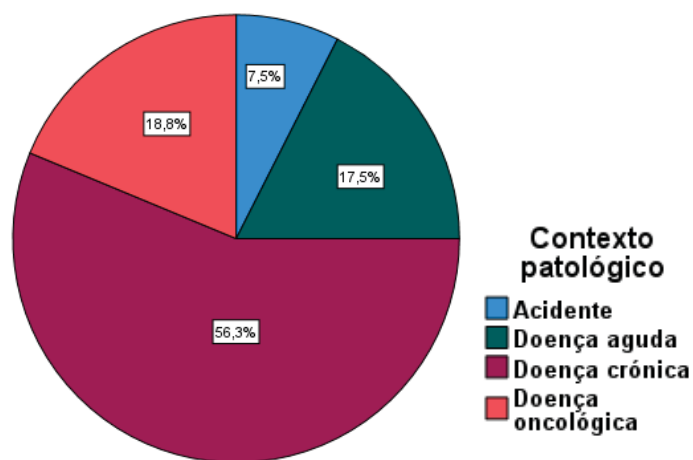


Figura 12 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o contexto patológico, no HDES em Ponta Delgada, Açores.

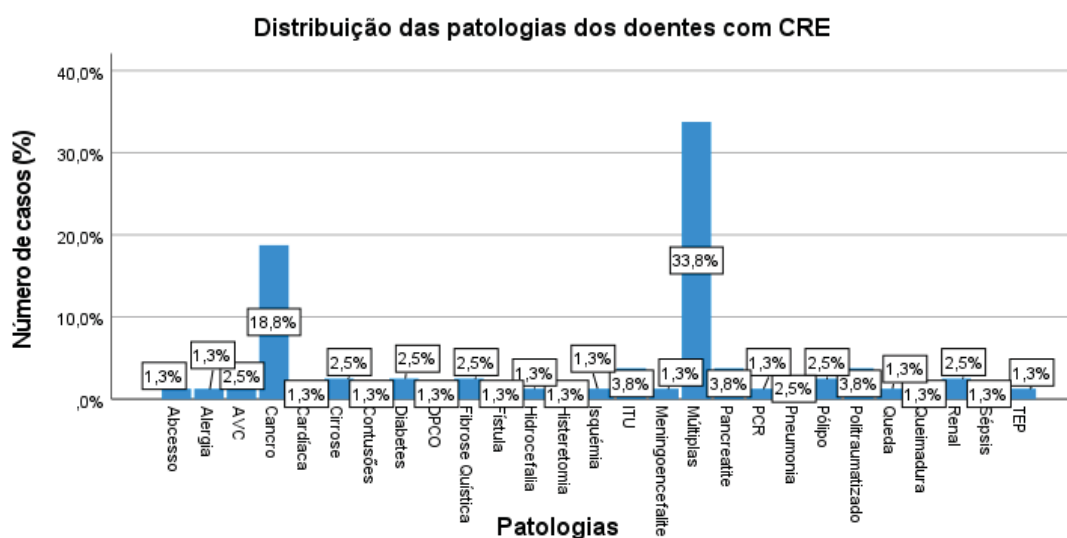


Figura 13 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com as respetivas patologias, no HDES em Ponta Delgada, Açores.

No que diz respeito à mortalidade (Figura 14) dos pacientes portadores de CRE, apenas se estabeleceu uma possível associação em 9 doentes (11%).

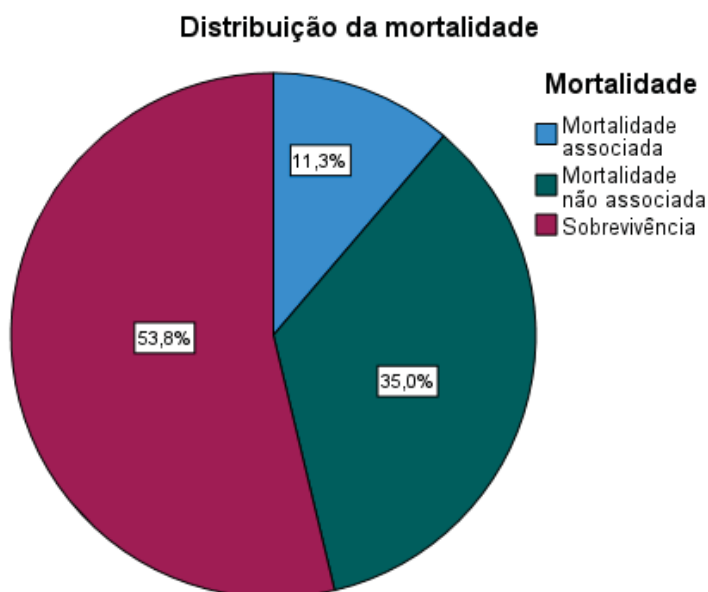


Figura 14 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com o desenlace, no HDES em Ponta Delgada, Açores.

3.6 ANTIBIOTERAPIA

Os pacientes considerados como colonizados (40%) não efetuaram antibioterapia. Em relação às infeções, a Ciprofloxacina e o Meropenem foram os mais utilizados, ambos com 10 aplicações. Em 5 doentes verificou-se que a bactéria foi resistente à terapêutica empírica (medicação administrada antes de se conhecer o microrganismo causador de infeção e a sua sensibilidade à antibioterapia), não havendo registo de outros antibióticos dirigidos. O Sulfametoxazol\Trimetropim foi utilizado em 5 doentes, a Colistina em 4 pacientes, a Fosfomicina em 3 doentes e o Ertapenem em 2 doentes. Cada um dos restantes antibióticos foi usado uma vez (Figura 15).

