



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

MARIA EDUARDA LIMA OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE BETA LACTAMASES PRODUZIDAS POR
BACTÉRIAS EM UROCULTURAS DE ORIGEM COMUNITÁRIA**

**CAMPINA GRANDE
2022**

MARIA EDUARDA LIMA OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE BETA LACTAMASES PRODUZIDAS POR
BACTÉRIAS EM UROCULTURAS DE ORIGEM COMUNITÁRIA

Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia
da Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
farmacêutica em 2022.

Área de concentração: Microbiologia.

Orientador: Profa. Dra. Patrícia Maria de Freitas e Silva

Campina Grande - PB
2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

048c Oliveira, Maria Eduarda Lima.
Caracterização fenotípica de beta-lactamases produzidas por bactérias em uroculturas de origem comunitária [manuscrito] / Maria Eduarda Lima Oliveira. - 2022.
50 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. - 2022.

"Orientação : Profa. Dra. Patrícia Maria de Freitas e Silva ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Infecção do trato urinário. 2. Resistência bacteriana. 3.
Beta-lactamases. I. Título

21. ed. CDD 616.047

MARIA EDUARDA LIMA OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE BETA-LACTAMASES PRODUZIDAS POR
BACTÉRIAS EM UROCULTURAS DE ORIGEM COMUNITÁRIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Farmácia da Universidade Estadual
da Paraíba, como requisito para obtenção do
título de Bacharel em Farmácia.

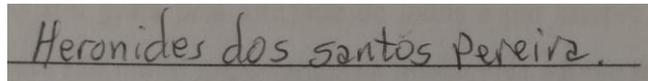
Área de concentração: Microbiologia.

Aprovada em: 25/11/2022.

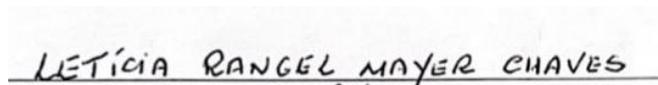
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Patrícia Maria de Freitas e Silva (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Heronides dos Santos Pereira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Espec. Letícia Rangel Mayer Chaves
Universidade Estadual da Paraíba

*Aos meus pais por todo o esforço e confiança
em mim depositada, DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

Confesso que ao me deparar com a página de agradecimentos, diversas memórias permeiam a minha mente no que se refere a minha trajetória enquanto estudante. Inegavelmente, o infinito amor e o amparo de Deus me nortearam sabiamente ao longo destes anos. A Ele, dedico esta vitória e a minha trajetória daqui em diante, indicando o caminho a ser seguido segundo a Tua vontade.

Hoje, prestes a concluir a minha graduação, sou tomada pela gratidão de ter chegado até aqui, e, justamente por este sentimento que me invade, jamais poderia esquecer de todos os que estiveram comigo durante esta trajetória.

Aos meus amados meu pai, José Edmar e Nilvana Lima, minha eterna gratidão por serem a base e o meu conforto. Vocês sempre serão os responsáveis por cada vitória! Obrigada por não terem poupado esforços ao investir na minha educação e por todo suporte emocional que nunca me faltou.

Às minhas irmãs Carmem Taciana e Débora Taynara por terem cuidado de mim desde o meu nascimento até aqui, pelos gestos de carinho e por serem as maiores apreciadoras das minhas conquistas. Esta vitória também é de vocês!

À minha sobrinha Mariah por tornar minha rotina mais leve e colorida com a simplicidade e a pureza de ser criança. Minha dedicação é também para que você possa ter, um dia, oportunidades grandiosas como as minhas.

Agradeço de coração ao meu namorado Tiago Pinto, meu companheiro e grande entusiasta, por agir com paciência e carinho no decorrer da minha graduação.

Às minhas amadas tias: Maria de Fátima Fernandes (*in memoriam*), que embora fisicamente ausente, sinto sua presença ao meu lado neste momento, dando-me força. Em vida, enquanto professora universitária sempre incentivou e investiu em minha educação, me presenteando com diversas oportunidades valiosas. Esta vitória também é da senhora, seique estás orgulhosa; e à Neuman Fernandes (*in memoriam*) por ter sido um exemplo de simplicidade e evolução espiritual. Se amar é servir, as suas vidas foram dedicadas para o próximo, deixando-me a maior herança: a capacidade de olhar para o outro devagar e com carinho. Gratidão infindável pela experiência de ter sido amada por vocês!

Agradeço imensamente à professora Patrícia Maria de Freitas, orientadora deste trabalho, pela disponibilidade, confiança, respeito, compreensão, dedicação, paciência e carinho ao ensinar. Obrigada pelos ensinamentos e por cada oportunidade que foram de suma

importância na minha formação. Sua dedicação e amor ao trabalho não passam despercebidas por ninguém que têm o privilégio de vê-la dentro e fora de sala de aula. Como me sinto orgulhosa em ter finalizado meu curso com o auxílio de uma mulher forte e destemida, com um conhecimento amplo e uma fé admirável. À senhora, dedico a minha eterna gratidão!

A Universidade Estadual da Paraíba, agradeço pelo ambiente propício à evolução e desenvolvimento e a todos colaboradores envolvidos que a tornam uma instituição excelência. Eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir todos os dias. Agradeço especialmente aos técnicos de laboratório, Augusto, Danilo, George, Renata e Wilma, pela presteza, aprendizado e amizade.

Aos professores da graduação da UEPB, em especial, ao professor Heronides dos Santos e a professora Letícia Mayer por terem aceitado compor a minha banca. Os agradeço pela contribuição na minha construção profissional, certamente serão para sempre lembrados.

Aos meus colegas de graduação, Adélia, Brenda, Daiana, Emmanoel, Nayara e Walisson, por terem tornado minha rotina mais leve durante os 5 anos de curso. De fato, esta caminhada não seria a mesma sem vocês. Em especial, estendo os meus agradecimentos a Sabrina de Cássia que se mostrou uma amiga prestativa e verdadeira, segurando firme minha mão nos momentos de dificuldade e hoje podemos reverberar: juntas vencemos!

Aos estágios pelos quais passei durante o curso, agradeço por todo o aprendizado e pelo olhar profissional e agregador que cada um gerou em minha caminhada. Em especial, a Farmácia Bela Vista, empreendimento familiar impulsionou a vivência deste momento. Todo o meu respeito e admiração às benfeitorias a comunidade e ao vasto conhecimento do mundo dos medicamentos de José Edmar, o meu pai, que realiza há mais de 45 anos um trabalho de maestria o qual tanto me orgulho.

Por fim, agradeço a todos os quais, de alguma forma, ou em algum momento, sonharam este sonho junto a mim. Chego à conclusão dessa etapa feliz com as minhas escolhas e com os desafios vencidos, com uma bagagem rica de aprendizados e com o amadurecimento de tantas vivências. Pedindo discernimento ao Senhor para que eu possa ter sempre a humildade de quem sabe muito pouco e a alegria de quem espera aprender muito ainda. Gratidão!

RESUMO

Bactérias causadoras de infecções urinárias podem produzir enzimas de resistência que degradam antibióticos beta-lactâmicos, resultando em falhas no tratamento clínico, limitando as opções terapêuticas e consequentemente, aumentando as taxas de morbimortalidade dos pacientes. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a frequência dos fenótipos que caracterizam as enzimas de resistência bacteriana como β -lactamases de espectro estendido (ESBL), AmpC(enzima do grupo C de Ambler), penicilinas e carbapenemases em amostras de urocultura de um laboratório comunitário na cidade de Campina Grande/PB. Durante os anos de 2020 a 2021 foram analisadas 10.487 uroculturas nas quais, *Escherichia coli* predominou com a bactéria que mais produziu ESBLs em 66,04% (n=107), seguido de *Klebsiella oxytoca*, 18,24% (n=29), *Proteus mirabilis*, 6,29% (n=10), *Klebsiella pneumoniae*, 2,51% (n=4) e *Enterobacter aerogenes*, 1,26% (n=3). Dentre as *E. coli* encontradas, 1,26% (n=2) também foram produtoras da enzima carbapenemase. Neste estudo não foram encontradas bactérias produtoras de AmpC como também não foram encontrados *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA). Destacou-se, porém, a presença de *Staphylococcus saprophyticus* resistentes à oxacilina que apareceu em 3,77% (n=4) das uroculturas. Observou-se a maior incidência do gênero feminino com uroculturas positivas para produção de betalactamases, 65,4% (n=104). Em relação aos grupos etários, a presença de cepas produtoras de betalactamases ocorreu em todos eles, porém predominando na faixa etária entre 71 a 90 anos. Foi também verificado o perfil de resistência de antibióticos que não são passíveis de serem degradados por ESBL em relação às bactérias mais isoladas neste trabalho como *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*. Para *Escherichia coli*, por exemplo, foi constatado que 80,37% (n=86) foram resistentes ao sulfametoxazol+trimetropina, 77,57% (n=83) ao ciprofloxacino, 76,74% (n=82) ao norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino, 54,20% (n=56) à cefuroxima, 25,24% (n=27) à nitrofurantoína, 15,89% (n=17) à gentamicina, 12,15% (n=13) à amoxicilina+clavulanato, 9,35% (n=10) foram resistentes à amicacina e gentamicina e 2,7% (n=2) resistentes ao imipinem e ao meropenem. Constatou-se que, dos antibióticos orais que são mais adequados para uso comunitário, amoxicilina+clavulanato e nitrofurantoína apresentaram-se como as melhores opções terapêuticas. Porém, considerando-se as características farmacocinéticas destas drogas, a nitrofurantoína seria a alternativa mais adequada, pois, por apresentar excreção lenta, se concentra mais tempo na bexiga, promovendo uma maior eficácia. A correlação da rápida excreção das penicilinas associada à meia-vida plasmática relativamente curta caracteriza-se como uma desvantagem no uso de amoxicilina+clavulanato para o tratamento de infecções urinárias, apesar do seu perfil de resistência favorável. Conclui-se que bactérias produtoras de enzimas de resistência estão atualmente disseminadas não apenas em ambientes hospitalares, mas também na comunidade. Tal fato alerta para a importância de se institucionalizar o procedimento de pesquisa de enzimas de resistência na rotina laboratorial, considerando que sua presença pode modificar a opção terapêutica para o tratamento do paciente, garantindo sucesso terapêutico.

Palavras-Chave: beta-lactamases; infecção do trato urinário; resistência bacteriana.

ABSTRACT

Bacteria that cause urinary tract infections can produce resistance enzymes that degrade beta-lactam antibiotics, resulting in failures in clinical treatment, limiting therapeutic options and, consequently, increasing patient morbidity and mortality rates. This study aimed to evaluate the frequency of phenotypes that characterize bacterial resistance enzymes such as extended-spectrum β -lactamases (ESBL), AmpC (Ambler's C group enzyme), penicillinases and carbapenemases in urine culture samples from a community laboratory in the city of Campina Grande/PB. During the years 2020 to 2021, 10.487 urine cultures were analyzed in which *Escherichia coli* predominated as the bacteria that most produced ESBLs in 66,04% (n=107), followed by *Klebsiella oxytoca*, 18,24% (n=29), *Proteus mirabilis*, 6,29% (n=10), *Klebsiella pneumoniae*, 2,51% (n=4) and *Enterobacter aerogenes*, 1,26% (n=3). Among the *E. coli* found, 1,26% (n=2) were also producers of the enzyme carbapenemase. In this study, no AmpC-producing bacteria were found, nor were oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) found. However, the presence of oxacillin-resistant *Staphylococcus saprophyticus* stood out, which appeared in 3,77% (n=4) of the urine cultures. There was a higher incidence of females with positive urine cultures for beta-lactamase production, 65,4% (n=104). Regarding age groups, the presence of beta-lactamase producing strains occurred in all of them, but predominantly in the age group between 71 and 90 years. The resistance profile of antibiotics that are not likely to be degraded by ESBL was also verified in relation to the bacteria most isolated in this work, such as *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*. For *Escherichia coli*, for example, it was found that 80,37% (n=86) were resistant to sulfamethoxazole+trimetopine, 77,57% (n=83) to ciprofloxacin, 76,74% (n=82) to norfloxacin, ofloxacin and levofloxacin, 54,20% (n=56) to cefuroxime, 25,24% (n=27) to nitrofurantoin, 15,89% (n=17) to gentamicin, 12,15% (n=13) to amoxicillin+clavulanate, 9,35% (n=10) were resistant to amikacin and gentamicin and 2,7% (n=2) were resistant to imipinem and meropenem. It was found that, of the oral antibiotics that are most suitable for community use, amoxicillin+clavulanate and nitrofurantoin were the best therapeutic options. However, considering the pharmacokinetic characteristics of these drugs, nitrofurantoin would be the most appropriate alternative, since, due to its slow excretion, it is concentrated in the bladder for a longer time, promoting greater efficacy. The correlation of the rapid excretion of penicillins associated with the relatively short plasma half-life is characterized as a disadvantage in the use of amoxicillin+clavulanate for the treatment of urinary infections, despite its favorable resistance profile. It is concluded that bacteria producing resistance enzymes are currently widespread not only in hospital settings, but also in the community. This fact alerts to the importance of institutionalizing the research procedure for resistance enzymes in the laboratory routine, considering that their presence can modify the therapeutic option for the patient's treatment, guaranteeing therapeutic success.

