

ARTIGO ORIGINAL

Emergência de resistência antimicrobiana em *Klebsiella* spp. em município do interior do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

Rise of antimicrobial resistance in Klebsiella spp. in a country town of Rio Grande do Sul, Brazil

La elevación de la resistencia antimicrobiana en Klebsiella spp. en el municipio del Estado de Rio Grande do Sul, Brasil

Beatriz Adriana Tessmann,¹ Paula Alencastro Caballero,² Andreza Francisco Martins,³ Vinícius Pieta Perez¹

¹Centro Universitário Metodista IPA, Porto Alegre, RS, Brasil.

²Hospital Nossa Senhora Aparecida, Camaquã, RS, Brasil.

³Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Recebido em: 15/03/2017 / Aceito em: 18/06/2017 / Disponível online: 01/10/2017
vinicius.pietta@gmail.com

RESUMO

Justificativa e Objetivos: Infecções por *Klebsiella* spp. multirresistentes têm sido relatadas globalmente em decorrência da capacidade de aquisição de diversos mecanismos de resistência e rápida propagação destes microrganismos. Assim, o objetivo deste estudo foi descrever a variação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Klebsiella* spp. em um hospital no interior do Estado do Rio Grande do Sul. **Métodos:** Foram incluídos todos os casos de pacientes com culturas de urina, hemoculturas ou culturas de secreções positiva para *Klebsiella* spp. entre os anos de 2014 e 2015. Os dados das culturas microbiológicas e dos prontuários médicos foram revisados sendo coletadas as seguintes variáveis, idade, sexo, data, sítio anatômico de isolamento, origem, e resultados do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos. **Resultados:** Durante o período ocorreram 42 casos, sendo 57% de culturas do trato urinário, seguido de secreções (38%) e infecções de corrente sanguínea (5%). Foram observadas resistências em 81% dos isolados, e multirresistência em 62%. No período houve significativa redução da suscetibilidade para a classe dos β -lactâmicos, principalmente cefalosporinas e carbapenêmicos, aminoglicosídeos e tetraciclina. **Conclusão:** Os dados obtidos demonstram um significativo aumento da multirresistência aos antimicrobianos na localidade, com destaque para a emergência de resistência aos carbapenêmicos ocorrida no ano de 2015. A ameaça do estabelecimento local destes isolados alerta para a necessidade do contínuo monitoramento e implementação de medidas de controle de infecção.

Descritores: *Klebsiella*. Resistência Microbiana a Medicamentos. Carbapenêmicos. Infecção Hospitalar. Controle de Infecções.

ABSTRACT

Background and Objectives: Several infections by multidrug-resistant *Klebsiella* spp. have been report worldwide, because of the capacity of these bacteria in acquire many resistance mechanisms and rapidly spread through clinical units. The aim of this study was evaluate the antimicrobial susceptibility profile of *Klebsiella* spp. in a hospital of a country town of Rio Grande do Sul, Brazil. **Methods:** This study investigated the resistance profile of *Klebsiella* spp. strains isolated between 2014 and 2015, in a regional hospital of a small town. The patient's charts and microbiological assays were review, including age, sex, date, anatomical site of isolation, origin, and antimicrobial susceptibility test. **Results:** Forty-two strains were isolated during 2014 and 2015. The positive cultures were from urine (57%), secretions (38%), and blood (5%). Was observed antibiotic resistance in 81% of the strains, and 62% showed multidrug-resistance. The resistance profile for β -lactams, mainly cefalosporin and carbapenem, and for aminoglycosides and tetracycline increased in the study period. **Conclusion:** In this study we showed an increase in antibiotic resistance in a hospital at a small town, highlighting the emergence of

R Epidemiol Control Infec, Santa Cruz do Sul, 7(4):215-220, 2017. [ISSN 2238-3360]

Please cite this article in press as: TESSMANN, Beatriz Adriana et al. Emergência de resistência antimicrobiana em *Klebsiella* spp. em município do interior do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul, v. 7, n. 4, out. 2017. ISSN 2238-3360. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/9345>>. Acesso em: 14 maio 2018. doi: <http://dx.doi.org/10.17058/reci.v7i4.9345>



carbapenem resistant *Klebsiella* spp. during 2015. The spread of multidrug-resistant bacteria in this hospital enhance the importance of epidemiological surveillance and establishment of infection control procedures.

