UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

DANYLO CÉSAR CORREIA PALMEIRA

BACTEREMIAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: epidemiologia, clínica e mecanismos de resistência microbiana

Recife
2019

DANYLO CÉSAR CORREIA PALMEIRA

BACTEREMIAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: epidemiologia, clínica e mecanismos de resistência microbiana

Dissertação de mestrado apresentada à banca avaliadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Área de concentração: Medicina Tropical

ORIENTADORA: **Profª. Drª. Heloisa Ramos Lacerda de Melo**

COORIENTADORA: **Drª. Claudia Fernanda de Lacerda Vidal**

Recife

2019

Catalogação na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa - CRB4-1010

P172b Palmeira, Danylo César Correia.
Bacteremias por *Klebsiella pneumoniae*: epidemiologia, clínica e mecanismos de resistência microbiana / Danylo César Correia Palmeira. – 2019.
122 f. : il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Heloísa Ramos Lacerda de Melo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Klebsiella pneumoniae. 2. Enterobacteriáceas resistentes a carbapenêmicos. 3. Bacteriemia. 4. Resistência microbiana a antibióticos. 5. Análise de sobrevida. I. Melo, Heloísa Ramos Lacerda de (Orientadora). II. Título.

616.988 CDD (20.ed.) UFPE (CCS2019-253)

DANYLO CÉSAR CORREIA PALMEIRA

BACTEREMIAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: epidemiologia, clínica e mecanismos de resistência microbiana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Aprovado em: 23/08/2019.

BANCA EXAMINADORA:

_____
Profª. Drª. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

_____
Prof. Dr. Paulo Sérgio Ramos de Araújo (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

_____
Dr. Kledoaldo Oliveira de Lima (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE)

Dedico esta obra à esplendorosa sabedoria dos mais velhos. Em especial, à figura honrosa de tia Irene Carneiro. Nobre amiga, confidente, orientadora da vida no mundo material e espiritual. Sempre me conduzindo à “próxima etapa”! Do mesmo modo, saudosamente, resgato a doce e alegre lembrança do Painho (avô Sebastião Palmeira) e Dolole (tia Dolores Correia) - *in memoriam*. Seus ensinamentos, seu exemplo e sua proteção são de grande conforto.

AGRADECIMENTOS

A Deus, a minha mais perfeita face, por dar-me condições para que possa seguir com honra, benevolência e caridade.

À Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde, pela disponibilização de recursos físicos e humanos essenciais à nossa formação.

Às minhas orientadoras Prof[a]. Dr[a]. Heloísa Lacerda e Dr[a]. Claudia Vidal, por profetizarem simples frases que mudam vidas, pelo aguçar do método e senso crítico, pelo resgate da sociedade na ciência e na ética.

Aos estimados professores, Dr[a]. Maria Amélia Maciel, Dr[a]. Ana Catarina Lopes, Dr. Kledoaldo Lima, Dr[a]. Líbia Moura, Dr. Paulo Sérgio Ramos, Dr[a]. Vera Magalhães, Dr[a]. Joelma Santos, Dr[a]. Maria Júlia Mello e Dr. Ulisses Montarroyos, pelo exemplo, carinho, dedicação à minha formação e sugestões nesse estudo.

Ao Instituto Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz / Pernambuco, em nome do Dr. Danilo Elias Xavier e do Me. Igor Rocha, pelo brilho no olhar em cada encontro, pelas análises biomédicas precisas e em tempo hábil.

À minha primeira e eterna orientadora Prof[a]. Dr[a]. Janira Lúcia Assumpção Couto, pela forma elegante e poética que se conduz na ciência. Por me mostrar um universo, o das doenças infecciosas e parasitárias, com amor e arte.

Aos meus grandes exemplos minhas mães Angela Correia e Eluza Palmeira, por me ensinarem a subir com uma base sólida em valores e me apresentarem um Deus divinamente justo e suas inevitáveis leis: progresso, retorno e, a mais importante, a lei do amor.

Ao meu pai Sérgio Palmeira e à família que ele me deu, por toda proteção, carinho e atenção que sempre tiveram comigo: tia Bethsabé Palmeira, “minha terceira mãe”; avó Ilma Lopes; meus irmãos, Ricardo e Fernando Mariath.