Keywords: beta-lactamases; urinary tract infection; bacterial resistance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Classificação das beta-lactamases de acordo com Bush, Jacoby e Medeiros.	19
Figura 2 –	Formação da “ghost-zone”.....	30
Figura 3 –	Presença da zona em forma de “D”.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Bactérias produtoras de beta-lactamases em uroculturas de origem comunitária entre os anos de 2020/2021.....	35
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Idade dos pacientes infectados com bactérias produtoras de beta-lactamases no período entre 2020/2021	33
Gráfico 2 – Caracterização do gênero dos pacientes infectados com bactérias produtoras de beta-lactamases no período entre 2020/2021	34
Gráfico 3 – Tipos de beta-lactamases encontradas em bactérias isoladas de uroculturas	35
Gráfico 4 – Perfil de resistência das cepas produtoras de ESBL isoladas em uroculturas de origem comunitária	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência de Vigilância Sanitária
BrCAST	<i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CESP	<i>Citrobacter spp., Enterobacter spp., Serratia marcescens e Providencia spp.</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
EMB	<i>Eosine Methylene Blue</i>
ESBL	β -lactamases de espectro estendido
IIH	Infecções Hospitalares
ITU	Infecção do trato urinário
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemases
MBL	Metallo beta-lactamase
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à oxacilina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBP	Proteínas Ligadoras de Penicilinas
SS MRSA	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> resistente à oxacilina
TCD	Teste de Disco Combinado
TSA	Teste de Sensibilidade a Antibiótico
TSDD	Teste de Sinergismo de Duplo Disco
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UFC/mL	Unidades formadoras de colônias por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO	15
2.2 BETA-LACTAMASES	15
2.2.1 ORIGEM.....	17
2.2.2 TIPOS	17
2.3 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ORIGEM HOSPITALAR	19
2.4 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ORIGEM COMUNITÁRIA	20
2.5 TESTES PARA DETECTAR A PRODUÇÃO DE BETALACTAMASES	21
2.6 BETALACTAMASES: ESBL, AMPC E MRSA.	22
2.6.1 ORIGEM E EVOLUÇÃO	22
2.6.2 FATORES DE RISCO	24
2.6.3 SIGNIFICADO CLINICO DA DETECÇÃO	24
2.7 MEDIDAS DE CONTROLE	25
2.8 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE ESBL E TÉCNICAS MICROBIOLÓGICA	26
3 OBJETIVOS	28
4. METODOLOGIA.....	29
4.1 Tipo de pesquisa	29
4.2 Desenvolvimento da pesquisa	29
4.2.1 Dados obtidos	29
4.2.2 Metodologia.....	29
4.2.2.1 Urocultura.....	29
4.2.2.2 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	29
4.2.2.3 Testes fenotípicos para pesquisa de enzimas de resistência	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32

REFERÊNCIAS	45
--------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

Infecções do trato urinário é uma patologia frequente e recorrente em todas as idades no ambiente comunitário. Bactérias causadoras destas infecções podem produzir enzimas de resistência que degradam antibióticos beta-lactâmicos, resultando em falhas no tratamento clínico e consequentemente, aumentando as taxas de morbi-mortalidade dos pacientes (TOOKE *et al.*, 2019; RODRIGUES, 2016).

As beta-lactamases constituem as enzimas de maior importância clínica, amplamente distribuídas entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo o mais importante mecanismo de resistência aos β -lactâmicos em bactérias Gram-negativas. Esse fato se deve ao acúmulo dessas enzimas no espaço periplasmático das bactérias Gram-negativas, enquanto em Gram-positivas essas enzimas são liberadas para o meio externo. Isso faz com que a inativação do antimicrobiano seja mais efetiva em Gram-negativos, antes de sua ligação às proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) na membrana citoplasmática (ANVISA, 2020).

Diferentes tipos de beta-lactamases já foram descritas e inúmeras tentativas de estabelecer um sistema de classificação foram propostas. De acordo com a classificação de Bush e colaboradores, as enzimas de espectro expandido (ESBLs) compõem o grupo de enzimas que por definição são capazes de hidrolisar os antibióticos beta-lactâmicos de espectro expandido e que são susceptíveis à inibição de inibidores de beta-lactamases como clavulanato, sulbactam e tazobactam (BRADFORD, 2021). As ESBLs evoluíram e adaptaram-se para hidrolisar as drogas desenvolvidas capazes de suprir as resistências adquiridas, sendo encontradas em muitos gêneros de patógenos oportunistas como as enterobactérias, e em organismos não fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa*, conferindo resistência à maioria dos antibióticos beta-lactâmicos, como cefalosporinas de 1^a, 3^a e 4^a geração, penicilinas e monobactâmicos (aztreonam), com exceção aos carbapenêmicos e à associação aos inibidores de beta-lactamase como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (BUSH, 2018; BARBOSA, 2020).

As enzimas AmpCs são codificadas pelos cromossomos de várias espécies bacterianas. Chamam-se assim devido ao pertencimento à classe molecular C de Ambler, e são tipicamente resistentes às penicilinas, às combinações de beta-lactâmicos com inibidores de β -lactamases e às cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, mas geralmente mantêm a sensibilidade às cefalosporinas de quarta geração (cefepime), quando não existe associação com outros mecanismos e aos carbapenêmicos (MEINI *et al.*, 2019; ANVISA, 2020).

Os carbapenêmicos são considerados antimicrobianos de “último recurso” em hospitais e instituições de longa permanência, pois são agentes de espectro mais amplo do grupo beta-lactâmico. Essas enzimas hidrolisam uma ampla variedade de antimicrobianos beta-lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos (aztreonam). São frequentemente encontradas em elementos genéticos móveis refletindo um grande potencial para se espalhar por todo o mundo, afunilando as opções ainda disponíveis para tratamento (HAMMOUDI, 2020; ANVISA, 2020).

Para bactérias Gram-positivas, como as do gênero *Staphylococcus*, o mecanismo de resistência está associado à alteração de proteínas ligadoras de penicilina (PBP) codificada pelo gene *mecA*. A presença da PBP alterada faz com que a meticilina/oxacilina e os compostos penicilina-penicilinase resistentes tenham baixa afinidade pelo local de ligação na parede da bactéria e conseqüentemente deixam de ser efetivos. As bactérias do gênero *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina/oxacilina são denominadas MRSA (*Meticillin resistant Staphylococcus aureus*) (BUSH, 2020).

Embora as técnicas de identificação e prevenção de beta-lactamases tenham avançado, ainda é um desafio o controle da evolução deste mecanismo de resistência das bactérias. Dada à seriedade do problema, torna-se clara a importância de realizar estudos epidemiológicos para identificar as cepas produtoras com a finalidade de minimizar os riscos das falhas na terapia decorrente do uso excessivo dos beta-lactâmicos (BUSH, 2018; HASSOUN, 2017).

O presente estudo tem como objetivo demonstrar, em ambiente comunitário, a capacidade de bactérias causadoras de infecção urinária produzirem enzimas de resistência como beta-lactamases dos tipos ESBL, AmpC, penicilinase e carbapenemases.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

A infecção do trato urinário (ITU) consiste na proliferação de microrganismos no trato urinário. A ITU é um quadro infeccioso muito prevalente entre a população mundial, e estima-se que 86% das pessoas já tenham sofrido com alguma ITU ao longo da vida, especialmente a população feminina, devido a sua anatomia uretral ser mais curta que o comprimento da uretra masculino, logo, os patógenos podem colonizar mais facilmente a bexiga e o espaço uretral (BARROS *et al.*, 2013).

As causas e fatores de risco envolvidos nesta infecção são diversos. Normalmente, o trato urinário é estéril e possui resistência à colonização de patógenos, apesar do contato frequente da uretra distal com bactérias dispostas externamente na região genital humana. O principal mecanismo de defesa fisiológico do aparelho urinário é a micção, onde a urina excreta do trato urinário as bactérias circunvizinhas da região genital que podem entrar em contato com a região interna da uretra e causar infecções (DA SILVA, 2021).

Um dos sintomas mais comuns de uma infecção no trato urinário é a dor na região pélvica, vontade constante de urinar, pouca quantidade de urina no ato miccional, ardência ao urinar, dor na região de flancos e incontinência urinária. Entretanto, a fins de diagnóstico é importante observar os sinais e sintomas relatados pelos pacientes e o aspecto da urina. O diagnóstico laboratorial é feito pela urocultura após coleta asséptica do jato médio urinário, avaliando o crescimento de um número igual ou maior que 100.000 unidades formadoras de colônias por mililitro de urina (UFC/mL). No caso de mulheres grávidas ou no período de menopausa, pessoas imunodeprimidas, idosos e crianças, considera-se a contagem igual ou acima de 60.000 UFC/mL, devido à maior predisposição a desenvolver a infecção. Sendo este, o método padrão-ouro capaz de indicar a ocorrência de multiplicação bacteriana no trato urinário, identificar o microrganismo responsável pelo quadro infeccioso e estabelecer o perfil de susceptibilidade deste agente através do teste de sensibilidade aos antimicrobianos (DA SILVA, 2021).

2.2 BETA-LACTAMASES

Os β -lactâmicos desde a sua descoberta constituem a classe mais utilizada de antibióticos, sendo composta por penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e

carbapenêmicos. Assim como as outras classes de antimicrobianos, desde o seu advento estes passaram por diversas etapas de desenvolvimento e aprimoramento de suas propriedades como potência, espectro de atividade, perfis farmacocinéticos e de segurança e principalmente, eficácia no combate das as formas de resistência (LIMA *et al.*,2020).

As drogas β -lactâmicas agem de forma a impedir a formação da parede celular bacteriana, e o fazem ao interferir no estágio final da síntese de peptidoglicano. Para que os β -lactâmicos atuem na célula bacteriana, precisam atravessar a parede celular. Apesar de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas possuírem estruturas diferentes, os β -lactâmicos conseguem atravessar ambas. Nas bactérias Gram-negativas, agem com facilidade devido à fina camada de peptidoglicano. Enquanto que nas Gram-positivas, a camada de peptidoglicano espessa dificulta a ação do antimicrobiano, entretanto, devido ao peso molecular dos β -lactâmicos e de sua hidrofília compatível com os canais de porinas, conseguem atravessar a parede celular e realizar sua ação (MARIA, 2019; SAWA, 2020).

Nesse sentido, as bactérias susceptíveis pra tais antibióticos passaram a desenvolver mecanismos de resistência capazes de bloquear a ação desses fármacos, como as β -lactamases, enzimas versáteis devido à grande quantidade de estruturas moleculares encontradas em diversas fontes bacterianas capazes de hidrolisar os compostos químicos que possuem um anel β -lactâmico em sua estrutura, gerando compostos sem atividade antimicrobiana (BUSH, 2018; TOOK *et al.*, 2019).

Essas enzimas fazem parte de uma família ampla e complexa. Para classificá-las, vários esquemas de classificação abrangentes foram propostos para englobar estas enzimas de acordo com as características bioquímicas e estruturas moleculares. Os dois sistemas classificatórios mais aceitos no meio científico é o modelo proposto por Ambler (1980) que as classifica estruturalmente (classe A a D) e o sistema proposto por Bush e Jacoby (2010) que as classifica funcionalmente através da adição de subgrupos para englobar e especificar a ação das diferentes enzimas (grupo I a IV) (BUSH, 2018; TOOK *et al.*, 2019).

A resistência antimicrobiana pode ser obtida através de mutação genética ou da aquisição de determinantes de resistência exógenos. A resistência aos antibióticos β -lactâmicos pode ser explicada por vários mecanismos possíveis como a sensibilidade das enzimas-alvos (as proteínas de ligação à penicilina, PBPs), as propriedades e concentração das β -lactamases periplasmáticas, a permeabilidade da membrana e a eficiência do sistema de efluxo ativo. Por outro lado, o principal mecanismo de resistência de bactérias Gram-positivas é a modificação do alvo com a formação de um metabólito incapaz de se ligar a PBPs (LIMA *et al.*,2020).

2.2.1 ORIGEM

Diversas β -lactamases foram descritas ao longo da história, codificadas em cromossomos que são de replicação independente ou de sítios extracromossômicos por meio de plasmídeos ou transposons, que são segmentos de DNA móveis presentes no genoma que podem conter elementos que capturam e mobilizam genes presentes em cassetes. Quando produzidas independentemente da presença dos antimicrobianos são constitutivas e quando determinados agentes estimulam a produção da enzima pelo microrganismo são induzíveis (BARBOSA, 2020).