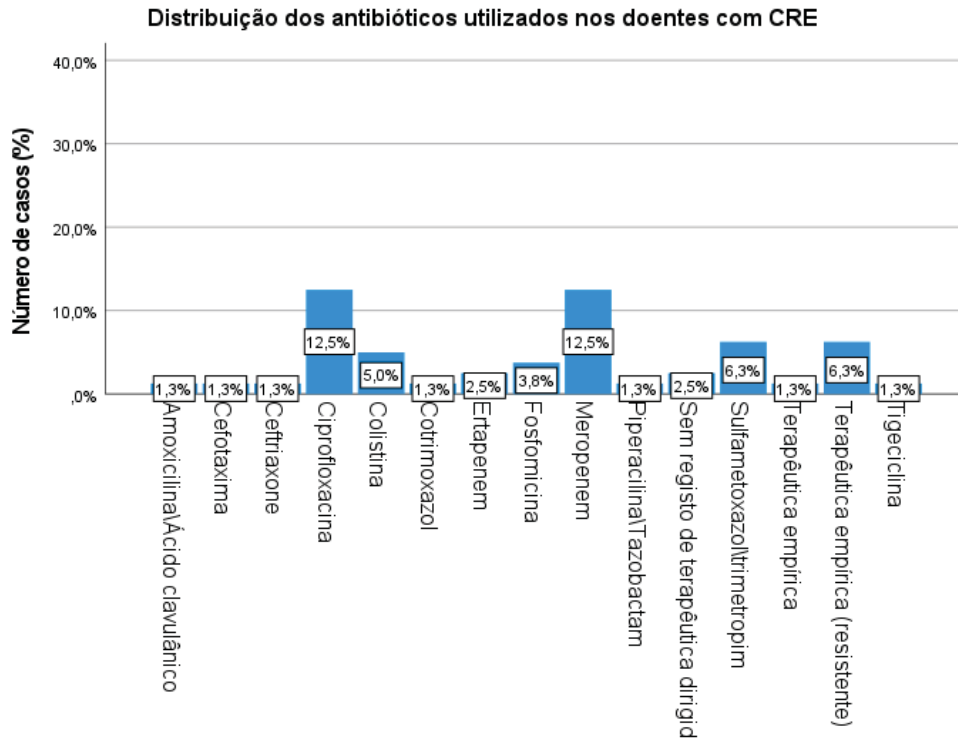


Figura 15 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo os antibióticos utilizados no tratamento, no HDES em Ponta Delgada, Açores.

3.7 RESISTÊNCIA AOS CARBAPENEMES

Considerando os critérios para a classificação de um caso como resistente, e que no HDES são testados o ertapenem, o imipenem e o meropenem, analisam-se seguidamente os casos de resistência. Verificou-se que a quase totalidade dos casos testados apresentava resistência ao ertapenem (Figura 16), revelando-se como antibiótico que apresentou mais casos de resistência. Apenas 2 doentes não foram testados, correspondendo a colonização, não tendo sido possível obter o resultado para um doente. No caso do imipenem, 24 doentes, 39% não apresentavam resultados. Em 2019 verificou-se um aumento de resultados que demonstraram sensibilidade ao antibiótico (14 em 20 doentes). Como se pode constatar na Figura 17, para o meropenem, verificou-se um número considerável de resultados resistentes e intermédios, somando cerca de 46%, embora com 50% dos casos mostrando sensibilidade ao antibiótico. Verificou-se alguma flutuação anual em ambos os valores (Figura 18).

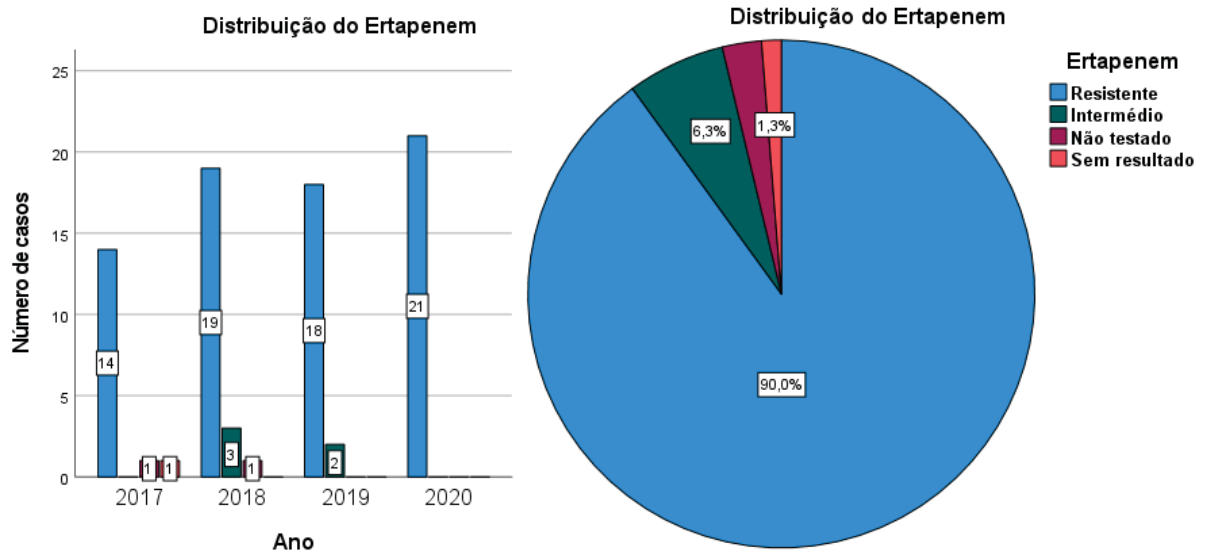


Figura 16 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico ertapenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios.