Keywords: *Klebsiella*. Drug Resistance, Microbial. Carbapenems. Cross Infection. Infection Control.

RESUMEN

Justificación y Objetivos: Las infecciones por *Klebsiella* spp. multirresistentes se han propagado a todas las regiones del mundo debido a su capacidad en adquirir mecanismos de resistencia y la rápida diseminación. El objetivo de esta investigación fue determinar el patrón de sensibilidad antimicrobiana de *Klebsiella* spp. en un hospital del estado de Rio Grande do Sul. **Métodos:** Se incluyeron todos los casos con cultivos positivos para *Klebsiella* spp. entre los años 2014 y 2015. Los datos de los cultivos microbiológicos y registros médicos, edad, sexo, fecha, sitio anatómico del aislamiento, origen y los resultados de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos fueron obtenidas del paciente. **Resultados:** Durante el período se incluyeron 42 casos, 57% de las vías urinarias, 38% de las secreciones corporales, y 5% del torrente sanguíneo. Se observó resistencia en 81% de los casos y resistencia a múltiples fármacos en 62%. Durante el período se observó una reducción en la sensibilidad a los antibióticos β -lactámicos, en particular de cefalosporinas y carbapenémicos, aminoglicósidos y tetraciclinas. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos muestran un aumento significativo de la resistencia a múltiples fármacos en la localidad, sobre todo la aparición de resistencia a los carbapenémicos ocurrido en 2015. La amenaza de establecimiento local de esas cepas alerta a la necesidad de medidas de control de las infecciones.

Palabras Clave: *Klebsiella*. Farmacorresistencia Microbiana. Carbapenémicos. Infección Hospitalaria. Control de Infecciones.

INTRODUÇÃO

A disseminação de mecanismos de resistência aos antimicrobianos tem acarretado severos impactos aos sistemas de saúde. Antimicrobianos estão entre os fármacos mais frequentemente prescritos, entretanto, um número considerável destas prescrições é desnecessária ou inapropriada, o que resulta na seleção e emergência de bactérias multirresistentes.¹ Sendo esta questão um enorme desafio ao controle de infecção em instituições hospitalares, em decorrência do aumento de tempo de internação, disseminação do microrganismo ou do gene de resistência, custos e mortalidade atribuídos.²

Bactérias do gênero *Klebsiella*, em especial *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*, são conhecidos patógenos oportunistas do ser humano, estando associadas principalmente a infecções complicadas do trato urinário, pneumonias, e infecções hospitalares.³ Estima-se que de 8% até 18% das infecções hospitalares sejam causadas por este gênero.^{3,4} Diversos fatores de virulência são responsáveis pela associação de infecções graves e de difícil tratamento por *K. pneumoniae*, como presença de cápsula de polissacarídeos, fímbrias, lipopolissacarídeo tóxico, sistemas de efluxo e de captação de ferro.⁵ Atualmente, cepas de *Klebsiella* spp. produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) são uma notável preocupação devido à falha terapêutica de aminopenicilinas e cefalosporinas, e inclusive, quando associado a outros mecanismos de resistência, falha aos carbapenêmicos.^{6,7} Nas últimas décadas múltiplos mecanismos de resistência foram descritos em *Klebsiella* spp., ocasionando a restrição do uso de diversas outras classes de antimicrobianos como: quinolonas, aminoglicósidos, tetraciclinas, e mais recentemente as polimixinas.⁸⁻¹¹