A primeira beta-lactamase codificada por elemento genético móvel foi identificada na *Escherichia coli* em um paciente chamado Temoniera, a nomeada enzima TEM-1. A localização em plasmídeos e transposons de TEM-1 permitiu a rápida disseminação, assim como aconteceu com o tipo SHV-1. Devido à prevalência e disseminação das beta-lactamases, as cefalosporinas de terceira geração passaram a ser utilizadas na prática médica na década de 1980, apresentando eficácia para combater as enzimas descritas. Entretanto, a pressão seletiva pelo uso abusivo da droga levou a resistência às cefalosporinas com espectro de atividade estendido. Logo, em 1983 foi descrita a primeira ESBL, denominada SHV-2. Desde então, a quantidade de variantes tem crescido progressivamente (BUSH, 2018).

2.2.2 TIPOS

Conforme foram sendo descobertas, as β -lactamases passaram a ser isoladas e caracterizadas visto que, a ação da enzima varia de acordo com as diferentes espécies bacterianas e prevalência em espécies patogênicas. Nesse sentido, Ambler as classificou baseando-se em suas respectivas estruturas moleculares (classe A, B, C e D). No entanto, a designação mais utilizada foi proposta por Bush em colaboração com Jacoby e Medeiros na qual, baseia-se na especificidade do substrato e no perfil de inibição estendido (TAVARES, 2020).

A numeração de variantes dentro da família de β -lactamases é desafiadora, a exemplo das ESBLs que possuem inúmeras mutações pontuais em sequências de nucleotídeos e aminoácidos. As β -lactamases de classe A possuem serina no sítio de ação e são chamadas de serino- β -lactamases. Englobam as penicilinas, a maioria das enzimas de espectro estendido e as serino-carbapenemases, como a KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase). As penicilinas são enzimas com capacidade de hidrólise restrita, agindo apenas sobre as

penicilinas. Alguns exemplos de enzimas dessa classe são as penicilinases produzidas por *Staphylococcus spp.* e *Enterococcus spp.* (BUSH, 2002; TAVARES, 2020).

As carbapenemases de classe A são divididas em quatro representantes principais: GES (43 variantes, algumas com atividade de ESBL e outras com atividade de carbapenemase), SME (5 variantes), IMI/NMC (18 variantes) e KPC (46 variantes). Sendo, as enzimas do tipo KPC as de maior importância clínica e epidemiológica. De fato, KPC-2 é a carbapenemase mais comumente detectada mundialmente, sendo que, no Brasil, essa variante é endêmica. Tais enzimas apresentam elevada capacidade hidrolítica contra carbapenêmicos e são rapidamente disseminadas por elementos genéticos móveis, justificando seu caráter endêmico (ANVISA, 2020).

As enzimas da classe C também são denominadas de AmpC β -lactamase. Geralmente têm localização cromossômica, mas existem enzimas AmpC plasmidiais. Algumas espécies de bactérias possuem intrinsecamente genes que codificam AmpC que são induzíveis na presença de beta-lactâmicos (ANVISA, 2020).

As enzimas pertencentes à classe B são chamadas de metalo- β -lactamases (MBLs), caracterizadas por apresentarem um ou dois átomos de zinco em seu sítio de ação, o que faz com que sejam inibidas por quelantes como o EDTA ou compostos derivados do ácido tiólico. Como todas as β -lactamases, as MBLs podem ser codificadas por genes localizados no cromossomo bacteriano ou transferidos através de elementos genéticos móveis. As famílias mais comuns de MBLs relatadas em isolados clínicos incluem as subclasses VIM (incluindo 67 variantes), IMP (79 variantes), GIM (2 variantes), SIM (2 variantes), NDM (20 variantes) e SPM (1 variante) (ANVISA, 2020).

As β -lactamases de classe D ou oxacilinases (OXA) possuem uma serina em seu sítio de ação. Dentre elas, há enzimas com perfil de penicilinases, que hidrolisam penicilinas e cloxacilina, perfil de ESBLs, que hidrolisam cefalosporinas de amplo espectro e também com perfil de carbapenemases (ANVISA, 2020).

Enquanto que, a classificação funcional é dividida em quatro grupos, considerando o substrato e o perfil de inibição enzimática com a finalidade de agrupá-las de acordo com as características correlacionadas ao seu fenótipo (BUSH, 2020). Como citados a seguir:

Grupo 1: beta-lactamases que não são inibidas pelo ácido clavulânico;

Grupo 2: beta-lactamases de amplo espectro, geralmente inibidas pela ação do ácido clavulânico;

Grupo 3: metalo-beta-lactamase que atuam sobre penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos; não-inibidas pelo ácido clavulânico e inibidas pelo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, quelante);

Grupo 4: beta-lactamases que não são inibidas pelo ácido clavulânico.

O esquema proposto por Bush, Jacoby e Medeiros passa por constantes modificações devido ao aparecimento exponencial de novas formas de resistência. Por esse motivo, a nova classificação originou subgrupos para melhor caracterizar as enzimas. A figura 1 descreve as adaptações classificatórias, bem como, a classificação molecular proposta por Ambler (BUSH, 2020).

Figura 1- Classificação das beta-lactamases de acordo com Bush, Jacoby e Medeiros.

Bush-Jacoby group	Molecular class (Ambler's scheme)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by:		Representative Enzyme(s)
			Clavulanic acid	EDTA	
1	C	Cephalosporins	-	-	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cephalosporins	-	-	GC1, CMY-37
2a	A	Penicillins	+	-	PC-1
2b	A	Penicillins, early cephalosporins	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams		+	TEM-3, SHV-2, CTX- M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicillins	-	-	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams		-	TEM-50
2c	A	Carbenicillin	+	-	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicillin, cefepime	+	-	RTG-4
2d	D	Cloxacillin	Variable	-	OXA-1, OXA-10
2de	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	-	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenems	Variable	-	OXA-23, OXA-48
2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	+	-	CepA
2f	A	Carbapenems	Variable	-	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B(B1)	Carbapenems	-	+	IMP-1, VIM-1, CerA, IND-1
3b	B(B2)	Carbapenems	-	+	CphA, Sfh-1

Source: Bush et al. (2010).

Fonte: Bush *et al.*, 2010.

2.3 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ORIGEM HOSPITALAR

As infecções hospitalares (IH) são aquelas que surgem em 48 a 72 horas após a admissão do paciente em um serviço. Estão relacionadas ao aumento da morbidade e

mortalidade, principalmente em pacientes imunossuprimidos, cirurgiados e usuários de dispositivos médicos invasivos (LOPEZ-RAMIREZ et al., 2018).

Os ambientes hospitalares costumam oferecer condições propícias para abrigar patógenos multirresistentes que empregam diversas vias de disseminação facilitadas pelas características de cada serviço. A incidência crescente da produção de β -lactamases por patógenos nasocomiais tem refletido no padrão de prescrição dos antimicrobianos que inclui o uso de antibióticos de amplo espectro apenas para infecções graves sendo este, um passo bem-sucedido no sentido de controlar a disseminação dos organismos produtores de β -lactamases (HASHIM, 2011; LOPEZ-RAMIREZ *et al.*, 2018).

O estabelecimento de uma política de vigilância no hospital pode reduzir as taxas de infecção por gerar um maior entendimento da tendência da infecção do hospital em questão, um monitoramento eficiente e a alerta precoce de possíveis surtos. Além disso, o “*benchmarking*” (análise estratégica das melhores práticas usadas por empresas do mesmo setor) e consequentes resultados positivos podem atuar como estímulos para melhorar o cumprimento dos controles de infecção, desenvolvimento de estudos dos fatores protetores e dos riscos potenciais de infecção (Li *et al.*, 2017).

2.4 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ORIGEM COMUNITÁRIA

As infecções são categorizadas em comunitárias ou hospitalares. Aquelas identificadas a partir de amostras colhidas nas primeiras 48 horas de admissão do paciente, desde que não relacionada à internação anterior no mesmo hospital são categorizadas como infecção comunitária (SOUSA *et al.*, 2015).

A crescente resistência aos antimicrobianos tanto em hospitais como na comunidade está relacionado a interação de múltiplos fatores, destacando a pressão seletiva das drogas sobre os microrganismos, a transferência de genes para novos hospedeiros e as consequentes mutações que ampliam o espectro de resistência. De acordo com Póvoa *et al* (2019), estudos alertam sobre o surgimento de genes de resistência na comunidade como sendo um dos principais desafios de saúde pública no mundo e apontam sobre o risco de infecções comunitárias causadas por bactérias produtoras de carbapenemases, que representam um agravante do quadro.

Na Atenção Primária, o diagnóstico da infecção para fins clínicos é frequentemente realizado de forma empírica com base em sinais e sintomas relatados pelo paciente. Tendo em

vista que é no âmbito comunitário que os antibióticos utilizados nos serviços são majoritariamente prescritos, o papel do prescritor é primordial pois lidam com problemas de menor gravidade em que nem sempre são de etiologia bacteriana e a decisão terapêutica deve ser guiada e fundamentada para a indicação apropriada. Visto que, a pressão seletiva das bactérias sob nos antimicrobianos funcionam como um catalisador para o desenvolvimento de formas de resistência (SOUSA *et al.*, 2015; PÓVOA *et al.*, 2016; BRYCE, 2016).

2.5 TESTES PARA DETECTAR A PRODUÇÃO DE BETALACTAMASES

O método de disco-difusão permite o critério interpretativo de resistente, intermediário e sensível. As enterobactérias produtoras de carbapenemases podem ser identificadas uma vez que detectada sensibilidade reduzida aos carbapenêmicos nos testes de sensibilidade de rotina. A ANVISA recomenda que em enterobactérias os três carbapenêmicos disponíveis sejam testados, são eles: o imipinem, meropenem e ertapenem. Pois, se o resultado do teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA) indicar perfil intermediário ou resistente para qualquer um desses antimicrobianos, sugere a produção de carbapenemases (AMANCIO, 2021; BRCAS, 2022).

Como cepas multirresistentes podem passar o gene para outras cepas clínicas, a rápida detecção é imprescindível. Baseia-se em métodos fenotípicos, esses métodos exploram o fato de que as ESBLs, por exemplo, são inibidas por inibidores tradicionais de β -lactamases, o clavulanato. Desse modo, a formação de uma zona fantasma ou “*zone ghost*” entre qualquer antimicrobiano marcado sugere a produção da enzima de resistência, observada na Figura 2. Deve-se considerar que os testes fenotípicos apenas confirmam se a enzima é produzida, mas não podem detectar o subtipo de ESBL (SHARMA, 2013).

O mesmo princípio é aplicado para a determinação da produção de β -lactamases do AmpC. Entretanto, a manifestação da enzima é a formação de uma zona de achatamento no halo dos discos induzidas entre os discos de aztreonam e cefoxitina/imipinem. (BARBOSA, 2020).

A resistência à oxacilina/meticilina pode ser detectada fenotipicamente pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) bem como pelo teste de disco-difusão. A expressão heterogênea de resistência afeta particularmente a CIM de oxacilina, a qual pode se mostrar sensível. Dessa forma, tem-se a cefoxitina na qual é considerado um marcador muito sensível e específico da resistência mediada por *mecA/mecC* e é o fármaco de eleição para o disco-difusão (BRCAS, 2022).

2.6 BETALACTAMASES: ESBL, AMPC E MRSA.

2.6.1 ORIGEM E EVOLUÇÃO

A primeira beta-lactamase por elemento genético móvel foi identificada na *Escherichia coli*, isolada de um paciente chamado Temoniera, nome que designou a enzima TEM-1. A localização em plasmídeos e transposons de TEM-1 possibilitou a sua disseminação por transferência horizontal, da mesma forma que a SHV-1 tornou-se mundialmente disseminada. Devido a disseminação das beta-lactamases, as cefalosporinas de terceira geração foram introduzidas na prática médica na década de 1980, com estrutura molecular resistente à ação das enzimas descritas até então. No entanto, a pressão seletiva exercida pelo uso intensivo dessas novas drogas ocasionou a emergência de cefalosporinas com espectro de atividade estendido, de modo que, em 1983, foi notificada a primeira descrição de uma ESBL, denominada SHV-2, por diferir-se de apenas um aminoácido da enzima SHV-1. Atualmente, mais de 500 ESBLs diferentes foram descritas (ANVISA, 2020; BRADFORD, 2001; SILVA, 2012).

As ESBLs contêm várias mutações que lhes permitem hidrolisar antibióticos β -lactâmicos de espectro expandido. Estas, hidrolisam as aminos e ureidopenicilinas, cefalosporinas de 1^a, 3^a e 4^o geração e os monobactâmicos (aztreonam). Com ação hidrolítica bloqueada pelos inibidores de beta-lactamase, como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam e os carbapenêmicos (BARBOSA, 2020; BRADFORD, 2001).