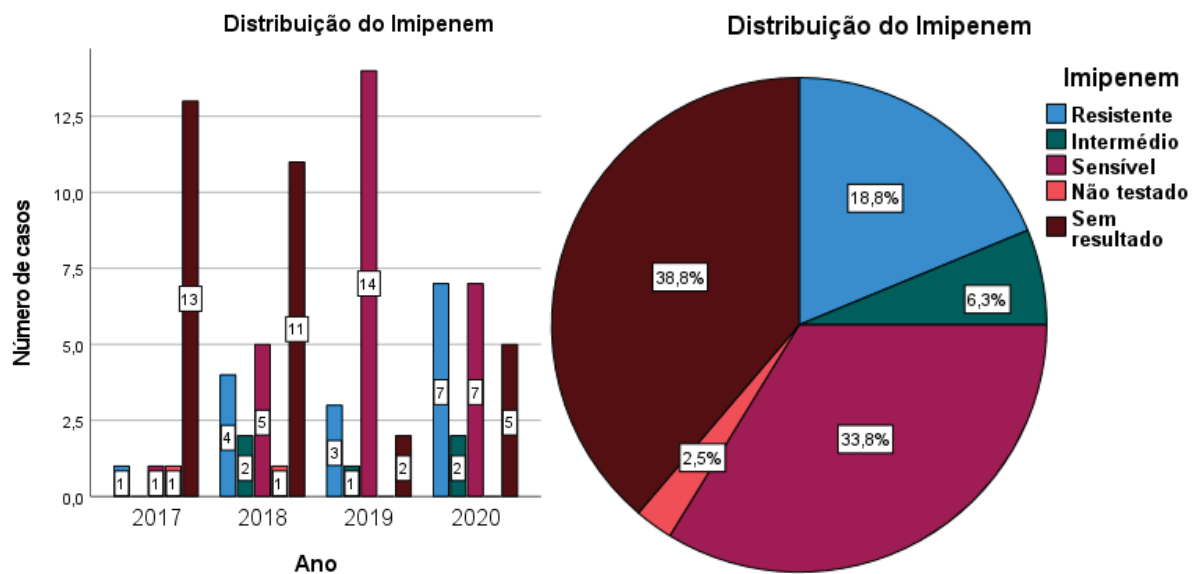


Figura 17 – Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico imipenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios.

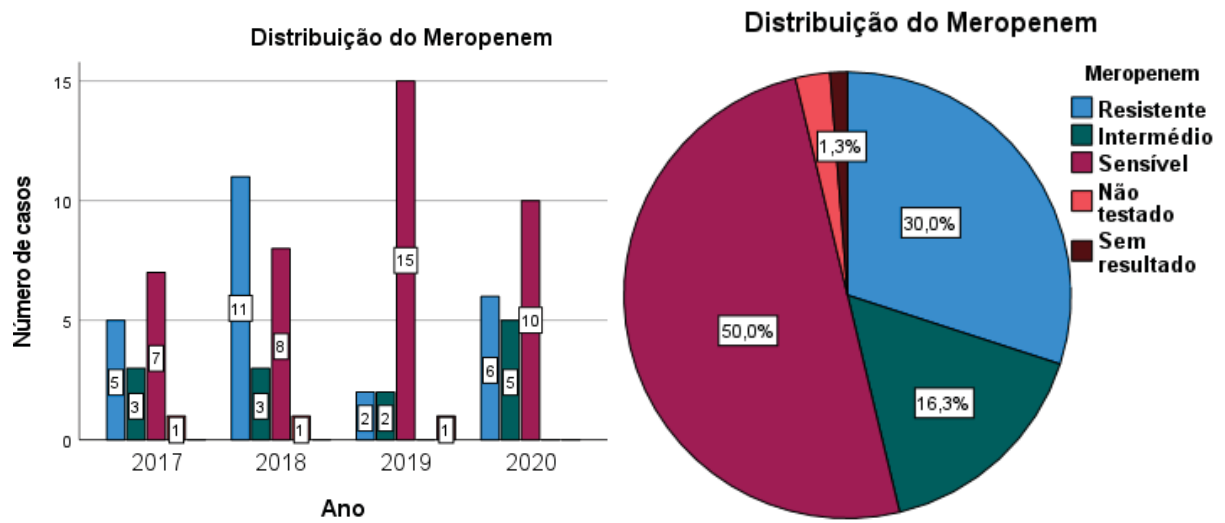


Figura 18 - Distribuição do número de casos de CRE diagnosticados em 80 pacientes entre março de 2017 e dezembro de 2020, de acordo com a sensibilidade/resistência ao antibiótico meropenem, no HDES em Ponta Delgada, Açores. Esquerda: número de casos com resistência ao longo dos anos; Direita: percentagem global de resistência, incluindo resultados intermédios.