À família, laço insolúvel, berço do verdadeiro amor.

Às minhas tias e primos, pela paciência e orações.

À tia Lanuza Abath, tia Maria Júlia e tio João Barbosa, pelo referencial e eterna receptividade calorosa. À tia Iolanda Carneiro, pela união de nossa família no amor cristão. À tia Zé (Maria José Araújo), minha primeira paciente.

Ao tio e amigo Prof. Dr. Hernani Rodrigues, pela serenidade exemplar e inspiração. Suas crenças me influenciaram além do que possa imaginar.

Ao meu companheiro Thiago Ramos: por trazer sorrisos e cuidado aos meus dias; por me conduzir a lugares novos, repletos de magia e eternidade; por respeitar minha forma de ver a vida e aceitar a difícil tarefa de seguir ao meu lado.

À “família CCIH” do Hospital das Clínicas / UFPE, Geane Chaves, Izolda Moura, Andreza Cavalcanti, Virgínia Menezes, Claudia Albuquerque, Adélia Monteiro, Josilene Suassuna, Luciclaudia Menacho, Lúcia Ramos, Urany Souza, Adson Ferreira, Karla Andrade e Jade Oliveira, pelo amor e cuidado diário.

Aos meus pacientes, pela confiança, incentivo e afetos recebidos diariamente.

Aos nobres companheiros de infectologia, Demetrius Montenegro, Milena Pinheiro, Fátima Lima, Filipe Prohaska, Rodrigo Menezes, Alex Maurício Santos, Carlos Tadeu Leonidio, Diego Guedes, Fernanda Calixto, Raphael dos Anjos, pelos conselhos, incentivo, discussões técnicas e comum devoção à prática médica.

Ao amigo Prof. Dr. Ítalo Morais, fonte de inspiração, exemplo de perseverança e abnegação. Seu olhar crítico, sugestões e conselhos foram decisivos para a conclusão desta obra.

À minha irmã Prof^{a}. Dr^{a}. Maria da Conceição Castro, por me ouvir e aconselhar, por me carregar nos braços em tantos momentos de dúvida, por me acordar todas as manhãs com o “bom dia” e o cuidado que só se tem quando se ama de verdade!

Ao amigo Prof. Dr. José Roberto da Silva Júnior, por trazer poesia e me fazer sorrir todos os dias, por me presentear com o amor dos seus parentes nos momentos da ausência dos meus, por fazer meus olhos brilharem com seus feitos e conquistas.

Aos terapeutas e amigos Bruna Mazulo e Wellisson Almeida Júnior, pelo ouvir, aconselhar e resgatar diários. Eles recordam e lapidam as minhas escolhas.

Aos amigos: Amanda Albuquerque, Bruno Avila, Bruno Novais, Carlos Eugenio Bastos, Cibelly Souza, Deivisson Wagner, Laylla Araújo, Fernando Fernandes, Filipe Lyra, Gustavo Ciotti, João Paulo Weiler Filho, Leonardo Cunha, Maurício Fonseca, Monick Passos, Rafael Cavalcanti, Robson Gonçalves, Samuel Holder, Sérgio Mendes, Sicleidy Santana, Túlio Pereira, Vinícyus Cordeiro, Bruno Elias Tenório, Juliana Mendonça, Wylliams Santos, Deborah Araújo, seus sorrisos e demonstrações de orgulho me fizeram seguir mais forte!

À minha turma da pós-graduação em Medicina Tropical, em especial Diego Torres, Érica Oliveira, Kaliene Estevão, Pryscilla Carvalho, Regina Coeli, Regina Teles, Rossana Cunha, Thaisa Lopes e Tiago Ribeiro, vocês foram um presente e excelentes companheiros nessa jornada.

Ao amigo Mr. Brian Honeyball, pela ajuda na tradução do artigo para a língua inglesa. Sua agilidade e compromisso foram essenciais.

Ao Sr. Walter Galdino, pelo exercício de suas atividades em ótimo humor e uma preocupação com os alunos digna de um pai. Mesmo enfermo fez questão de manter suas atribuições, dedicação de uma vida, e as executou com excelência. O nosso muito obrigado!

À Sra. Magali Lira, pelo melhor bom dia que pode iniciar uma manhã. O seu sorriso sempre me lembrava “vai dar certo”. Era Deus falando comigo!