A propagação de bactérias multirresistentes no meio hospitalar se dá através do contato com pacientes, visitantes e profissionais da saúde, sendo capaz de induzir a ocorrência de surtos que se espalham entre unidades de internação, instituições hospitalares e comunidade.⁷

Diferentes estudos de vigilância epidemiológica ao redor do mundo têm relatado a emergência destes isolados, tanto de ambientes hospitalares quando na comunidade, havendo um interesse contínuo na monitoramento e avaliação do perfil de *Klebsiella* spp. isoladas em processos infecciosos.^{4,12}

Desde os relatos iniciais de *K. pneumoniae* multirresistentes, em especial aos carbapenêmicos, várias publicações têm demonstrado a disseminação em instituições de saúde brasileiras.^{9,12,15} No ano de 2013 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a nota técnica 01/2013, com o objetivo de padronizar os procedimentos e critérios interpretativos para detecção de bactérias produtoras de carbapenemases.¹⁶ Entretanto, ainda hoje há uma grande escassez de dados referentes ao panorama da resistência antimicrobiana em instituições hospitalares de regiões descentralizadas das capitais brasileiras.

Portanto, este estudo objetiva analisar a variação do perfil de resistência aos antimicrobianos de *Klebsiella* spp. isoladas de amostras clínicas em um hospital da região de Camaquã no interior do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos anos de 2014 e 2015.

MÉTODOS

Foi conduzido um estudo descritivo retrospectivo e transversal, na região de Camaquã, município com população estimada de 66 mil habitantes, do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, situada a 127 km da capital, Porto Alegre. Foram incluídos no estudo pacientes atendidos no hospital regional no período de 01 de janeiro de 2014 até 31 de dezembro de 2015 que apresentaram culturas positivas com isolamento de *Klebsiella* spp. Os isolados foram identificados no laboratório de análises clínicas do hospital através de isolamento primário em meios de cultura ágar MacConkey e Ágar sangue e testes bioquímicos de identificação através da observação de

ausência de enzima oxidase, crescimento em meio TSI, citrato de Simmons, ureia de Christensen, LIA, e MIO.

O estudo foi realizado em um hospital de médio porte com 149 leitos, possuindo unidade cirúrgica, emergência e internação. Foram coletados dados dos prontuários, como: idade, sexo, data e sítio anatômico de isolamento, origem do paciente e resultados do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos. Os testes de suscetibilidade foram realizados por meio da metodologia de disco-difusão, segundo a padronização anual do *Clinical and Laboratory Standards Institute* e nota técnica 01/2013 ANVISA.¹⁶⁻¹⁸

Os dados obtidos foram transcritos para banco de dados do programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 21.0) no qual foram realizadas as análises descritivas dos dados em frequências absolutas e relativas, e inferências estatísticas das variáveis qualitativas pelo teste de qui-quadrado ou exato de Fischer, e pelo teste T para variáveis contínuas, com significância de $P < 0,05$. Esse estudo foi apreciado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa das instituições envolvidas (53269516.2.0000.5308).

RESULTADOS

Entre janeiro de 2014 e dezembro de 2015 ocorreram 42 isolamentos de *Klebsiella spp.* sendo 29 (69%) isoladas em mulheres e 13 (31%) em homens, com idades entre 7 até 91 anos (51 ± 25). Os isolados foram obtidos de culturas do trato urinário (57%), seguido de secreções (38%) e infecções da corrente sanguínea (5%). A tabela 1 apresenta as características da população estudada nos dois anos.

A distribuição dos isolados entre os dois anos foi semelhante, sendo 20 (47,6%) em 2014 e 22 (52,4%) em 2015. Foram observados resultados de resistência a antimicrobianos em 34 (81%) dos isolados, sendo que em 26 (62%) havia associação de resistência para mais de uma classe de antimicrobianos testados, e em 3 (7%) pan-resistência aos antimicrobianos testados. A redução da sensibilidade aos

Tabela 1. Características da população estudada, conforme idade (ANOS), sexo, unidade de internação (origem) e tipo de amostra biológica de onde foi isolado *Klebsiella spp.*, distribuição em 2014 e 2015.