4 DISCUSSÃO

Segundo dados da *European Centre for Disease Prevention and Control*, entidade responsável por recolha de informação referente a infeções por microrganismos e resistências a antimicrobianos na União Europeia, verifica-se que, em Portugal, a bactéria *K. pneumoniae* é a que apresenta maior prevalência de resistências aos carbapenemes. Exemplo disso pode ser consultado num estudo retrospectivo efetuado no Hospital de Cascais, publicado em 2020 [63], onde uma maior prevalência de resistências deste microrganismo a essa subclasse de antibiótico se verificou, tal como nos resultados obtidos no presente estudo, relativos ao HDES.

No presente estudo os casos de doentes com CRE apresentaram uma média de idades de 67,85 anos, com uma ligeira predominância (53,8%) do género masculino, tendência que foi igualmente verificada em estudos efetuados no Centro Hospitalar e Universitário do Porto, publicado em 2020 onde se verificou uma média de idades de 73 anos com 56,7% dos pacientes a pertencer ao género masculino [64] e na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (2013) onde se observou uma média de idades de 52 anos com 62,9% dos doentes a pertencer ao género masculino [65].

No que se refere ao contexto patológico, os resultados obtidos no nosso estudo evidenciaram que os casos eram maioritariamente portadores de doenças crónicas e de múltiplas patologias, assim como o predomínio de infeções associadas a cuidados de saúde e a uma predominância de casos nos serviços de cirurgia, medicinas e urgência. Deste modo, os resultados estão de acordo com os fatores de risco enunciados no plano de prevenção da transmissão de enterobacteriáceas resistentes aos carbapenemes em hospitais de cuidados agudos, da Direção Geral de Saúde: colonizações ou infeções prévias por CRE nos últimos 12

meses, internamentos ou institucionalizações prévias, assim como administração prévia de antibióticos, cirurgias ou procedimento invasivos, presença de feridas crónicas ou submissão a dispositivos invasivos, diálise e deficiente estado geral e/ou depressão imunológica. Resultados semelhantes foram também encontrados num estudo de 2020 efetuado na Universidade da Beira Interior [61].

O predomínio verificado nas infeções e colonizações por CRE nos doentes do HDES, em amostras urinárias, respiratórias, abdominais e sanguíneas, também se observou em estudos efetuados na Universidade de Lisboa (2019) [67] e na Universidade da Beira Interior (2020) [61], e que associam o uso de dispositivos médicos (CVC, cateteres urinários, algalias e tubos endotraqueais) a um possível aumento do risco de infeções e colonizações por bactérias multirresistentes [60].

Uma vez que, segundo normas da DGS, na admissão para internamento deve ser efetuada uma avaliação de risco para colonizado ou infetado, rastreados todos os doentes que preencham as condições impostas pelas referidas normas, assim como rastreados todos os contatos próximos de doentes internados diagnosticados com infeção ou portadores de microrganismos resistentes, esses procedimentos justificam o facto das colonizações se destacarem quando se tenta avaliar a origem das CRE [4].

No que se refere à mortalidade associada a este tipo de infeções, e como se pode verificar nos resultados deste estudo, é difícil correlacionar o aumento da mortalidade com as infeções por CRE, visto que estes pacientes, na sua maioria, são portadores de múltiplas patologias ou padecem de uma doença grave, facto anteriormente observado em vários estudos efetuados em Portugal [3,67] . Devido ao contexto epidemiológico em que estas infeções ocorrem, tendencialmente em doentes vulneráveis, com várias comorbilidades e/ou

internados em UCI, a relação entre a mortalidade e a resistência a carbapenemes não se revela clara e consensual.

A terapia utilizada no combate a infeções pode ser administrada de forma empírica e atualizada após os resultados microbiológicos, ou simplesmente dependente dos últimos.

Tendo em conta que os casos de multirresistência tornam a mais complexa a opção terapêutica, devido à diminuição do número de antibióticos disponíveis, à frequência de doentes portadores de várias infeções em simultâneo e dificuldade de preservação de antibióticos de largo espectro, torna-se pertinente compreender quais as opções terapêuticas que apresentaram maior disponibilidade para cobrir as infeções por CRE.

Num estudo recente, retrospectivo, efetuado na Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (2019) que incluía 31 pacientes portadores de CRE, [67], observou-se que os antibióticos para os quais as bactérias apresentavam maior sensibilidade eram a fosfomicina, a cefoxitina e a levofloxacina. A ciprofloxacina apresentava uma resistência microbiana de 41.9% e o meropenem de 35.5%. Em outro trabalho (2019) [68] efetuado pela mesma universidade, que envolvia quatro estudos com uma amostra total de 171 isolados, observou-se que para todos os antibióticos testados a ciprofloxacina foi o que apresentou maior sensibilidade bacteriana no teste de resistência aos antimicrobianos, com uma média de resistência inferior a 40% em todos os estudos, não tendo o meropenem sido incluído no estudo.

Após observação da distribuição dos antibióticos utilizado nos doentes do HDES com CRE, verificou-se que se recorreu mais frequentemente à ciprofloxacina e ao meropenem. A ciprofloxacina é uma quinolona de segunda geração que possui largo espectro de ação e grande biodisponibilidade oral. O recurso a este antibiótico é muito frequente em Portugal, justificando a sua regular utilização pelos clínicos do HDES [66]. A opção pelo meropenem,

antibiótico beta-lactâmico da subclasse dos carbapenemes, deve-se à sua eficiência no tratamento de infecções graves provocadas por bactérias multirresistentes, após falência dos antibióticos previamente administrados [66].