“Não há nada permanente, exceto a mudança.”
(HERÁCLITO, 501 a. C. apud SPINELLI, 2003, p. 182)

RESUMO

As bacteremias por *Klebsiella pneumoniae* vêm aumentando morbidade e mortalidade em infecções relacionadas à assistência à saúde. Os dados no Nordeste do Brasil são escassos. Um estudo retrospectivo de corte transversal foi realizado em hospital terciário para avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e resistência microbiana nessas infecções. Entre janeiro de 2016 e maio de 2017, 28 isolados identificados por espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF foram incluídos. A suscetibilidade antimicrobiana foi testada por microdiluição em caldo e, para ceftazidima-avibactam, ETEST. Dez (35,7%) isolados apresentaram resistência aos carbapenêmicos (CRKP). O determinante genético por reação em cadeia da polimerase (PCR) foi bla_{KPC-2}. Isolados CRKP apresentaram associação às neoplasias hematológicas (p=0,041), úlceras crônicas (p=0,011), terapia renal substitutiva (p=0,011), internamento em unidade de terapia intensiva (UTI; p<0,0001), ventilação mecânica (p=0,041) e exposição prévia a antimicrobianos (p<0,05): meropenem, polimixina, amicacina, sulfametoxazol-trimetropim, glicopeptídeos e antifúngicos. Amicacina e polimixina B apresentaram resistência inferior a 10,0%. Nenhum isolado foi resistente à ceftazidima-avibactam. A mortalidade intra-hospitalar foi 35,7%. Óbitos foram associados ao internamento em UTI (p=0,050) e elevado índice de comorbidades de Charlson (p=0,036). A análise comparativa da sobrevida segundo resistência aos carbapenêmicos e antibioticoterapia adequada não foi estatisticamente significante. Diante do exposto, fatores de risco identificados para isolados CRKP, perfis de sensibilidade locais e os mecanismos moleculares de resistência microbiana devem ser monitorizados, a fim de se adequar a antibioticoterapia empírica.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*. Enterobacteriáceas Resistentes a Carbapenêmicos. Bacteriemia. Resistência Microbiana a Antibióticos. Análise de Sobrevida.

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae bacteremia has been associated morbidity and mortality in healthcare-related infections. Data in northeastern Brazil are scarce. A retrospective cross-sectional study was conducted at a tertiary hospital to assess epidemiological, clinical and microbial resistance in those infections. Between January 2016 and May 2017, 28 isolates identified by MALDI-TOF mass spectrometry were included. Antimicrobial susceptibility was tested by broth microdilution and, for ceftazidime-avibactam, ETEST. Ten (35.7%) presented carbapenem resistance (CRKP). The genetic determinant by polymerase chain reaction (PCR) was bla_{KPC-2}. CRKP isolates were associated with hematologic malignancies (p=0.041), chronic ulcers (p=0.011), hemodialysis (p=0.011), intensive care unit (ICU) stay (p<0.0001), mechanical ventilation (p=0.041) and previous exposure to antimicrobials (p<0.05): meropenem, polymyxin, amikacin, sulfamethoxazole-trimethoprim, glycopeptides and antifungals. Amikacin and polymyxin B demonstrated resistance below 10.0%. No isolates were resistant to ceftazidime-avibactam. In-hospital mortality was 35.7%. Deaths were associated with ICU admission (p=0.050) and high Charlson comorbidity index (p=0.036). Comparative analysis of survival according to carbapenem resistance and adequate antibiotic therapy was not statistically significant. In summary, identified risk factors for CRKP isolates, local sensitivity profiles and molecular mechanisms of microbial resistance should be monitored to suit empirical antibiotic therapy.