		2014	2015	Total	P
Idade (anos)		46 \pm 27	55 \pm 23	51 \pm 25	0,21
Sexo	Feminino	70% (14)	68% (15)		0,89
	Masculino	30% (6)	32% (7)		
Origem	Emergência	55% (11)	36% (8)		0,22
	Internação	45% (9)	64% (14)		
Amostra	Urina	50% (10)	64% (14)		0,27
	Secreções	40% (8)	36% (8)		
	Sangue	10% (2)	0% (0)		

antimicrobianos testados demonstra significativa elevação ao comparar isolados obtidos em 2014 e 2015 para as classes dos β -lactâmicos (penicilina associada a inibidor de β -lactamases, cefalosporinas e carbapenêmicos), aminoglicosídeos e tetraciclina, conforme apresentado na tabela 2. Na figura 1 são comparados os percentuais de resistência a cada antimicrobiano testado nos isolados de 2014 e 2015.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste estudo demonstram uma alteração do perfil de isolados de *Klebsiella spp.*, com redução da suscetibilidade aos antimicrobianos. A relação entre este gênero bacteriano e infecções complicadas pela restrição de opções terapêuticas tem sido observada simultaneamente em diversos estudos nas Américas, Europa e Ásia.¹⁹⁻²¹ No nosso estudo, podemos destacar a redução da sensibilidade observada aos β -lactâmicos, onde para a subclasse dos carbapenêmicos a resistência somente foi evidenciada no ano de 2015, (43%) isolados ao imipenem e 5 (63%) ao meropenem, demonstrando

Tabela 2. Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos (sensível, intermediário ou resistente) em isolados de *Klebsiella spp.*, distribuição nos anos de 2014 e 2015.

	2014						2015						P
	Sensível		Intermediário		Resistente		Sensível		Intermediário		Resistente		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Amoxicilina+Clavulanato	10	(53)	3	(16)	6	(32)	5	(24)	1	(5)	15	(71)	0,040
Ácido Nalidíxico	4	(57)	0	(0)	3	(43)	3	(25)	1	(8)	8	(67)	0,441
Amicacina	17	(94)	1	(6)	0	(0)	14	(67)	1	(5)	6	(29)	0,030
Cefalotina	6	(40)	2	(13)	7	(47)	4	(18)	2	(9)	16	(73)	0,294
Cefepima	16	(84)	3	(16)	0	(0)	10	(45)	1	(5)	11	(50)	0,001
Ceftriaxona	13	(72)	0	(0)	5	(28)	6	(27)	1	(5)	15	(68)	0,010
Ciprofloxacina	14	(82)	0	(0)	3	(18)	10	(56)	0	(0)	8	(44)	0,146
Gentamicina	16	(89)	0	(0)	2	(11)	7	(32)	3	(14)	12	(55)	0,001
Imipenem	11	(100)	0	(0)	0	(0)	2	(29)	2	(29)	3	(43)	0,002
Meropenem	9	(100)	0	(0)	0	(0)	3	(38)	0	(0)	5	(63)	0,009
Nitrofurantoina	2	(29)	2	(29)	3	(43)	2	(14)	1	(7)	11	(79)	0,251
Norfloxacina	5	(71)	0	(0)	2	(29)	6	(46)	0	(0)	7	(54)	0,374
Sulfametoxazol+Trimetoprima	7	(70)	0	(0)	3	(30)	7	(33)	0	(0)	14	(67)	0,121
Tetraciclina	13	(65)	1	(5)	6	(30)	6	(27)	5	(23)	11	(50)	0,049