Através de um estudo sistemático da genética da resistência à penicilina em *E. Coli*, mutações com resistência aumentada identificadas foram denominadas AmpA e AmpB. As cepas AmpA superproduziu β -lactamase, sugerindo um papel regulador e a AmpB apresentou um envelope celular alterado. No entanto, as cepas AmpC produziram pouca ou nenhuma β -lactamase, concluindo que a AmpC é o gene estrutural para a enzima. As nomenclaturas Amp foram alteradas ao longo dos anos, exceto a denominação AmpC que persistiu. Esta difere da sequência de β -lactamases do tipo penicilinase como TEM-1, mas, assim como elas, possuem serina em seu sítio ativo (JACOBY, 2009; MEINI, 2019).

As alterações de aminoácidos nas β -lactamases TEM e SHV deram origem a enzimas de espectro estendido com substrato mais amplo. Inserções, deleções e substituições de aminoácidos aumentaram a eficiência catalítica das beta-lactamases AmpC. Desse modo, tem-se que o risco de induzir a produção destas enzimas varia por β -lactâmicos e por espécie, o que dificulta as opções terapêuticas (MEINI, 2019).

Historicamente, o *Staphylococcus aureus* foi descoberto em 1880 quando Alexander Ogston o isolou de uma infecção de ferida. Quando isolado, foi capaz de produzir abscessos em cobaias e camundongos. Logo após, Louis Pasteur reforçou este fato ao injetar pus de infecções estafilocócicas humanas em animais notando a produção de abscessos. Em seguida, Ogston (1882) aplicou o termo *Staphylococcus* para o gênero e Rosenbach (1884) os dividiu nas espécies *S. aureus* e *S. albus*. Esses termos permaneceram até 1939, quando através do teste de coagulase, Cowan diferenciou o *Staphylococcus epidermidis*. Vale ressaltar que, o *S. aureus* é um dos primeiros patógenos descritos e continua sendo uma das causas mais comuns de infecções em humanos e de infecções hospitalares. Curiosamente, mantém um bom controle de seus fatores de virulência e, na maioria das vezes, raramente causa infecções graves com risco de vida em indivíduos saudáveis (LAKHUND *et al.*, 2018).

A descoberta da penicilina por Alexander Fleming gerou uma euforia à classe médica e científica, dado o número expressivo de novas moléculas com aplicabilidade clínica. O cenário era tão otimista que foi dada pouca importância aos primeiros indícios de resistência à penicilina. Dentro de poucos anos após o desenvolvimento deste antibiótico semissintético, a meticilina, foi identificada a primeira cepa de *Staphylococcus aureus* resistente, o MRSA. Anteriormente, essa resistência estava associada apenas a ambientes de saúde, como hospitais, e a pessoas associadas a esses ambientes. No entanto, a mesma emergiu como uma das principais causas de infecções associadas à comunidade e criou reservatórios em ambos os ambientes (LAKHUND *et al.*, 2018).

Em enterobactérias, as primeiras carbapenemases foram descritas em 1982, do tipo SME-1 (*Serratia marcescens* enzyme) e a primeira carbapenemase transferível foi relatada no ano de 1991 em uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. Pouco depois, OXA-23 em *Acinetobacter baumannii* e KPC-1 em *Klebsiella pneumoniae*. Nos anos seguintes, organismos produtores de carbapenemases mediadas por plasmídeos já estavam espalhados pelo mundo associados a um elevado índice de mortalidade (RODRIGUEZ-GOMEZ, 2020).

Genes codificadores de carbapenemases geralmente estão situados em transposons, transportados por plasmídeos auto conjugativos que podem também transportar outros determinantes de resistência que culminam na falha ao tratamento com outras classes de antibióticos. Além do grande potencial de espalhar esses plasmídeos entre espécies ou até gêneros bacterianos (RODRIGUEZ-GOMEZ, 2018; VASCONCELOS, 2018).

O fato de muitos genes codificadores de β -lactamases viajarem juntos em elementos móveis com fatores de resistência transmissíveis para outras classes de antibióticos significa que a resistência pode surgir devido a uma multiplicidade de pressões de seleção (BUSH, 2018).

2.6.2 FATORES DE RISCO

O uso excessivo de β -lactâmicos na prática clínica e a pressão seletiva de ocorrência natural criou um ambiente em que enzimas de resistência representam um cenário preocupante para o tratamento de infecções. Os fatores de risco associados às infecções comunitárias por beta-lactamases incluem a diabetes *mellitus*, as infecções urinárias recorrentes, a hospitalização prévia, o uso prévio e irracional de antimicrobianos e a idade avançada. No caso de pacientes hospitalizados, a história prévia de infecção por beta-lactamases, doenças graves, cirurgia recente, ventilação mecânica, uso de cateteres (arterial, venoso central e urinário), hemodiálise, sondas para alimentação e exposição recente a antibióticos de amplo espectro colaboram para aumentar a susceptibilidade do paciente a estas bactérias multirresistentes (LIMA, 2020; NETO, 2021).

2.6.3 SIGNIFICADO CLÍNICO DA DETECÇÃO

Os pacientes acometidos com infecções causadas por microrganismos produtores de beta-lactamases têm um elevado risco de falha no tratamento com antimicrobianos beta-lactâmicos. Por isso é recomendado que qualquer microrganismo em que a produção dessas enzimas for confirmada seja reportado como resistente independentemente dos resultados obtidos no teste de sensibilidade. Pois, segundo o *Clinical Laboratories Standards Institute*, enquanto algumas cepas apresentam resistência evidente aos beta-lactâmicos, muitos isolados podem não ser fenotipicamente resistentes (CLSI, 2021).

A prevalência das beta-lactamases, a alta transmissibilidade e a letalidade das infecções causadas pelas cepas produtoras decorrem devido ao uso em excesso desses fármacos. De acordo com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), a produção de carbapenemases em isolados clínicos é uma das ameaças mais preocupantes pois podem conferir resistência a praticamente todos os β -lactâmicos e geralmente estão associados a altas taxas de mortalidade (BUSH, 2013; BUSH, 2018).

As cepas de ESBL podem ser reconhecidas em todo o mundo devido à expansão clonal de organismos produtores de ESBL, da transferência horizontal de genes de ESBL em plasmídeos e, menos comumente, surgimento de novas enzimas. Os grupos de maior importância clínica de ESBLs são as enzimas CTX-M, seguido de SHV e ESBLs derivados de TEM. Esta produção é observada principalmente em Enterobacteriaceae, inicialmente em ambientes hospitalares, mais tarde, na comunidade. A prevalência de isolados ESBL positivo

depende de uma série de fatores, incluindo a espécie, a localidade geográfica, hospital/ala, grupo de pacientes e tipo de infecção, dentre outros. Bem como os isolados produtores de AmpC que têm sido detectados globalmente, como resultado da disseminação clonal e a transferência horizontal de genes AmpC. As principais espécies produtoras de AmpCs adquiridas são *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella enterica* e *P. mirabilis*. Embora as AmpCs adquiridas tenham se disseminado amplamente e terem sido reportadas em estudos multicêntricos de resistência de enterobactérias às cefalosporinas de terceira geração, a sua frequência global tem se mantido muito abaixo daquela das ESBLs. No entanto, em alguns locais e situações epidemiológicas específicas, o significado de organismos produtores dessas enzimas pode aumentar substancialmente (BRCAST, 2022).

O *S. aureus* resistente à meticilina é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Infecções por MRSA são endêmicas tanto em hospitais quanto na comunidade em todas as partes do mundo. A visualização do quadro clínico do paciente é influenciada pelo tipo de infecção e se o paciente está efetivamente infectado ou apenas colonizado. Sendo, as internações prolongadas, o aumento dos custos no tratamento e a maior mortalidade dos pacientes associada a falha em iniciar a antibioticoterapia adequada desde o início da infecção. Este fato induziu ao aumento do uso de carbapenêmicos em muitas instituições, o que resultou em aumento da resistência a esta classe de antimicrobianos (BRCAST, 2022).

2.7 MEDIDAS DE CONTROLE

Neste viés, o manual “Medidas de Prevenção e Infecção Relacionada à Assistência à Saúde” publicado pela ANVISA (2017) preconiza que o treinamento da equipe de saúde deve estar alinhado às medidas de proteção como higienização das mãos no ambiente comunitário e hospitalar, promovendo campanhas educativas descrevendo a periodicidade e técnica. Medidas como esta são reconhecidas por instituições como Organização Mundial de Saúde (OMS), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e ANVISA como a medida preventiva mais eficaz contra transmissão cruzada de microrganismos em serviços de saúde, impactando positivamente na redução e controles de infecções há mais de 150 anos. Ao conhecer essas medidas, a equipe de saúde está apta a conduzir a população, por meio de estratégias de educação em saúde (SOUSA *et al.*, 2015).

De acordo com a ANVISA (2012), é importante que o Serviço de Limpeza e Desinfecção de Superfícies em Serviços de Saúde seja eficaz no sentido de manter o ambiente

higienizado, reduzindo as chances de transmissão de infecções. Dentre as medidas de controle estabelecidas descritas na literatura tem-se a pesquisa da colonização, detecção de β -lactamases, estabelecimento de barreiras de contato, isolamento de pacientes infectados com bactérias multirresistentes, medidas de higienização e a realização de culturas de vigilância para pesquisa em objetos inanimados (GOMES e MORAES, 2018).

Todos os profissionais de saúde que interagem com o paciente infectado devem tomar precauções que limitem o risco de disseminação entre pacientes. Como por exemplo, realizar o isolamento em ambiente privativo, utilizar aventais e luvas ao entrar em contato com o paciente e removê-los antes de sair e os quartos ou leitos dos pacientes infectados devem passar por uma desinfecção rigorosa, a vigilância associada ao tratamento profilático é um passo importante para controlar as taxas de infecção. Além disso, as investigações epidemiológicas podem ajudar a detectar fontes de contaminação e direcionar medidas preventivas. Bem como, a prescrição consciente e o uso racional de antibióticos. Ainda que as medidas citadas não sejam suficientes para combater a resistência bacteriana já estabelecida, o cumprimento destas estratégias é fundamental para retroceder o surgimento de outras formas de resistência (HASSOUN, 2017; SOUSA *et al.*, 2015).

2.8 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE ESBL E TÉCNICAS MICROBIOLÓGICA

Dentre os diversos métodos fenotípicos baseados na inibição *in vitro* da atividade de ESBL por ácido clavulânico, recomenda-se para fins de detecção: o teste do disco combinado (TDC), o teste de sinergismo de duplo disco (TSDD), o teste de gradiente ESBL e o teste de microdiluição em caldo. Os fabricantes de sistemas automatizados de testes de sensibilidade implementaram testes de detecção baseados na inibição de enzimas ESBL pelo ácido clavulânico. Entretanto, vale ressaltar que os desempenhos dos métodos de confirmação diferem em diferentes estudos, dependendo da coleção de cepas testadas e do equipamento utilizado (BRCAST, 2022). Os testes mais utilizados estão descritos a seguir:

O teste do disco combinado utiliza-se discos de cefalosporina isoladamente (cefotaxima, ceftazidima, cefepime) e em combinação com o ácido clavulânico. O halo de inibição em torno do disco de cefalosporina combinado com o ácido clavulânico é comparado com o halo em torno do disco com a cefalosporina isolada. O teste é positivo se o diâmetro do halo de inibição com o disco combinado for pelo menos 5 mm maior do que aquele com o disco sem o ácido clavulânico (BRCAST, 2022).

Já o teste de sinergismo de disco duplo (TSDD), os discos contendo as cefalosporinas (cefotaxima, ceftazidima, cefepime) são aplicados à placa próximos ao de amoxicilina+ácido clavulânico. Quando as zonas de inibição em torno de qualquer um dos discos de cefalosporinas são aumentadas na direção do disco que contém o ácido clavulânico, tem-se um resultado positivo. A distância entre os discos deve ser criteriosa e 20 mm de centro a centro parece ser a distância ótima para discos de cefalosporinas de 30 µg. No entanto, pode ser reduzida (15 mm) ou aumentada (30 mm) para testar as cepas com níveis muito elevados ou baixos de resistência. Esta é a técnica mais utilizada no laboratório de análises clínicas pois apresenta baixo custo e fácil acesso à metodologia e aplicabilidade. Após identificar a produção de ESBL, o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) recomenda a liberação do antibiograma como resistente a todas as penicilinas, cefalosporinas e aztreonam, mesmo que se mostrem sensíveis a esses antimicrobianos nos testes convencionais (BRCAST, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência dos fenótipos de bactérias que caracterizam as enzimas de resistência antimicrobianos como ESBL, AmpC, penicilinase e carbapenemases em amostras de uroculturas que ocorreram no ambiente comunitário.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o percentual de bactérias produtoras de beta-lactamases em uroculturas de origem comunitária;
- Comparar o gênero e idade dos pacientes em relação a infecções do trato urinário causadas por bactérias produtoras de enzimas de resistência no ambiente comunitário;
- Relacionar espécie bacteriana e enzima de resistência de maior incidência em uroculturas no ambiente comunitário;
- Esclarecer o perfil de resistência de bactérias produtoras de ESBL a outros antibióticos não beta-lactâmicos como forma de viabilizar o tratamento empírico de infecções urinárias.