Key-words: *Klebsiella pneumoniae*. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. Bacteremia. Drug Resistance, Microbial. Survival Analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - *Klebsiella pneumoniae:* cor vermelha à coloração de Gram (microscopia óptica).....19

Figura 2 - *Klebsiella pneumoniae*: microscopia eletrônica.....20

Figura 3 - *Klebsiella pneumoniae* hipermucoviscosa. Teste de corda positivo: presença de muco verticalizado (>5 mm) após toque com alça circular na placa de ágar, caracterizando o fenótipo hipermucoviscoso.....22

Figura 4 - Disseminação epidemiológica da *K. pneumoniae* produtora de KPC...38

Figura 5 - Fluxograma da amostragem do estudo: isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de hemoculturas de pacientes do Hospital das Clínicas / UFPE, no período de janeiro de 2016 a maio de 2017. Bacterioteca disponível no Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE).....45

Figura 6 - Dendrograma de distribuição dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae*, de acordo com os padrões de bandas obtidos por PFGE, fenótipo hipermucoviscoso, genes de resistência e perfil de sensibilidade.....69

Figura 7 - Curvas de sobrevida dos pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* em todo o seguimento (A) e nos primeiros 28 dias (B)....70

Figura 8 - Curvas de sobrevida nos primeiros 28 dias dos pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* segundo o índice de comorbidades de Charlson (A), resistência aos carbapenêmicos (B), fenótipo hipermucoviscoso (C) e antibioticoterapia adequada (D).....71

Quadro 1 - Fatores de virulência em *Klebsiella pneumoniae*.....21

Quadro 2 - Classificação das principais carbapenemases.....37

Quadro 3 - Oligonucleotídeos utilizados para a amplificação dos genes determinantes da resistência bacteriana.....52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos com fatores de risco, preditores de mortalidade, determinantes moleculares de resistência microbiana e mortalidade em infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmico.....32

Tabela 2 - Aspectos demográficos, clínicos e desfecho em 28 bacteremias por Klebsiella pneumoniae, em relação à sensibilidade aos carbapenêmicos.....66

Tabela 3 - Resistência microbiana em 28 isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias.....68

Tabela 4 - Aspectos demográficos e clínicos dos 28 pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae*.....81

Tabela 5 - Aspectos demográficos e clínicos das 28 bacteremias por *Klebsiella pneumoniae*, em relação ao desfecho clínico.....82

Tabela 6 - Características microbiológicas dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias.....83

Tabela 7 – Associação entre os padrões de bandas obtidos por PFGE dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias e mortalidade.....83

Tabela 8 - Suscetibilidade antimicrobiana dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias, de acordo com a sensibilidade aos carbapenêmicos.....83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a. C.	Antes de Cristo
AMK	Amicacina
ATCC	Coleção Americana de Culturas, do inglês *American Type Culture Colection*
BKC	Carbapenemase Brasileira de *Klebsiella*, do inglês *Brazilian Klebsiella carbapenemase*
CRKP	*Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos, do inglês *carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*
CSKP	*Klebsiella pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos, do inglês *carbapenem-sensitive Klebsiella pneumoniae*
CCI	Índice de Comorbidades de Charlson, do inglês *Charlson Comorbidity Index*
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais, do inglês *Clinical and Laboratory Standards Institute*
CRO	Ceftriaxona
CRE	Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos
DM	Diabetes mellitus
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ESBL	β-lactamase de espectro estendido, do inglês *extended-spectrum β-lactamase*
ETP	Ertapenem
EUCAST	Comité Europeu para Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana, do inglês *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*
GEN	Gentamicina
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
hvKP	*Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta
IAM	Instituto Aggeu Magalhães
ICS	Infecção de corrente sanguínea
IPCS	Infecção primária de corrente sanguínea
IPM	Imipenem

IPPMC	Infecção de pele / partes moles complicada
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
ITU	Infecção do trato urinário
KPC	Carbapenemase de *Klebsiella pneumoniae*, do inglês *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*
LPS	Lipopolissacarídeo
MALDI-TOF	Ionização por dessorção a laser assistida por matriz - tempo de voo, do inglês *matrix assisted laser desorption ionization - time of flight*
MBL	Metalo-β-lactamases
MDR	Multidroga-resistente
MEM	Meropenem
NDM	Nova Deli metalo-β-lactamase, do inglês *New Delhi metallo-β-lactamase*
OMP	Proteínas de membrana externa, do inglês *outer membrane proteins*
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXA	Oxacilinase
PAC	Pneumonia adquirida na comunidade
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
PBP	Proteínas ligadoras de penicilinas, do inglês *penicillin binding protein*
PCR	Reação em cadeia da polimerase, do inglês *polymerase chain reaction*
PFGE	Eletroforese em gel de campo pulsado, do inglês *pulsed-field gel electrophoresis*
PMB	Polimixina B
PMB-R	Resistência à polimixina B
PVHIV	Pessoa vivendo com HIV
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
SXT	Sulfametoxazol-trimetropim
TGC	Tigeciclina
TSA	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos
TZP	Piperacilina-tazobactam
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UTI	Unidade de terapia intensiva
VIM	Verona metalo-β-lactamase codificada em integron, do inglês *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase*