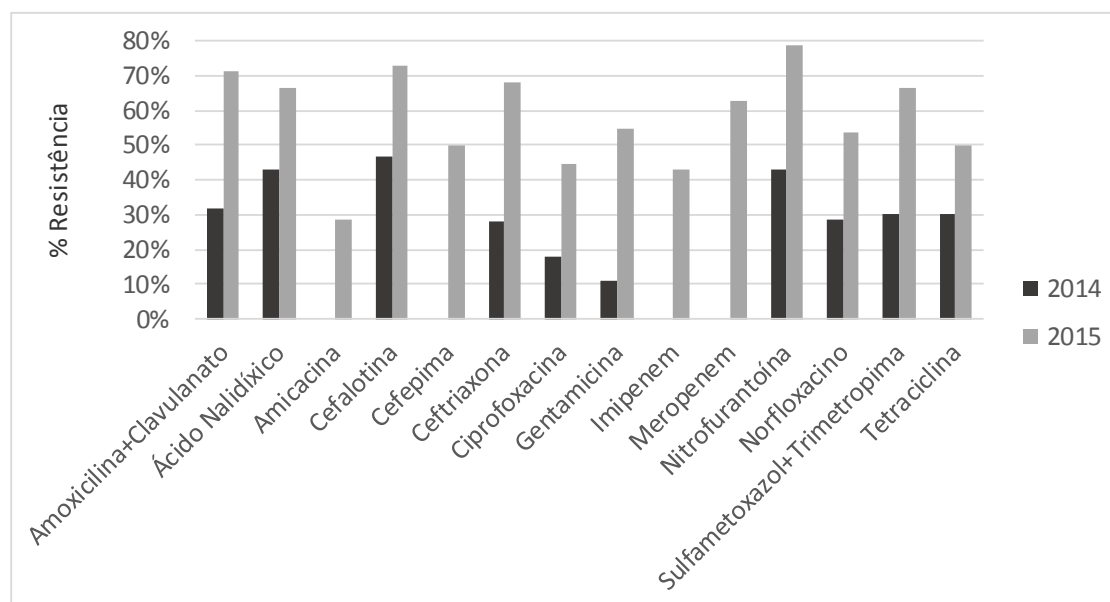


Figura 1. Percentuais de resistência aos antimicrobianos nos isolados de *Klebsiella* spp., comparação entre os anos de 2014 e 2015.

que ao longo do segundo período houve emergência de mecanismos de resistência nesta localidade.³

A expansão de cepas multirresistentes em hospitalares sugere uma notável capacidade das *Klebsiella* spp. em adquirir resistência e sobreviver em ambientes onde agentes antimicrobianos são amplamente utilizados.¹² No Brasil, outros estudos corroboram com os resultados de resistência encontrados para a maioria das classes dos antimicrobianos do nosso trabalho, como aminoglicosídeos, quinolonas, cefalosporinas, carbapenêmicos e penicilinas com inibidor de β -lactamases.^{4,14,15} Em Porto Alegre, capital do estado do Rio Grande do Sul, a taxa de resistência mediada por ESBL varia de 36,7% até 42,8% nos isolados de *K. pneumoniae* multirresistentes podendo haver também presença de enzima AmpC associada com ESBL ou carbapenemases.^{13,22}

Em relação à elevação de casos de infecções por cepas produtoras de ESBL, uma das medidas aplicadas tem sido a restrição quanto ao uso de cefalosporinas de terceira geração, uma vez que é relacionado o consumo destes fármacos com o surgimento de multirresistência em *K. pneumoniae*, bem como o isolamento dos pacientes infectados e/ou colonizados.²³ Em nosso estudo observamos uma elevação na taxa de resistência ao ceftriaxona, uma cefalosporina de terceira geração, de 28% para 68% e o surgimento da resistência ao cefepima, cefalosporina de quarta geração, no ano de 2015.