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de pesquisa

O presente trabalho consiste em um estudo prático, laboratorial, descritivo, de abordagem quali-quantitativa.

4.2 Desenvolvimento da pesquisa

4.2.1 Dados obtidos

Os dados dos experimentos foram obtidos a partir de planilhas de um laboratório privado em Campina Grande-PB, utilizando resultados de uroculturas, de testes de sensibilidade aos antibióticos e a detecção fenotípica da produção de beta-lactamases pelas bactérias que constam nas planilhas com dados correspondentes ao período de janeiro de 2020 a dezembro de 2021.

As cepas das bactérias foram isoladas e identificadas através de métodos adotado no laboratório citado, constando de inoculação primária e em meios de rotina e identificação das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas utilizando provas bioquímicas.

4.2.2 Metodologia

4.2.2.1 Urocultura

As uroculturas do estudo foram realizadas através da técnica de semeadura quantitativa em placas de Ágar Brolacin (Kasvi) e Agar EMB (Kasvi), em que se homogeneizou urina e, com auxílio de alças calibradas (0,01 ou 0,001 mL), realizou-se o esgotamento do material em uma linha central, fazendo estrias com auxílio da própria alça nos meios de cultura. Em seguida, incubou-se as placas e posteriormente, realizou-se a análise do crescimento.

4.2.2.2 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

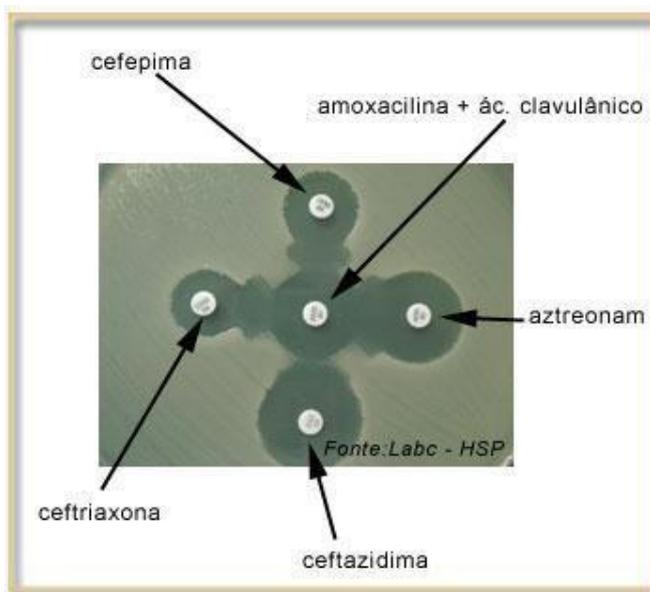
As bactérias isoladas e identificadas foram submetidas a testes de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de Kirby-Bauer, segundo os padrões recomendados pelo BrCAST (*Brazilian committee on antimicrobial susceptibility testing*, 2020). Os antimicrobianos testados

para as bactérias Gram-negativas foram: amicacina, amoxicilina+clavulanato, imipinem, meropenem, ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino, gentamicina, cefuroxima, nitrofurantoína e sulfametoxazol+trimetropina. Para as Gram-positivas, testou-se a oxacilina/cefoxitina para definição se a bactéria é MRSA.

4.2.2.3 Testes fenotípicos para pesquisa de enzimas de resistência

Testes confirmatórios da produção de ESBL e AmpC foram realizados através da técnica de disco aproximação, utilizando discos de antibióticos. Foram utilizados discos de 30µg de aztreonam, cefepime, ceftazidima, cefotaxima e amoxicilina associada ao ácido clavulânico devidamente posicionados a 3,5cm de distância do disco central de amoxicilina+clavulanato. Os resultados da produção de ESBL foram considerados positivos se após a leitura das placas, incubadas a 35°C por 24 horas, houver a presença da “ghost zone” ou zona fantasma, conforme Figura 2 (KAZEMIAN et al., 2019; SOUZA, 2010).

Figura 2 – Formação da “ghost-zone”

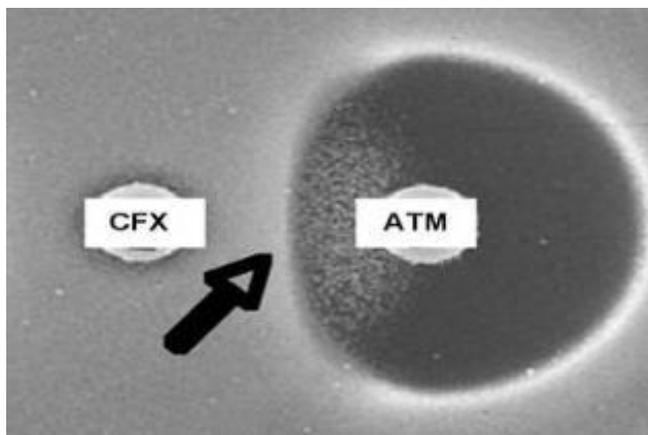


Fonte: Anvisa, 2007.

Para o teste de detecção de AmpC, a melhor maneira de observar este fenômeno à nível fenotípico é através da metodologia da aproximação do disco. Nesta metodologia, colocou-se um disco de cefoxitina próximo a um disco de aztreonam ou outro beta-lactâmico para induzir

a formação do halo característico para a formação de uma zona em forma de “D” entre os dois discos, conforme a Figura 3 (KAZEMIAN et al., 2019).

Figura 3 – Presença da zona em forma de “D”



FONTE: Dalmarco, 2006.

A detecção enzima carbapenemase foi estabelecida no laboratório estudado pela simples resistência da bactéria aos antibióticos carbapenêmicos, não sendo necessário, de acordo com o CLSI (2021) a realização do teste de Hodge.

A detecção de cepas MRSA foram definidas através da resistência do *Staphylococcus aureus* ao disco de oxacilina/cefoxitina.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período entre os anos de 2020 e 2021 foram estudadas 10.487 amostras de uroculturas de um laboratório clínico privado da cidade de Campina Grande-PB, objetivando analisar a produção de beta-lactamases por bactérias Gram-negativas de origem comunitária.

Na tabela 1, observa-se que, de 10.487 amostras de uroculturas estudadas no laboratório comunitário, 1,52% (159) apresentou crescimento de bactérias produtoras de beta-lactamases enquanto 98,48% (10.328) foram negativas para produção dessas enzimas de resistência.

Tabela 1 – Bactérias produtoras de beta-lactamases em uroculturas de origem comunitária entre os anos de 2020/2021.

Presença de Beta-lactamases	Nº	%
Sim	159	1,52
Não	10.328	98,48
TOTAL	10.487	100

FONTE: Dados da pesquisa, 2022.

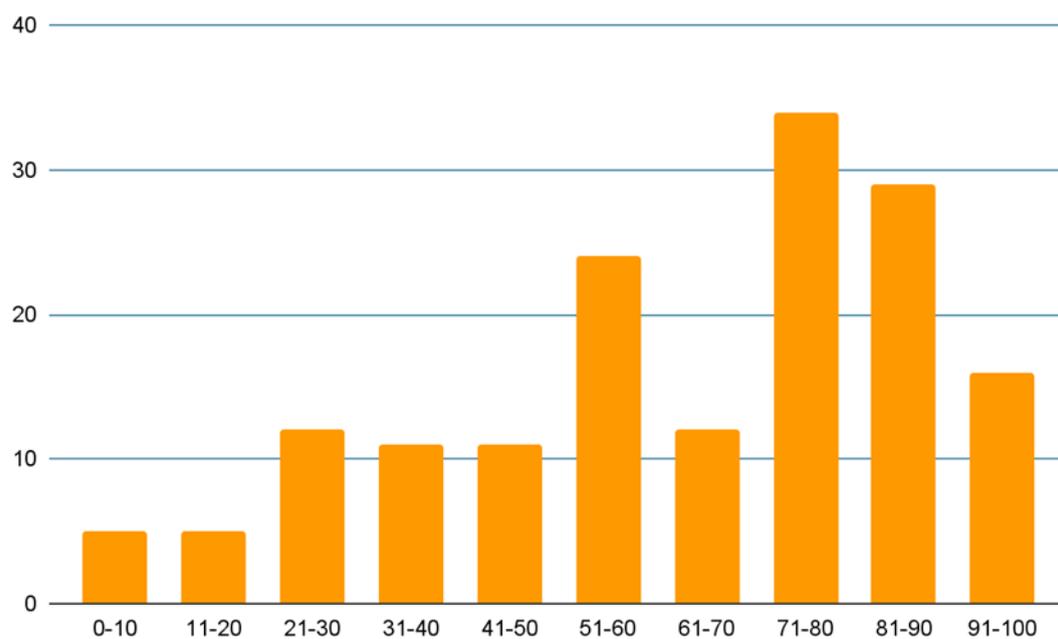
Pereira *et al* (2019) na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, observou em laboratório comunitário que de 4.536 amostras de uroculturas analisadas no ano de 2016, uma porcentagem de 3,97% (n=180) demonstrou produção de beta-lactamases, dentre elas: ESBL, AmpC, MRSA e KPC.

Na pesquisa de Abreu e colaboradores (2013), de um total de 5.672 amostras de urina coletadas em um laboratório de diagnóstico privado, localizado em São Luís, Brasil foram encontradas 51,5% (n= 472) enterobactérias, dos quais 7,6% eram produtores de β -lactamases.

Estes dados demonstram a presença de beta-lactamases no âmbito comunitário e destacam a importância da realização da pesquisa destas enzimas na rotina laboratorial independente do paciente estar hospitalizado ou não, visto que, a notificação das resistências aos antibióticos estabelecidos a partir do conhecimento que a bactéria é produtora de enzimas de resistência, é imprescindível para melhor nortear a decisão terapêutica do médico. Sabe-se que uma das opções terapêuticas atuais para tratamento de infecções urinárias são antibióticos que apresentam anel beta-lactâmico como penicilinas e seus derivados como cefalosporinas,

dentre estas, as cefalexinas que são indicadas para pacientes grávidas. Tais antibióticos são passíveis de sofrerem a ação das enzimas beta-lactamases e, ao serem destruídos *in vivo*, não apresentarão o efeito terapêutico esperado. Neste caso, outros antibióticos seriam administrados no paciente em questão.

Gráfico 1 – Idade dos pacientes infectados com bactérias produtoras de beta lactamases no período entre 2020/2021.



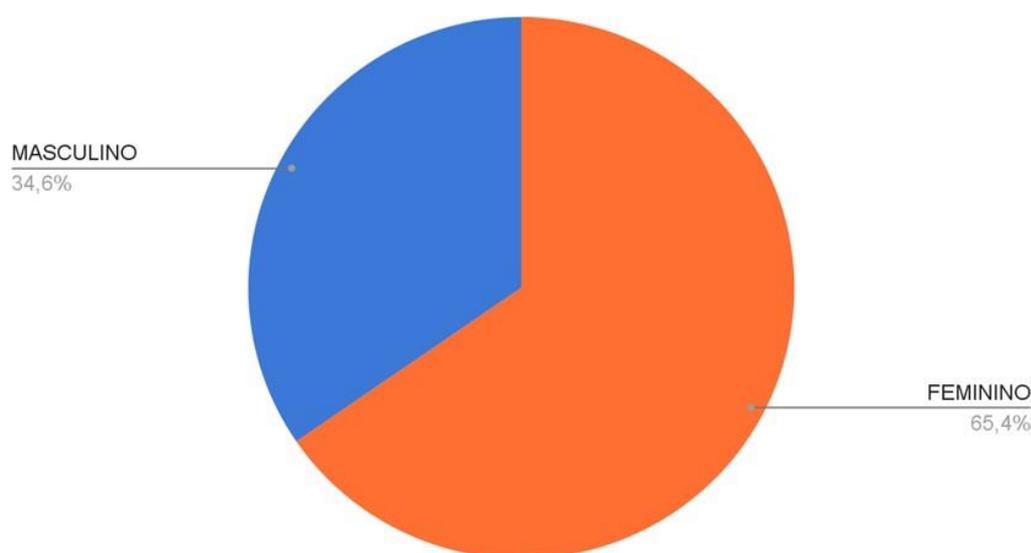
No gráfico 1, estão demonstradas as faixas etárias dos pacientes infectados com bactérias produtoras de beta-lactamases no período entre os anos de 2020 e 2021. Observa-se que as cepas produtoras de beta-lactamases estão presentes em todos os grupos etários com incidência aumentada na faixa etária entre 71 a 80 anos, seguidos de 81-90 anos, 51-60 anos e 91-100 anos, e assim por diante.

Neste estudo, a houve prevalência de infecções urinárias em pacientes com idade ≥ 51 anos, o que foi igualmente verificado em outros estudos.