Como referido anteriormente, o meropenem, imipenem e ertapenem são os três principais representantes da classe dos carbapenemes. Apesar de o espectro de atuação ser muito semelhante entre os três, existem algumas diferenças.

O meropenem possui uma aplicabilidade discretamente maior na prática clínica, especialmente porque é mais seguro que o imipenem em pacientes com patologias neurológicas, e apresenta um espectro maior que o ertapenem. O seu uso está indicado para vários tipos de infecções e para microrganismos com resistências conhecidas a outros antibióticos e em casos de terapia empírica [71].

O imipenem tem espectro de ação quase idêntico ao meropenem e com indicações semelhantes, excetuando infecções do SNC [71].

O ertapenem, para além de não ter atividade contra *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* Bouvet and Grimont 1986 (Moraxellaceae) não ultrapassa a barreira hematoencefálica, manifestando-se ineficaz em infecções do sistema nervoso central, evitando, desta forma, a pressão seletiva de bactérias resistentes ao meropenem ou imipenem, e a preservação da flora bacteriana residente. Diferentemente dos outros dois pode ser utilizado intramuscularmente [71].

De acordo com dados da DGS, a percentagem de isolados invasivos resistentes em *K. pneumoniae* aumentou entre 2014 e 2017, sendo o aumento particularmente acentuado para os carbapenemes, onde se verificou um aumento de 79% [70].

Num estudo efetuado entre novembro de 2009 e junho de 2011 no Centro Hospitalar de Lisboa Norte [69] foram reportados 41 isolados resistentes produtores da carbapenemase

KPC-3. Os casos analisados apresentaram resultados resistentes\intermédios superiores a 90% para o meropenem e superiores a 60% para o imipenem, não tendo sido incluído o ertapenem no estudo. Durante o ano de 2013, no Hospital da Universidade de Coimbra, foram identificados 27 isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* resistente ao ertapenem [65]. As amostras biológicas foram recolhidas de indivíduos hospitalizados e verificou-se que todos os isolados demonstraram ser resistentes aos antibióticos β -lactâmicos testados: ertapenem, aztreonam e cefalosporinas. Um isolado revelou ser resistente ao Imipenem e 15 isolados apresentaram resistência intermédia a este mesmo carbapenem. Não se observaram referencias ao Ertapenem. [65].

No estudo mencionado anteriormente, efetuado pela Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (2019) [67], observou-se que 25,8% das bactérias eram resistentes ao imipenem e que o ertapenem e o meropenem apresentavam a mesma percentagem de resistência, 35,5%, por parte dos microrganismos.

Neste trabalho efetuado no HDES, verificou-se a presença de 90,0% de resultados resistentes ao ertapenem. Como mencionado anteriormente, é utilizado com maior frequência por forma a preservar outros antibióticos, levando ao aumento da resistência bacteriana pelos mesmos, justificando a percentagem de resultados resistentes.

O imipenem apresentou resultados com 33,8% de sensibilidade, no entanto, como 38,75% dos casos não apresentam resultados e 2,5% não foram testados, não é possível retirar conclusões seguras sobre as suas limitações terapêuticas.

No caso do meropenem observaram-se 50,0% de resultados sensíveis, revelando ainda a existência de alguma margem para uso terapêutico nos doentes com CRE.

No presente estudo não foi efetuada recolha de dados sobre os mecanismos de resistência associados às CRE detetadas no laboratório de microbiologia do HDES, devido ao

reduzido número de resultados rececionados do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge pelo HDES. Dentro dos resultados conhecidos [72], os mecanismos de resistência bacteriana detetados foram sobretudo associados à enzima Carbapenemase KPC, indo de encontro à realidade verificada na bibliografia consultada relacionada com outros hospitais nacionais [63,65,67].

Pese embora o enquadramento insular do HDES, quer na componente de localização em contexto de isolamento geográfico e de descontinuidade territorial e socioeconómica, quer na componente da sua polaridade enquanto hospital de referência de uma região arquipelágica, não se verificaram, no decurso do estudo realizado, diferenças significativas ao nível da incidência por CRE em relação a dados relativos aos hospitais nacionais.

5 CONCLUSÕES

A emergência, disseminação e aumento de infeções por bactérias resistentes aos carbapenemes constituem uma ameaça global à saúde pública, assumindo-se importante o envidamento de esforços em prol de um incremento da consciencialização da problemática por parte da população em geral, de modo a assegurar que as medidas propostas pelas entidades responsáveis pelo controlo das multirresistências possam ser cumpridas.

As infeções e colonizações por estes microrganismos, para além de atingirem indivíduos mais suscetíveis, podem afetar pessoas saudáveis quando colonizadas em contexto de internamento, aumentando o risco de contágio entre os doentes e profissionais, assim como os custos associados aos cuidados de saúde.

A investigação científica tem, também, um papel fundamental no controlo das CRE, visto que a pressão sofrida pelas bactérias através da utilização contínua de antibióticos leva a uma constante adaptabilidade por parte das mesmas e, conseqüentemente, à criação de novos mecanismos de resistência. O conhecimento destes mecanismos revela-se uma ferramenta crucial para prevenir a disseminação das multirresistências, bem como selecionar opções terapêuticas mais adequadas ou criar alternativas mais eficazes.