A produção de ESBL por *Klebsiella* spp. pode conferir resistência às cefalosporinas de terceira geração, penicilinas e monobactams (aztreonam). Apesar de estas enzimas serem inibidas *in vitro* pelo clavulanato, é sugerido que os antimicrobianos de escolha para tratamento das infecções graves causadas por isolados produtores de ESBL sejam os carbapenêmicos.²⁴

Entretanto, o uso de carbapenêmicos de forma intensa acaba por induzir seleção de cepas com resistência

a este fármaco. Em um estudo realizado ao longo de dez anos na Grécia foi demonstrado que 48% dos isolados de *K. pneumoniae* são portadores de enzimas carbapenemases, sendo a enzima KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) a mais recorrente naquela localidade, seguido das enzimas VIM (*Verona imipenase*) e NDM (*New Delhi – metallo-beta-lactamase*).²⁵ Outro estudo realizado na região Sul do Brasil analisou a produção de KPC por Enterobactérias com redução da suscetibilidade aos carbapenêmicos, sendo observada uma maior prevalência da enzima KPC-2 conferindo intensa resistência aos β -lactâmicos, e com frequência observada em conjunto resistência ao ciprofloxacina, e sensibilidade a polimixina B e amicacina.¹⁵

As quinolonas e fluoroquinolonas são antimicrobianos derivados do ácido nalidíxico com amplo espectro de ação sobre bacilos Gram-negativos, porém o consumo intenso destes fármacos está associado a emergência de resistência através de mutações cromossômicas na DNA-girase e topoisomerase IV, bem como aquisição de genes plasmidiais de resistência.⁸ A associação de resistência ao ciprofloxacina em isolados de *K. pneumoniae* é comum, estando entre 25% na Etiópia, 69% na China, e no Brasil um estudo vem demonstrando elevação da prevalência de resistência ao longo da última década com observação de valores próximos a 53% após 10 anos.^{4,7,8} Entretanto, nos dados encontrados ao longo dos dois anos do nosso estudo não foi observada uma elevação significativa na prevalência da resistência de 18% no ano de 2014 para 44% no ano de 2015 ($P=0,146$), o que em parte podemos atribuir ao nosso pequeno tamanho amostral. Apesar das diferenças regionais observadas, as taxas de resistência indicam uma exposição à pressão seletiva com antimicrobianos. Estudos têm relatado a persistência destes mecanismos ou a observação dos mesmos em populações não expostas às quinolonas, indicando que

a resistência pode ser transmitida e persistir em pessoas e populações não expostas ao antimicrobiano.^{8,26}

Os aminoglicosídeos são antimicrobianos importantes indicados em ambiente hospitalar e podem ser alternativas terapêuticas em infecções por bacilos Gram-negativos resistentes aos β -lactâmicos.⁹ No presente estudo, para os dois aminoglicosídeos testados, gentamicina e amicacina, foi observada elevação nas taxas de resistência ao longo do período, notavelmente para gentamicina com elevação da taxa de resistência de 11% para 55% ($P=0,001$ para gentamicina e $P=0,030$ para amicacina), situação que limita as opções terapêuticas em casos de multirresistência associados à ESBL e por vezes restringe ao emprego da polimixina B. Entretanto, cabe ressaltar que o percentual de sensibilidade para amicacina (67%) foi o mais elevado entre os antimicrobianos pesquisados no ano de 2015, sugerindo que a utilização deste fármaco ainda é uma alternativa viável no tratamento de infecções por *Klebsiella spp.* multirresistentes.

Antimicrobianos como as sulfonamidas e a nitrofurantoína são recomendadas para o tratamento de infecções do trato urinário não complicadas.²⁷ O que é notável em nossa amostragem, com elevada proporção de isolados obtidos de urinas em ambos os períodos, é a ausência de variação estatística na sensibilidade para estes fármacos ($P=0,121$ para sulfametoxazol+trimetropim, e $P=0,251$ para nitrofurantoína). Porém, os percentuais de resistência para às duas classes de antimicrobianos se mantiveram elevados, sendo para nitrofurantoína observado o maior percentual de resistência entre todos os antimicrobianos testados (79% em 2015).