O estudo desenvolvido por Silva e colaboradores (2014) se dedica em avaliar a prevalência de ITU em faixas etárias mais elevadas devido à maior susceptibilidade deste grupo. Koksal e colaboradores (2019) apontam que a idade avançada é um fator de risco para o surgimento de infecções urinárias por microrganismos Gram-negativos e, conseqüentemente por bactérias ESBL positivas. O que leva a correlacionar a ITU com outros fatores decorrentes do avanço da idade como doenças neurológicas e diabetes, pois dificulta o esvaziamento da

bexiga, favorecendo a colonização bacteriana. Como também, alterações morfofuncionais da bexiga como a perda da força muscular na região geniturinária e diminuição do jato miccional, o que está relacionado com a presença do resíduo urinário após a micção (CORNELI, 2018; SILVA, 2014).

Gráfico 2 –Caracterização do gênero dos pacientes infectados com bactérias produtoras de beta-lactamases no período entre 2020/2021.



FONTE: Dados da pesquisa, 2022.

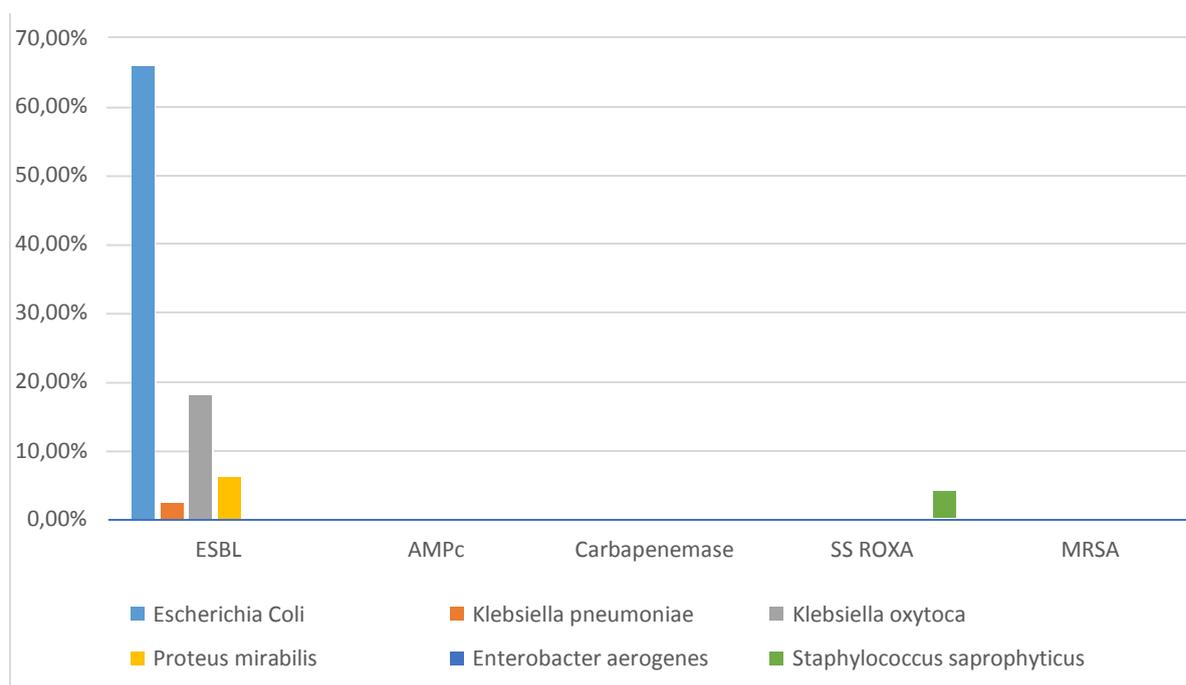
No gráfico 2, observa-se a maior incidência do gênero feminino em uroculturas positivas com produção de beta-lactamases. Nesta pesquisa, as pessoas do gênero feminino estão predominando em uma porcentagem de 65,4% (n=104) enquanto que o gênero masculino se apresenta em 34,6% (n=55).

Segundo Silva (2014), em um laboratório clínico em Goiás (LAC/PUC), das amostras analisadas 29% (n=286) foram positivas para produção de beta-lactamases. Destas, 76,2% (n=218) eram casos de ITU acometidas ao gênero feminino enquanto que 23,8% (n=68) do masculino.

Em um estudo desenvolvido por Silva e colaboradores (2014), o gênero feminino foi o mais acometido perfazendo 88,4% dos casos, concordando com os estudos anteriores que também demonstraram a alta prevalência deste grupo.

A explicação para a predominância de bactérias produtoras de ESBL em pacientes do gênero feminino é que estas são mais susceptíveis às infecções urinárias. A probabilidade de uma mulher na fase adulta desenvolver ITU é cinquenta vezes superior quando comparada ao gênero masculino. A maior susceptibilidade do gênero feminino às ITUs relaciona-se à anatomia da uretra ser mais curta e da proximidade da genitália com o ânus, tendo a via ascendente como a principal forma de contaminação (REZENDE *et al.*, 2022).

Gráfico 3 – Tipos de beta-lactamases encontradas em bactérias isoladas de uroculturas.



ESBL: enzima de espectro estendido; SS ROXA: *Staphylococcus saprophyticus* resistente à oxacilina; MRSA: *Staphylococcus* resistente à meticilina.

FONTE: Dados da pesquisa, 2022.

O gráfico 3 indica que, em 159 (1,52%) uroculturas, foram isoladas bactérias produtoras de ESBL, sendo que destas, *Escherichia coli* apresentou o maior percentual de produção da citada enzima com 66,04% (n=107), seguido de *Klebsiella oxytoca*, 18,24% (n=29), *Proteus mirabilis*, 6,29% (n=10), *Klebsiella pneumoniae*, 2,51% (n=4) e *Enterobacter aerogenes*, 1,26% (n=3). Dentre as bactérias *E. coli* encontradas, 1,26% (n=2) também foram produtoras da enzima carbapenemase.

Em relação à presença da enzima AmpC, neste estudo não foram encontradas bactérias produtoras da mesma.

Há alguns anos atrás, apenas as enterobactérias pertencentes ao grupo CESP (*Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens* e *Providencia spp.*) eram alvos das

pesquisas de beta-lactamases. Entretanto, na atualidade, começou-se a perceber que a produção destas enzimas ocorre em todas as enterobactérias, visto que, assim como é demonstrado pelo gráfico 3, outras cepas além do grupo CESP também são produtoras de tais enzimas (ROSSI *et al*, 2005).

Em uma pesquisa desenvolvida por MONIZ *et al* (2016) foram encontradas na comunidade 7,05% (n= 3.229) de cepas produtoras de ESBL e 0,05% (n=22) de cepas produtoras de carbapenemases. Neste estudo podemos demonstrar de forma comparativa que a resistência microbiana por produção de enzimas de resistência também é crescente em pacientes comunitários.

De acordo com o *Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) publicado em 2017, a prevalência de *E. coli* produtoras de ESBL foi de 16,1%, estando acima da média europeia (12,4%) e tendo sofrido um aumento de 0,4% entre 2014 e 2016. Altas porcentagens de *E. coli* produtoras de ESBL foram reportados à EARS-Net ao longo de vários anos. Demonstrando que, a prevalência de *Escherichia coli* produtora de ESBL vem crescendo nos últimos anos mundialmente, tal como revela os dados do presente estudo.

Já no âmbito hospitalar, Andrade *et al* (2022) em um estudo desenvolvido em Fortaleza, CE, observou que as uroculturas apresentam maior frequência de infecções por bactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) com 74,3% (n=26). Tal como Garcia e colaboradores (2013), que em um hospital localizado em Minas Gerais encontraram 40,9% (n=18) uroculturas com a presença de bactérias produtoras de ESBL.

Nota-se que os percentuais hospitalares de bactérias produtoras de ESBL são muito mais elevados que as encontradas na comunidade, o que já se era de esperar, considerando a frequência e habitualidade com que se utiliza antibióticos em hospitais, naturalmente desencadeando nas bactérias a possibilidade de desenvolver vários mecanismos de resistência aos antibióticos. Porém, está aqui claramente demonstrado que a produção de enzimas de resistência como ESBL estão amplamente disseminadas, não apenas em hospitais, como também na comunidade.

Amostras produtoras de AmpC são citadas com menor frequência ou associada a outra multirresistência, segundo dados da literatura, corroborando com os resultados deste estudo em que a AmpC não apareceu nas amostras urinárias.

Na presença de algumas destas enzimas tem-se a resistência específica a alguns antibióticos. No caso da identificação da ESBL, tem-se a resistência às cefalosporinas de 1^a, 3^a e 4^a geração, aztreonam. Enquanto que a AmpC representa resistência às cefalosporinas de 1^a,

2ª e 3ª geração, aztreonam, amoxicilina+clavulanato e ampicilina. Sendo identificadas através da demonstração de formação fenotípica com a formação das “ghost zones” e do achatamento em “D” no antibiograma, respectivamente. Ainda que o antibiograma sugira susceptibilidade aos antibióticos citados, é importante reportar como resistente para evitar equívoco no tratamento, ou seja, o surgimento de um halo de sensibilidade na placa, nem sempre significa possibilidade de boa ação terapêutica do mesmo *in vivo*, notadamente quando a bactéria é produtora de alguma enzima de resistência (BRCAST, 2022)

Dentre as bactérias Gram-positivas, não foram encontrados, no presente trabalho, *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA), já que estas bactérias não aparecem com frequência como causadores de infecções neste sítio anatômico, porém destaca-se a presença de *Staphylococcus saprophyticus* resistentes à oxacilina (SS ROXA) que apareceu em 3,77% (n=4) das uroculturas.

Looney e colaboradores (2017) identificaram 29,1% de MRSA em pacientes hospitalares e 26,9% em pacientes comunitários, indicando que essa infecção não se adquire apenas em ambiente hospitalar. Neste estudo, não foi identificada amostra positiva para MRSA na comunidade, provavelmente porque a incidência desta bactéria em uroculturas é muito baixa. As PBPs (*Penicillin Binding Proteins*) atuam no processo de biossíntese da parede celular bacteriana e funcionam como o sítio de ação dos beta-lactâmicos. O mecanismo de resistência de *Staphylococcus spp.* é mediada pelo gene *mecA* que codifica uma proteína de ligação à penicilina, a PBP2. Uma vez alterada, esta proteína impede a atividade funcional bactericida dos antibióticos beta-lactâmicos como metilina/oxacilina (ANVISA, 2022).

O MRSA apesar de poder atuar de forma comensal no corpo humano, pode ser uma bactéria oportunista, associada a diversos casos de óbitos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) e aos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), o MRSA tem sido uma grande e séria ameaça dentre as bactérias patogênicas.

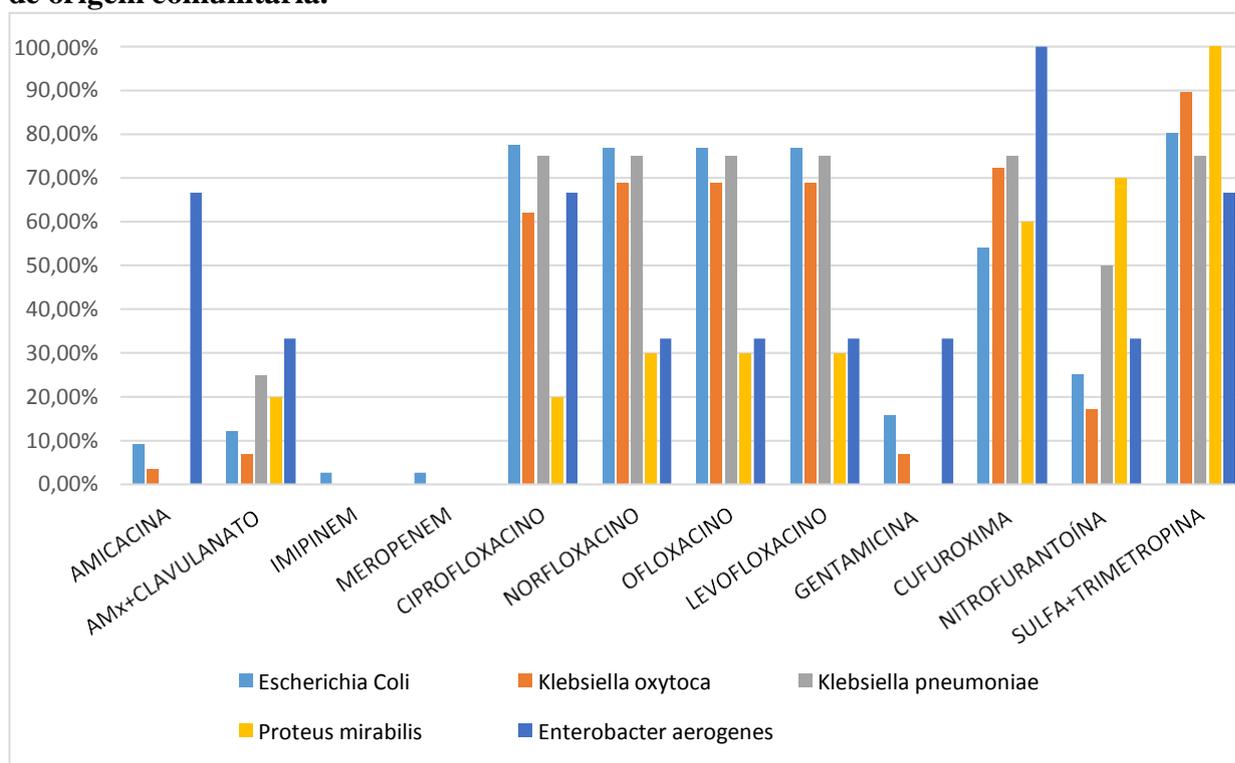
Existem diversas metodológicas capazes de identificar cepas MRSA, no entanto, em destaque tem-se o método de disco-difusão que consiste em colocar os discos contendo o agente antimicrobiano na superfície da placa de ágar contendo a suspensão bacteriana e a determinação da zona de inibição formada ao redor do disco após o período de incubação sugere a presença ou não da resistência a oxacilina/metilina (MASIMEN, 2022; SANTOS, 2012).