Neste trabalho efetuado no HDES detetaram-se 80 doentes portadores de colonizações ou infeções por CRE, verificando-se que, ao longo do período em estudo, o número de novos casos por ano oscilou pouco. Esta estabilidade pode dever-se á organização do serviço de controlo de infeção e ao cumprimento das medidas por parte dos profissionais de saúde.

Indo de encontro aos dados recolhidos na pesquisa bibliográfica efetuada, os pacientes mais afetados foram os que sofriam de múltiplas patologias, uma vez que se encontram,

normalmente, mais fragilizados. A *K. pneumoniae* foi a bactéria que apresentou maior prevalência de resistências aos carbapenems, estando maioritariamente associada às infeções urinárias, indo de encontro à realidade nacional.

O uso da ciprofloxacina como alternativa terapêutica é considerado uma opção cultural em Portugal. A frequente recorrência a esse antibiótico também foi verificada nas opções terapêuticas dos clínicos do HDES.

A atribuição da designação de CRE nas infeções dos doentes em estudo foi maioritariamente associada à resistência bacteriana ao ertapenem. Este antibiótico possui um espectro menos alargado do que os outros carbapenemes, razão que o leva a ser mais utilizado de forma a preservar os outros da mesma subclasse.

Face à situação pandémica da COVID-19, a interpretação dos dados obtidos ao longo do ano de 2020 não deve ser considerada com relevância quantitativa no quadro de evolução dos dados dos anos transatos, uma vez que no referido período ocorreu uma grande alteração de paradigma de internamentos, consultas e de urgência, bem como necessária reestruturação de serviços e pessoal, entre outras alterações funcionais ou de procedimentos, que podem ter levado a lacunas na implementação das medidas relacionadas com o controlo de infeção.

Ao longo do estudo efetuado, dada a dificuldade na recolha, processamento e sistematização de informação, e de modo a facilitar possíveis futuros estudos quantitativos, bem como avaliar e monitorizar tendências da evolução desta problemática, assume-se como determinante a uniformização dos procedimentos de registo de informação clínica dos pacientes.

6 BIBLIOGRAFIA

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2018: Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). ECDC; 2018.
2. Mendelson M, Matsoso MP. The World Health Organization Global Action Plan for antimicrobial resistance. South African Medical Journal. 2015;vol.105 n.5.
3. Costa JPF. Impacto do Tratamento com Carbapenemes na Emergência de Espécies de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* Resistentes: Uma Revisão Bibliográfica. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto. 2017.
4. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) Direção-Geral de Saúde (DGS). Recomendação - Prevenção da transmissão de Enterobactérias Resistentes aos Carbapenemos em hospitais de cuidados de agudos. 2017; Available from: www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos/destaques/recomendacao-prevencao-da-transmissao-de-enterobacteriaceas-resistentes-aos-carbapenemos-em-hospitais-de-cuidados-de-agudos-pdf
5. Yamamoto M, Pop-Vicas AE. Treatment for infections with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: What options do we still have? Crit Care. 2014;18(3):1–8.
6. Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) infections. Vol. 8, Antibiotics. 2019.
7. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2011;17(10):1791–8.
8. Hayden MK, Lin MY, Lolans K, Weiner S, Blom D, Moore NM, et al. Prevention of colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing enterobacteriaceae in long-term acute-care hospitals. Clin Infect Dis. 2015;60(8):1154–61.
9. Sousa J. Análise das infeções por microrganismos resistentes aos carbapenemes no Centro Hospitalar do Porto, no ano de 2014. Mestrado Integrado em Medicina. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto. 2015.
10. Braz, D (2016) Resistência aos carbapenêmicos em enterobactérias: Avaliação de superfícies inanimadas em hospitais da cidade de Manaus. Universidade Federal do Amazonas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

11. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis*. 2017;215(1):S28–36.
12. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). *Natl Cent Emerg Zoonotic Infect Dis* [Internet]. 2015;(November):24. Available from: https://www.osha.gov/SLTC/ebola/control_prevention.html
13. CRE Technical Information | CRE | HAI | CDC [Internet]. [cited 2020 Feb 9]. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/technical-info.html>
14. El-Gamal, M.; Imen Brahim, I.; Noorhan Hisham, N.; Aladdin, R.; Mohammed, H.; Bahaaeldin, A. (2017). Recent updates of carbapenem antibiotics. *European Journal of Medicinal Chemistry* 131, 185-195.
15. Papp-Wallace, K.; Endimiani, A.; Taracila, M.; Bonomo, R. (2011) Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Nov. 2011, p. 4943–4960. American Society for Microbiology.
16. Infarmed. Prontuário Terapêutico on-line Infarmed [Internet]. Available from: <https://app10.infarmed.pt/prontuario/navegavalores.php?flag=1&id=14>
17. ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae-second update Event background Current situation of CRE in EU/EEA countries. 2019;(September):1–17.
18. DGS. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos. Prevenção da Transmissão de Enterobactérias Resistentes aos Carbapenemos em Hospitais de Cuidados Agudos. 2017. Acedido em 13 de Março de 2021, em <https://www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos/destaques/recomendacao-prevencao-da-transmissao-de-enterobacteriaceas-resistentes-aos-carbapenemos-em-hospitais-de-cuidados-de-agudos-pdf.aspx>
19. Cardoso R. As infeções associadas aos cuidados de saúde. Tese de Mestrado em Gestão e Economia da Saúde. Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra. 2015.
20. Clinicians: Information about CRE | HAI | CDC [Internet]. [cited 2020 Feb 12]. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-clinicians.html>
21. Tischendorf J, De Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control* [Internet]. 2016;44(5):539–43.