O emprego de tetraciclina no tratamento de processos infecciosos tem sido reduzido em decorrência da rápida disseminação de resistência entre diversos grupos bacterianos.²⁸ Na localidade investigada foi possível determinar a elevação das taxas de resistência, apesar do uso limitado deste fármaco. A emergência de resistência às tetraciclina tem sido reiteradamente relacionada com fatores ambientais e uso de fármacos análogos na criação de animais.^{28,29} Considerando a ampla distribuição de mecanismos de resistência a esta classe e o perfil da região estudada com áreas dedicadas à pecuária e criação de animais, a observação de isolados multirresistentes neste estudo sugere limitado emprego desta classe no tratamento de processos infecciosos por *Klebsiella spp.*

Dentre as limitações do estudo podemos observar primeiramente o pequeno grupo amostral, considerando que apenas foram incluídos isolados obtidos de culturas de amostras clínicas, culturas de vigilância não foram incluídas. A série temporal compreendeu a inclusão de isolados obtidos ao longo de dois anos, havendo distribuição de casos ao longo dos meses, porém não podemos excluir a possibilidade da ocorrência de surtos neste período. A impossibilidade de recuperar os isolados bacterianos e confirmar os mecanismos de resistência expressos ou mesmo a epidemiologia molecular das cepas circulantes na localidade ao longo do período são limitações do estudo.

Os relatos de *Klebsiella spp.* multirresistentes, es-

pecialmente nos últimos cinco anos em diversas cidades do Brasil, anunciava o surgimento destes microrganismos em regiões descentralizadas. As informações a respeito da epidemiologia destes microrganismos em pequenas cidades brasileiras ainda são escassas, e neste estudo é possível observar a disseminação de mecanismos de resistência para diversas classes de antimicrobianos, com destaque para os carbapenêmicos no período de 2015 ($P=0,002$ para imipenem, e $P=0,009$ para meropenem), neste hospital no interior do Rio Grande do Sul. A ameaça da emergência local destes isolados salienta a necessidade de implementação urgente de medidas de controle de infecção e alerta para os laboratórios de microbiologia na detecção e vigilância de *Klebsiella spp.* multirresistentes por meio do estabelecimento de testes fenotípicos rápidos.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Principi N, Esposito S. Antimicrobial stewardship in paediatrics. *BMC Infect Dis* 2016;16(1):424. doi: 10.1186/s12879-016-1772-z
2. Smith R, Coast J. The true cost of antimicrobial resistance. *BMJ* 2013;346:f1493. doi: 10.1136/bmj.f1493
3. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 1998;11(4):589-603.
4. Santana RdC, Gaspar GG, Vilar FC, et al. Secular trends in *Klebsiella pneumoniae* isolated in a tertiary-care hospital: increasing prevalence and accelerated decline in antimicrobial susceptibility. *Rev Soc Bras Med Tro* 2016;49(2):177-82. doi: 10.1590/0037-8682-0072-2016
5. Hennequin C, Robin F. Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *EJCMID: official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2016;35(3):333-41. doi: 10.1007/s10096-015-2559-7
6. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(8):3365-70. doi: 10.1128/AAC.00126-09
7. Desta K, Woldeamanuel Y, Azazh A, et al. High Gastrointestinal Colonization Rate with Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Patients: Emergence of Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* in Ethiopia. *PLoS One* 2016;11(8):e0161685. doi: 10.1371/journal.pone.0161685
8. Huang Y, Ogutu JO, Gu J, et al. Comparative analysis of quinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Chinese children and adults. *Biomed Res Int* 2015;2015:168292. doi: 10.1155/2015/168292
9. Dias-Goncalves V, Bohrer-Lengruher F, Oliveira-Fonseca B, et al. Detection and characterization of multidrug-resistant