O estudo de Alharbi (2020) concluiu que a prevalência de bactérias resistentes a oxacilina em pacientes hospitalizados é superior quando comparado aos pacientes não hospitalizados. Fato expresso no presente estudo através da pequena amostragem de cepas de *Staphylococcus saprophyticus* resistente à oxacilina. Nesse sentido, se evidencia a possibilidade

de falha no tratamento no caso de o paciente submeter-se a um tratamento com o uso de penicilinas e cefalosporinas (1^a, 2^a, 3^a e 4^a geração) e com carbapenêmicos (BRCAS, 2022).

Ainda que o padrão de semelhança entre os agentes de ITUs se mantenha em diferentes regiões do mundo, algumas variações podem ocorrer quanto à sensibilidade dos antimicrobianos devido ao histórico de utilização de antibióticos de cada população e região (BRAIOS, 2009).

Gráfico 4 – Perfil de resistência das cepas produtoras de ESBL isoladas em uroculturas de origem comunitária.



FONTE: Dados da pesquisa, 2022.

No Gráfico 4, estão demonstradas as resistências aos antibióticos utilizados na rotina do laboratório frente às bactérias Gram-negativas produtoras de ESBL.

Para tratamento de infecções causadas por bactérias produtoras de enzimas de resistência, sabe-se previamente que as penicilinas, aztreonam e cefalosporinas, não devem ser escolha terapêutica, pois estes serão destruídos pelas beta-lactamases, restando alguns antibióticos que poderiam ter ação efetiva. No gráfico 4, dada a ausência de cepas produtoras de AmpC, considerou-se o perfil de sensibilidade da cefuroxima, uma cefalosporina de segunda geração considerada sensível para produtores de ESBL. Ressalta-se que, neste caso para tratamento comunitário, a melhor escolha são os antibióticos orais como

sulfametoxazol+trimetropina, ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino nitrofurantoína. Apenas diante de resistências a estes antibióticos, a escolha é voltada para antibióticos não orais como gentamicina, amicacina e, em último caso, imipinem e meropenem (BADER *et al.*, 2020).

Abaixo estão descritas as bactérias e seus perfis de resistência aos antibióticos que poderiam ser utilizados como opção terapêutica no caso de os pacientes serem portadores de cepas produtoras de beta-lactamases.

Dos isolados de *Escherichia coli* produtoras de ESBL, 80,37% (n=86) foram resistentes ao sulfametoxazol+trimetropina, 77,57% (n=83) ao ciprofloxacino, 76,74% (n=82) ao norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino, 54,20% (n=56) à cefuroxima, 25,24% (n=27) à nitrofurantoína, 15,89% (n=17) à gentamicina, 12,15% (n=13) à amoxicilina+clavulanato, 9,35% (n=10) foram resistentes à amicacina e gentamicina e 2,7% (n=2) resistentes ao imipinem e ao meropenem.

Das cepas isoladas de *Klebsiella oxytoca*, 89,65% (n=26) foram resistentes à sulfametoxazol+trimetropina, 72,42% (n=21) à cefuroxima, 68,97% (n=20) ao norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino, 62,07% (n=18) ao ciprofloxacino, 17,25% (n=5) à nitrofurantoína, 6,9% (n=2) à amoxicilina+clavulanato e à amicacina e gentamicina, e não houve resistência ao imipinem e ao meropenem.

Dos isolados de *Klebsiella pneumoniae*, 75% (n=3) foram resistentes à sulfametoxazol+trimetropina, ao norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino, ciprofloxacino e à cefuroxima, 50% (n=2) à nitrofurantoína, 25% (n=1) à amoxicilina+clavulanato e não houve resistência à amicacina, gentamicina, imipinem e meropenem.

Das cepas isoladas de *Proteus mirabilis*, 100% (n=10) foram resistentes à sulfametoxazol+trimetropina, 30% (n=3) ao norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino, 60% (n=6) à cefuroxima, 70% (n=7) à nitrofurantoína, 20% (n=2) à amoxicilina+clavulanato e ciprofloxacino, e não houve resistência à amicacina, gentamicina, imipinem e meropenem.

E por fim, das cepas isoladas de *Enterobacter aerogenes*, 66,67% (n=2) foram resistentes à sulfametoxazol+trimetropina, amicacina e ao ciprofloxacino, 33,33% (n=1) ao norfloxacino, ofloxacino, levofloxacino, nitrofurantoína, gentamicina, amicacina e à amoxicilina+clavulanato, e não houve resistência ao imipinem e meropenem.

Os resultados do presente estudo demonstram elevada resistência ao sulfametoxazol+trimetropina em todas as cepas isoladas estudadas. Assim como às fluoroquinolonas (ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino) que também demonstraram um padrão elevado de resistência. Resistências menores foram observados em

amoxicilina+clavulanato e nitrofurantoína. Os antibióticos injetáveis apresentaram perfil de resistência favoráveis para utilização (amicacina, gentamicina, imipinem e meropenem).

Os beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas) são fármacos de escolha em quase todas as infecções, exceto na infecção urinária, que a opção terapêutica mais adequada são as quinolonas. O protocolo para o tratamento de infecção urinária não complicada do Hospital Universitário de Alagoas sugere a nitrofurantoína e a sulfametaxozol+trimetropina como fármacos de primeira escolha para o tratamento empírico (ANTUNES, 2021; DEL FIOLE *et al.*, 2010).

A pesquisa de Braios (2009) indica a sulfametoxazol+trimetropina para o tratamento de infecção não complicada do trato urinário se a resistência regional não ultrapassar 20%. Enquanto que, para ITUs complicadas, é indicado fluoroquinolonas como norfloxacino e ciprofloxacino. Já nos pacientes hospitalizados em estado grave, utiliza-se a antibioticoterapia empírica de amplo espectro, como piperaciclina+tazobactam e carbapenêmicos. Em decorrência do aparecimento de bactérias produtoras de beta-lactamases, o uso de drogas alternativas para o tratamento, como aminoglicosídeos e fluoroquinolonas, tornou-se crescente. Com a ampla administração destas, os carbapenêmicos passaram a ser incluídos como opção terapêutica das bactérias multirresistentes culminando no surgimento das carbapenemases.

Um fato que preocupa o meio científico é o aparecimento destas enzimas na comunidade, observada no gráfico 4 em cepas de *Escherichia coli* demonstrando uma ameaça para o tratamento dessas infecções visto que, há tempos atrás, eram apenas encontradas em hospitais, sendo que nos dias atuais estão sendo descritas cada vez mais presentes na comunidade. Embora o aparecimento de cepas resistentes aos carbapenêmicos se apresente em quantidade reduzida, é necessário manter-se vigilante e moderar o uso destes fármacos ou até mesmo evita-los sempre que possível, para que não se estimule o surgimento destas formas de resistência (SCHORNER, 2016).

O estudo desenvolvido por Pancotto (2019) revelou a forte relação encontrada entre as bactérias produtoras de ESBL e a resistência aos inibidores da síntese do folato, sulfametoxazol+trimetropina, apresentando-se resistentes em 100% das amostras. Estes dados coincidem com os do presente estudo em relação à resistência ao sulfametoxazol+trimetropina visto que, é de maior incidência em todas as cepas isoladas estudadas. Assim como as fluoroquinolonas (ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino) que demonstraram padrão elevado de resistência semelhante.

Os resultados do presente estudo demonstram elevada resistência ao sulfametoxazol+trimetropina em todas as cepas isoladas estudadas. Assim como às

fluroquinolonas (ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e levofloxacino) que também demonstraram um padrão elevado de resistência. Resistências menores foram observados em amoxicilina+clavulanato e nitrofurantoína. Porém, de acordo com o BrCAST (2022), a nitrofurantoína só apresenta boa ação terapêutica para cepas de *Escherichia coli*. Os antibióticos injetáveis apresentaram perfil de resistência favoráveis para utilização (amicacina, gentamicina, imipinem e meropenem).

Outro fato relevante observado por Rodrigues (2016) foi a resistência aos inibidores de beta-lactamases, como ampicilina+sulbactam e amoxicilina+ácido clavulânico, que chegou a 100%, e piperacilina+tazobactam, com 83,33% de cepas resistentes, resultado muito acima do encontrado por Lago e colaboradores que em seus estudos, observaram 32,6% de resistência a piperacilina+tazobactam.

No presente estudo, tem-se uma resistência considerável da amoxicilina+ácido clavulânico com uma média de 19,48%. Tal resistência surgiu não em função da degradação do antibiótico pela produção de beta-lactamases, pois o clavulanato associado à penicilina inibe a produção dessas enzimas. Provavelmente outros mecanismos estão envolvidos nesse processo de resistência como bomba de efluxo (que ejeta o antibiótico para fora da célula bacteriana) ou mutação de porinas (que ao sofrerem mutação, não permitirão a ligação do antibiótico com as porinas para penetração da célula bacteriana e seu consequente efeito de morte bacteriana) (GALLAGHER e MACDOUGALL, 2016).

De forma geral, os antibióticos mais adequados para a comunidade são aqueles utilizados por via oral por serem menos invasivos e mais convenientes. Destes, tem-se: amoxicilina+clavulanato, nitrofurantoína, ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e sulfametoxazol+trimetropina (GALLAGHER e MACDOUGALL, 2016).

Embora as quinolonas seja a classe dos antimicrobianos tipicamente utilizada no tratamento das ITUs, estas, demonstraram no presente estudo resultados questionáveis para aplicabilidade no tratamento empírico. A exemplo do ciprofloxacino, um antibiótico considerado moderno e utilizado rotineiramente no tratamento da ITU, que expressou um perfil de resistência considerável sugerindo incerteza quanto a sua eficácia em tratamento empírico (ANTUNES, 2021).

De acordo com o padrão de resistência observado neste estudo, tem-se que a amoxicilina+clavulanato como uma opção terapêutica favorável para o tratamento de infecções urinárias na comunidade. Entretanto, é importante ressaltar a atuação superior que alguns antibióticos exercem para o tratamento de infecção urinária, como aqueles que possuem uma

maior concentração na bexiga. Nesse sentido, a correlação da rápida excreção das penicilinas associada à meia-vida plasmática relativamente curta como um obstáculo no uso destes fármacos, a exemplo da amoxicilina para o tratamento de infecções bacterianas. Ainda, deve-se levar em consideração que as associações das penicilinas aos inibidores de beta-lactamases possuem pouca atividade antimicrobiana por conta própria. Visto que, estes inibidores contrariam as beta-lactamases através da imitação da estrutura dos beta-lactâmicos, em outras palavras, ligam-se irreversivelmente às enzimas de resistência impedindo a capacidade de destruir quaisquer beta-lactâmico permitindo o efeito terapêutico do antibiótico (GALLAGHER e MACDOUGALL, 2016; HANG *et al.*, 2016).

Concluindo que, embora a amoxicilina+clavulanato apresente um perfil de susceptibilidade favorável, a sua aplicação empírica no tratamento de infecções urinárias é questionável.

A nitrofurantoína também expressou no presente estudo um perfil de susceptibilidade promissor e podem estar associadas ao tratamento eficaz de infecções urinárias comunitárias. Pelo fato de possuírem uma excreção lenta, se concentram na bexiga favorecendo sua eficácia no tratamento das ITUs. De acordo com o BrCAST (2022) tal antibiótico tem ação terapêutica favorável apenas para *Escherichia coli*, cujo patógeno é predominante na maioria dos casos de infecções do trato urinário (GALLAGHER e MACDOUGALL, 2016).

A produção de beta-lactamases por bactérias Gram-negativas limita a opção terapêutica para tratamento de ITUs, sendo importante esclarecer, em nossa região, quais os antibióticos empíricos que poderiam ser bem utilizados para este tratamento.