22. da Silva KE, Maciel WG, Correia Sacchi FP, Carvalhaes CG, Rodrigues-Costa F, da Silva ACR, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: Watch out for surgery. *J Med Microbiol.* 2016;65(6):547–53.
23. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: An evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):682–707.
24. Quintanilha D O. Ceftazidima + avibactam: nova opção de tratamento para pneumonia hospitalar. *PEBMED.* Acedido a 14 de março de 2021, em <https://pebmed.com.br/ceftazidima-avibactam-nova-opcao-de-tratamento-para-pneumonia-hospitalar/>
25. Durante-Mangoni E, Andini R, Zampino R. Management of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Clinical Microbiology and Infections* 25. 2019; 943-950.
26. Eichenberger EM, Thaden JT. Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Extensively Drug Resistant Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics* 2019; 8, 37.
27. Normann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clinical Infectious Diseases.* 2019;69(S7):S521–8
28. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *The Journal of Infectious Diseases.* 2017; 215(S1):S28–36.
29. Lee A, Mao W, Warren MS, Mistry A, Hoshino K, Okumura R, et al. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. *J Bacteriol.* 2000;182(11):3142–50.
30. Letourneau AR. Beta-lactam antibiotics: Mechanisms of action and resistance and adverse effects. In: Post TW, editor. *UpToDate* [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2020. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/beta-lactam-antibiotics-mechanisms-of-action-and-resistance-and-adverse-eff>
31. Quale J, Spelman D. Overview of carbapenemase-producing gram-negative bacilli. In: Post TW, editor. *UpToDate* [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2020. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-carbapenemase-producing-gram-negative-bacill>
32. Molton JS, Paul A, Tambyah, Brenda S. P. Ang, Moi Lin Ling, Dale A. Fisher. The Global Spread of Healthcare-Associated Multidrug Resistant Bacteria: A Perspective From Asia. *Clinical Infectious Diseases.* 2013;56(9):1310–1318.

33. Manenzhe R, Rendani I, Manenzhe, Heather J, Zar, Mark P, Nicol, Mamadou Kaba. The spread of carbapenemase-producing bacteria in Africa: a systematic review. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.2015; 70(1):23–40.
34. Kelly A.M., Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: a scoping review. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2017; 50(2):127–134.
35. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*.2011; 17(10):1791–8.
36. Cantón R., Ako M., Carmeli Y., Giske C. G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., Livermore D. M., Miriagou V., Naas T., Rossolini G. M., Samuelsen Ø., Seifert H., Woodford N. and Nordmann P.. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(5):413–431.
37. Kontopidou F., Giamarellou H., Katerelos P., Maragos A., Kioumis I., Trikka-Graphakos E., Valakis C. and Maltezou H. C.. Infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among patients in intensive care units in Greece: a multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.2014; 20(2):O117-23.
38. Cristina ML., Alicino C., Sartinia M., Faccioa V., Spagnoloa A. M., Valerio D., Bono cGiovann iCassolad, Anna M.De Mitee, Crisallid M. P., Ottriaab G., Schincaab E., Pinto G. L., Bottaroe L., Viscoliac C., Orsiag A., Giacobbeac D., Icardi G. Epidemiology, management, and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in hospitals within the same endemic metropolitan area. *Journal of Infection and Public Health*.2018;11(2):171–177.
39. Girlich D H, Bouihat N., Poirel L., Benouda A., Nordmann P. Rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a University hospital in Morocco. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(4):350–354.
40. Zarakolu P. P Zarakolu, OK Eser, E Aladag, IA Al-Zahrani. Epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization: a surveillance study at a Turkish university hospital from 2009 to 2013. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.2016; 85(4):466–470.

41. Karampatakis T., Antachopoulos C., Tsakris A.. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Greece: an extended review (2000–2015). *Future Microbiology*. 2017;201712(9):801–815.
42. Tekintaş K., Çilli F., Eraç B., Yaşar M., Aydemir, S., Hoşgör Limoncu M.. *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Karbapenemaz Üretimini Saptanmasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Fenotipik Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bulteni*.2017; 51(3):269–276.
43. Mathlouthi N., El Salabi A. A., Jomàa-Jemili M. B., Bakour S., Al-Bayssari C., Zorgani A., Kraiema A., Elahmer O., Okdah L. , Rolain J. M., Chouchani C.. Early detection of metallo- β -lactamase NDM-1- and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Libyan hospitals. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2016 48(1) (2016) 46–50.
44. Ensor, V M., Shahid M., Evans J. T., Hawkey P. M.. Occurrence, prevalence and genetic environment of CTX-M - lactamases in Enterobacteriaceae from Indian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006;58(6):1260–1263.
45. Livermore, D., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G. M., Arlet G., Ayala J., Coque T. M., Kern-Zdanowicz I., Luzzaro F. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006; 59:165–174.
46. Sidjabat H. E., Paterson D. L.. Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Asia: epidemiology and management. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2015;13(5):575–591.
47. Gupta N., Brandi M., Limbago A., Patel J. B., Kallen A.. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and Prevention. *Clinical Infectious Diseases*.2011; 53(1):60–67.
48. Protonotariou E., Politi L., Sgouropoulos I, aMetallidis, S., Kachrimanidou M., Pournaras S., Tsakris A., Skoura L. Hospital outbreak due to a *Klebsiella pneumoniae* ST147 clonal strain co-producing KPC-2 and VIM-1 carbapenemases in a tertiary teaching hospital in Northern Greece. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2018.
49. Grundmann H., Glasner C., Albiger B. European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) Working Group. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis* 2017; 17:153–63.
50. Centers for Disease Control and Prevention. Facility guidance for control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae—November 2015 update. Available at: <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf>. Accessed 1 February 2019