- enterobacteria bearing aminoglycoside-modifying gene in a university hospital at Rio de Janeiro, Brazil, along three decades. *Biomedica* 2015;35(1):117-24. doi: 10.1590/S0120-41572015000100014
10. Villa L, Feudi C, Fortini D, et al. Genomics of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 512 clone highlights the role of RamR and ribosomal S10 protein mutations in conferring tigecycline resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(3):1707-12. doi: 10.1128/AAC.01803-13
 11. Stoesser N, Mathers AJ, Moore CE, et al. Colistin resistance gene mcr-1 and pHNSHP45 plasmid in human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Infect Dis* 2016;16(3):285-6. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00010-4
 12. Arend LN, Toledo P, Pilonetto M, et al. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in different facilities in Southern Brazil. *Am J Infect Control* 2015;43(2):137-40. doi: 10.1016/j.ajic.2014.11.003
 13. Costabeber AM, Mattos AA, Sukiennik TC. Prevalence of Bacterial Resistance in Hospitalized Cirrhotic Patients in Southern Brazil: A New Challenge. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2016;58:36. doi: 10.1590/S1678-9946201658036
 14. Pereira PS, Borghi M, de Araujo CF, et al. Clonal Dissemination of OXA-370-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Rio de Janeiro, Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(8):4453-6. doi: 10.1128/AAC.04243-14
 15. Ribeiro VB, Andrade LN, Linhares AR, et al. Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing isolates in southern Brazil. *J Med Microbiol* 2013;62(Pt 11):1721-7. doi: 10.1099/jmm.0.062141-0
 16. Brasil ANVISA. Nota técnica nº 01/2013, medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília: ANVISA; 2013.
 17. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 23th Informational Supplement M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA; 2013:44-61.
 18. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 24th Informational Supplement M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA 2014: 50-60.
 19. Holt KE, Wertheim H, Zadoks RN, et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(27):E3574-81. doi: 10.1073/pnas.1501049112
 20. Parisi SG, Bartolini A, Santacatterina E, et al. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 to December 2014. *BMC Infect Dis* 2015;15:244. doi: 10.1186/s12879-015-0996-7
 21. Ginn AN, Wiklendt AM, Zong Z, et al. Prediction of major antibiotic resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Singapore, USA and China using a limited set of gene targets. *Int J Antimicrob Agents* 2014;43(6):563-5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.02.010
 22. Meyer G, Picoli SU. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. *J Bra Pat Med Lab* 2011;47(1):25-31. doi: 10.1590/S1676-24442011000100003
 23. Jacoby TS, Kuchenbecker RS, Dos Santos RP, et al. Impact of hospital-wide infection rate, invasive procedures use and antimicrobial consumption on bacterial resistance inside an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2010;75(1):23-7. doi: 10.1016/j.jhin.2009.11.021
 24. Ruppe E, Woerther PL, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care* 2015;5(1):61. doi: 10.1186/s13613-015-0061-0
 25. Spyropoulou A, Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, et al. A ten-year surveillance study of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care Greek university hospital: predominance of KPC- over VIM- or NDM-producing isolates. *J Med Microbiol* 2016;65(3):240-6. doi: 10.1099/jmm.0.000217
 26. Pallecchi L, Bartoloni A, Riccobono E, et al. Quinolone resistance in absence of selective pressure: the experience of a very remote community in the Amazon forest. *PLoS Negl Trop Dis* 2012;6(8):e1790. doi: 10.1371/journal.pntd.0001790
 27. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol* 2015;13(5):269-84. doi: 10.1038/nrmicro3432
 28. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65(2):232-60. doi: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001
 29. Shin SW, Shin MK, Jung M, et al. Prevalence of Antimicrobial Resistance and Transfer of Tetracycline Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolates from Beef Cattle. *Appl Environ Microbiol* 2015;81(16):5560-6. doi: 10.1128/AEM.01511-15