5 CONCLUSÃO

- Das uroculturas identificadas 1,52% (n=159) apresentou cepas produtoras de beta-lactamases.
- Dentre elas, o gênero feminino e a faixa etária de pessoas ≥ 51 anos apareceram com mais frequência dentre as cepas produtoras de beta-lactamases.
- Das bactérias produtoras de ESBL, *Escherichia coli* foi a de maior incidência apresentando-se em 66,04% (n=107). Dado que já se era esperado, visto que a *E. coli* está relacionada à maioria das causas de infecção urinária.
- Não foram encontradas cepas produtoras de AmpC, concluindo que, associada ao fato da mesma não ser tão frequente quanto a ESBL, por exemplo, tem-se que por esta identificação fenotípica mais complexa, sendo necessário que o manipulador esteja devidamente treinado para identificá-las. Reforçando a importância do treinamento da equipe envolvida no laboratório microbiológico.
- Foi identificada 1,26% (n=2) de cepas de *E. coli* produtoras de carbapenemases. Embora esta possa ser considerada uma pequena amostragem, emite uma grande preocupação para o meio médico e científico, visto que essas enzimas eram restritas ao ambiente nosocomial e atualmente apresenta indícios da sua presença na comunidade, representando uma ameaça para as opções de tratamento disponíveis.
- Não foram identificadas cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina pois esta cepa está pouco relacionada a infecções do trato urinário. Dentre as Gram-positivas, foram identificadas 3,77% (n=4) de *Staphylococcus saprophyticus*, frequentemente associadas aos casos de ITU em mulheres jovens sexualmente ativas.
- Os antibióticos mais adequados para a comunidade são aqueles utilizados por via oral por serem menos invasivos e mais convenientes. Nesse sentido, a amoxicilina+clavulanato e a nitrofurantoína apresentaram-se como opções terapêuticas promissoras com relação a susceptibilidade. Entretanto, através do monitoramento das populações microbianas estudadas associadas às características farmacocinéticas obteve-se a nitrofurantoína como uma alternativa promissora no tratamento de infecções do trato urinário.
- Importante atribuir ao farmacêutico, a responsabilidade na disseminação de informações sobre a importância do uso racional de antibióticos, a começar no ato da dispensação nos ambientes comunitários.

- A aplicação deste modelo de estudo se faz necessário periodicamente neste e em outros serviços de saúde para evidenciar a realidade epidemiológica quanto a presença desses fenotípicos, ratificando a importância de um protocolo de vigilância.

REFERÊNCIAS

ABREU, A.G; MARQUES, S.G; MONTEIRO-NETO, V.G. Extended-spectrum β -lactamase producing enterobacteriaceae in community-acquired urinary tract infections in São Luís, Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, 469-471, 2013.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. **ANVISA**, 160p, vol 10, Brasília, 2020.

AMÂNCIO, F.L.; CARVALHO, I.K.; MENEZES, T.A.; JUNIOR, R.L.; NETO, A.G.; PINHEIRO, M.S. Fenótipos de resistência antimicrobiana epidemiologicamente importantes em culturas de vigilância de um serviço terciário de saúde em Aracaju-SE. **Vigil Sanit Debate**. Rio De Janeiro, v. 9, n. 2, p. 111-116, 2021.

ANDRADE, A.A; LIMA, A.C.; FREITAS, T.C.; PEDROZA, F.C.; RODRIGUES, A.B.; SOUSA, G.A.; OLIVEIRA, L.M.; CASTRO, D.F.; REIS, H.C.; OLIVEIRA, A.B.; PINHEIRO, A.N. Prevalência de β -lactamases e carbapenemases em culturas de receptores de rim atendidos em um hospital universitário do Ceará. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 13, n. 2, p. 755-755, 2022.

ANTUNES, Alberto. PROTOCOLO DE INFECÇÃO URINÁRIA. Universidade Federal de Alagoas. **Hospital Universitário UFAL**. Maceió, 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies. **ANVISA**. Brasília, 2012.

ALHARBI, N.S. Screening of antibiotic-resistant staphylococci in the nasal cavity of patients and healthy individuals. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 100– 105, 2020.

BADER, M.S.; LOEB, M.; LETO, D.; BROOKS, A.A. Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. **Postgraduate medicine**, v. 132, n. 3, p. 234-250, 2020.

BARROS, S.; KERBAUY, G.; DESSUNTI, E. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter: perfil de sensibilidade antimicrobiana. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste**. Ceará, 2013.

BARBOSA, T.A. Caracterização molecular de bacilos gram-negativos isolados em unidade de terapia intensiva neonatal e detecção fenotípica e molecular de esbl e carbapenemases. **Repositório UNESP**. São Paulo, 2020.

BRAIOS, A.; TURATII, T.; MEREDJJA, L.; CAMPOS, T.; DENADAI, F. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. **Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial**, v. 45, p. 449-456, 2009.

BRADFORD, P.A. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical microbiology reviews**, v. 14, n. 4, p. 933-951, 2001.

Brazilian committee on antimicrobial susceptibility testing. Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica. **BrCAST**, 2022.

BRYCE, A.; HAY, A.; LANE, I.; THORTON, H.; WOOTTON, M.; COSTELLOE, C. Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and association with routine use of antibiotics in primary care: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 352, 2016.

BUSH, K. Past and present perspectives on β -lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. e01076-18, 2018.

BUSH, K. Carbapenemases: partners in crime. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 1, n. 1, p. 7-16, 2013.

BUSH, K.; BRADFORD, Patricia A. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. **Clinical microbiology reviews**, v. 33, n. 2, p.47-19, 2020.

BUSH, K. The impact of beta-lactamases on the development of novel antimicrobial agents. **Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)**, v. 3, n. 9, p. 1284-1290, 2002.

Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing-TwentyEighth Informational Supplement. **CLSI**. USA, 2021.

CORNELLI, I. Prevalência e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas de pacientes com infecção do trato urinário (ITU) atendidos no hospital universitário. **Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)**, 2018.

DA SILVA, Ana Manoela Maria; CARDOSO, Alessandra Marques. Estudo das uroculturas de pacientes idosos atendidos no laboratório de análises clínicas da PUC. **Pontifícia Universidade Católica**. Goiás, 2014.

DALMARCO, E.M.; BLATT, S.L.; DE CORDOVA, C.M.M. Identificação Laboratorial de β -Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) – Revisão. **Revista de Análises Clínicas**, vol. 38(3): 171-177, 2006.

DEL FIOLE, F.S.; LOPES, L.C.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO-FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 68-72, 2010.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. **Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)**, 2017.

GARCIA, L.M.; CÉSAR, I.C.O.; BRAGA, C.A.; SOUZA, G.A.A.D.; MOTA, E.C. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, Santa Cruz do Sul, v. 3, n. 2, p. 45-49, 2013.

GALLAGHER, J.C.; MACDOUGALL, C. Antibiotics simplified. **Jones & Bartlett learning**, 2016.

GOMES, M. F.; MORAES, V. L. O programa de controle de infecção relacionada à assistência à saúde em meio ambiente hospitalar e o dever de fiscalização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Revista de Direito Sanitário**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 43-61, 2018.

HALAT, D.H.; AYOUB, C.M. The current burden of carbapenemases: Review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 186, 2020.

HASHIM, R. Bt; HUSIN, S.; RAHMAN, M. M. Detection of Betalactamase Producing Bacterial Genes. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 1, p. 41-46, 2011.

HASSOUN, A.; LINDEN, P.K.; FRIEDMAN, B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management and treatment. **Critical care**, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2017.

JACOBY, G. A. AmpC β -lactamases. **Clinical microbiology reviews**, v. 22, n. 1, p. 161- 182, 2009.

KAZEMIAN, H.; HEIDARI, H.; GHANAVATI, R.; GHAFOURIAN, S.; YAZDANI, F.; SADEGHIFARD, N.; VALADBEIGI, H.; MALEKI, A.; PAKZAD, I. Phenotypic and genotypic characterization of ESBL-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates. **Medical Principles and Practice**, v. 28, n. 6, p. 547-551, 2019.

KOKSAL, E.; TULEK, N.; SONMEZER, M.C.; TEMOCIN, F.; BULUT, C.; HATIPOGLU, C.; ERDINC, F.S.; ERTEM, G. Investigation of risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. **Investigative and clinical urology**, v. 60, n. 1, p. 46-53, 2019.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, 2018.

LI, Y.; GONG, Z.; LU, Y.; HU, G.; CAI, R.; CHEN, Z. Impact of nosocomial infections surveillance on nosocomial infection rates: A systematic review. **International journal of surgery**, v. 42, p. 164-169, 2017.

LOONEY, A.T; REMOND, E.J.; DAVEY, N.M.; DALY, P.J.; TROY, C.; CAREY, B.F.; CULLEN, I.M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a uropathogen in an Irish setting. **Journal Medicine**, Baltimore, vol. 96, p. 14, abr. 2017.

LÓPEZ-RAMÍREZ, Kelly Lelia et al. Patrón de clonalidad mediante ERIC-PCR y REP-PCR de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido, aisladas de pacientes con infección urinaria intrahospitalaria. **Hospital Regional Lambayeque**, Perú. *Horizonte Médico (Lima)*, v. 18, n. 2, p. 11-18, 2018.

MARIA, G.S.; JÚNIOR, A.T.T. resistência bacteriana aos antimicrobianos betalactâmicos: uma revisão da literatura. **Faema**. Roraima, 2019.

MEINI, S.; TASCINI, C.; SOZIO, E.; ROSSOLINI, G. AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. **Infection**, v. 47, n. 3, p. 363-375, 2019.

MONIZ, S. B.; SILVA, A. R.; CORREIA, C.; TORRINHA, A.; PEREIRA, A. M.; AMORIM, J. C. Prevalência de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases (KPC) em *Escherichia Coli* e *Klebsiella Pneumoniae* no laboratório BMAC - análise retrospectiva de 2011 a 2015. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, Lisboa, v. 5, n. 1, p. 45-51, 2016.

NETO, R. Infecções por Bactérias com Beta-lactamase de Espectro Estendido. **Universidade de São Paulo/USP**, 2021.

PANCOTTO, C.; LOVISON, O.; CATTANI, F. Perfil de resistência, etiologia e prevalência de patógenos isolados em uroculturas de gestantes atendidas em um laboratório de análises clínicas da cidade de Veranópolis, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 51, n. 1, p. 29-33, 2019.

PEREIRA, J. B.; GOMES, F. T.; REIS, J. R.; DE LEMOS, L. M. Perfil De Multirresistência Bacteriana Por Ampc, Esbl, Kpc E Mrsa Em Pacientes Comunitários Em Um Laboratório De Juiz De Fora, Minas Gerais. **Biológica-Caderno do Curso de Ciências Biológicas**, v. 1, n. 1, 2019.

PÓVOA, C. P.; DA SILVA, R. C.; SILVA, A. C.; PEREIRA, M. S.; DOS SANTOS, K. C.; DO CARMO FILHO, J. R. Evolução da resistência bacteriana em infecção comunitária do trato urinário em idosos. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 9, n. 1, 2019.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. Rang & Dale : farmacologia. **Elsevier Editora Ltda**, 2016.

RODRIGUES, F.C.B.; ARC, M. Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 2, p. 129-32, 2016.

RODRIGUEZ-GÓMEZ, J. Impacto del tratamiento empírico inapropiado en el pronóstico de la infección de tracto urinario por *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC. **UCOPress**. Córdoba, 2020.

SAWA, T.; KOOGUCHI, K.; MORIYAMA, K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. **Journal of intensive care**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2020.

SILVA, K.C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, p. 91-99, 2012.

SOUSA, Á. F. L. D.; QUEIROZ, A. A. F. L. N.; OLIVEIRA, L. B. D.; VALLE, A. R. M. D. C.; MOURA, M. E. B. Representações sociais da infecção comunitária por profissionais da atenção primária. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 28, p. 454-459, 2015.

SCHÖRNER, M.A. Estudo caso-controle dos aspectos clínicos, fatores de risco e mortalidade associados a infecções nosocomiais por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemases do tipo KPC. **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2016.

SHARMA, M.; PATHAK, S.; SRIVASTAVA, P. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 7, n. 10, p. 2173, 2013.

TANEJA, N.; ROA, P.; ARORA, J.; DOGRA, A. Occurrence of ESBL & Amp-C beta-lactamases & susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. **Indian Journal of Medical Research**, Mumbai, vol. 127, no. 1, p. 85-88, jan. 2008.

TAVARES, A.B.T. Relatório de Estágio e Monografia intitulada “*Pseudomonas aeruginosa* e Resistência aos Beta-lactâmicos, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas. **Universidade de Coimbra**, 2020.

TOOKE, C.L.; HINCHLIFFE, P.; BRAGGINTON, E.C.; COLENZO, C.K.; HIRVONEN, V.H.; TAKEBAYASHI, Y.; SPENCER, J. β -lactamases and β -lactamases Inhibitors in the 21st Century. **Journal of molecular biology**, v. 431, n.18, p.3472-3500, 2019.

VASCONCELOS, N.G Avaliação de atividade antibacteriana do óleo essencial de canela em bactérias produtoras de carbapenemases. **Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD**, 2018.