51. Mataseje LF, Abdesselam K, Vachon J, et al. Results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program on carbapenemase-producing
52. Lincopan N, McCulloch JA, Reinert C, Cassettari VC, Gales AC, Mamizuka EM. First isolation of metallo-beta-lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. *J Clin Microbiol* 2005; 43:516–9.
53. Rodríguez CH, Nastro M, Famiglietti A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Rev Argent Microbiol* 2018; 50:327–33
54. Suwantararat N, Carroll KC. Epidemiology and molecular characterization of multidrug-resistant gram-negative bacteria in Southeast Asia. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5:15.
55. Gralha REF. O impacto da antibioterapia no tratamento de bactérias produtoras de carbapenemases. Tese de Mestrado em Análise Clínicas. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.2019.
56. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. Vol. 56, *Journal of Clinical Microbiology*. 2018. p. 1–13.
57. Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, Rapoport M, Corso A. Sensitive Screening Tests for Suspected Class A Carbapenemase Production in Species of Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*. 2009;47(6):1631.
58. Cunningham SA, Limbago B, Traczewski M, Anderson K, Hackel M, Hindler J. Multicenter Performance Assessment of Carba NP Test. Ledeboer NA. *J Clin Microbiol*.2017; 55(6):1954.
59. Biomérieux (2021). chromID® CARBA SMART, Teste RAPIDEC® CARBA NP, FilmArray™. Acedido a 05 de agosto de 2021, em <https://www.biomerieux.pt/produto/chromid-carba-smart>.
60. Hospital do Divino Espírito Santo. Relatório e Contas 2020.
61. Alves AC. Fatores de risco e prevenção da colonização e infeção por Enterobacteriáceas Resistentes a Carbapenemes. Tese de Mestrado em Medicina. Universidade da Beira Interior.2020.
62. DOI A M. Detecção de Resistência em Bacilos Gram-Negativos. Sociedade Brasileira de Microbiologia. Acedido a 26 de agosto de 2021, em <http://brcast.org.br/wp-content/uploads/2019/10/BRCAST-MECANISMOS-DE-RESISTENCIA-GN-MACEIO.pdf>.
63. Gorgulho Ana, Grilo AM, Figueiredo M , Selada J. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a Portuguese hospital – a five-year retrospective study. *GERMS* 2020;10:2-95.

64. Vigário Ana, Gonçalves J A, Oliveira JR, MD. Implementation of an infection control program with emphasis on cohorting to patients with carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. The experience of 2 years in a tertiary teaching hospital in northern Portugal. *Porto Biomed J.* 2020; 5:3-68.
65. Silva M. *Klebsiella pneumoniae*, uma bactéria multirresistente emergente em hospitais portugueses. Relatório de Estágio e Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2019.
66. Luz TMA. Evolução do consumo de quinolonas em Portugal continental entre 2005 e 2014. Tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade do Algarve. 2017. Community- and Hospital-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections in Portugal: Virulence and Antibiotic Resistance. *Microorganisms.* 2019; 7, 138.
67. Caneiras, C., Lito, L., Melo-Cristino, J., Duarte, A. *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections in Portugal: Virulence and Antibiotic Resistance. *Microorganisms* 2019, 7, 138; doi:10.3390/microorganisms7050138. 2019.
68. Caneiras C. Epidemiologia molecular e estudo dos determinantes genéticos de resistência e virulência em isolados clínicos de *Klebsiella* spp. Tese de Doutoramento em Ciências e Tecnologias da Saúde, especialidade em Microbiologia. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. 2019.
69. Calisto F, Caneiras C, S. Cerqueira S, Lito L, Melo-Cristino J, Duarte A. *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase KPC-3 identified in hospital wards. *RPDI.* 2012; Vol/2, Nº3.
70. Reis TM. Estudo Epidemiológico de *Klebsiella pneumoniae* Resistentes aos Carbapenemos no Centro Hospitalar Universitário de Coimbra: Emergência de Carbapenemases. Tese de Mestrado em Ciência Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2017
71. Jaleko Artemed. Carbapenemes: Segredos do Ertapenem, Meropenem e Imipenem. Acedido a 15 de Outubro de 2021, em <https://Carbapenêmicos: segredos do meropenem, ertapenem e imipenem /Jaleko>
72. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Departamento de Doenças Infeciosas. Folha de notificação- *Enterobacteriaceae*. PT030 HDES\Açores. Dados de 2017 a 2020.

UNIVERSIDADE DOS AÇORES
Faculdade de Ciências e Tecnologia

Rua da Mãe de Deus
9500-321 Ponta Delgada
Açores, Portugal