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO** 17
2 **REVISÃO DE LITERATURA** 19
2.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS DA ESPÉCIE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* 19
2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA 21
2.3 INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* 23
2.3.1 ***Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta** 24
2.3.2 **Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)** 25
2.3.3 **Infecções de corrente sanguínea** 27
2.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA 29
2.4.1 **Mecanismos de resistência microbiana em *Klebsiella pneumoniae*** 34
2.4.2 **Carbapenemases** 35
2.5 ANTIBIOTICOTERAPIA NAS INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS 39
3 **PERGUNTA CONDUTORA** 42
4 **OBJETIVOS** 43
4.1 OBJETIVO GERAL 43
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 43
5 **MATERIAIS E MÉTODOS** 44
5.1 DESENHO DO ESTUDO 44
5.2 LOCAL DO ESTUDO 44
5.3 PERÍODO DO ESTUDO 44
5.4 POPULAÇÃO / AMOSTRA DO ESTUDO 44
5.4.1 **Critérios de inclusão** 45
5.4.2 **Critérios de exclusão** 45
5.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS / CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO AGENTE ETIOLÓGICO 46
5.5.1 **Confirmação da espécie dos isolados bacterianos** 46
5.5.2 **Teste de sensibilidade aos antimicrobianos** 47
5.5.3 **Teste *in vitro* de hidrólise enzimática dos carbapenêmicos** 49
5.5.4 **Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento** 50
5.5.5 **Pesquisa de genes de resistência** 51
5.5.6 **Determinação da relação genética entre os isolados estudados** 52

5.6 CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS 55
5.6.1 **Variáveis independentes**.....55
5.6.2 **Variáveis dependentes**.....60
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA 61
6 **RESULTADOS**.....62
6.1 ARTIGO - ANÁLISE DE SOBREVIDA, ASPECTOS CLÍNICOS E RESISTÊNCIA MICROBIANA EM BACTEREMIAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*.....62
6.2 TABELAS E FIGURAS QUE NÃO FORAM UTILIZADAS NO ARTIGO 81
7 **CONCLUSÕES** 84
REFERÊNCIAS.....85
APÊNDICE A – VERSÃO DO ARTIGO EM INGLÊS.....97
ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....119
ANEXO B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS.....122

1 INTRODUÇÃO

Em 2017, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou a disseminação mundial de cepas de Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos (CRE) como “prioridade crítica” na lista de bactérias que apresentam risco para a saúde humana (TACCONELLI et al., 2018). Resistência microbiana em infecções por *Klebsiella pneumoniae* vêm aumentando o número de óbitos relacionados à assistência à saúde (SANTOS; SECOLI, 2019). A mortalidade nas infecções por isolados de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos (CRKP) parece ser mais elevada do que por isolados sensíveis (CSKP) (HUSSEIN et al., 2013).

No Brasil, a *K. pneumoniae* é o agente etiológico mais prevalente nas infecções primárias de corrente sanguínea (IPCS) associadas ao cateter venoso central (CVC) em unidades de terapia intensiva (UTI) adulto. Cerca de 40% desses isolados apresentaram resistência às cefalosporinas de terceira e quarta gerações e carbapenêmicos (ANVISA, 2019). O Nordeste do Brasil engloba a segunda maior população do país (IBGE, 2019), e, por limitação de recursos, apresenta escassos dados sobre o tema.

A resistência aos carbapenêmicos em isolados de *K. pneumoniae* foi associada à falha terapêutica e ao aumento de mortalidade (GOODMAN et al., 2016; KOHLER et al., 2017; ZILBERBERG et al., 2017). A produção de carbapenemases limita os recursos terapêuticos e parece ser o principal fator responsável pelo pior prognóstico (ZHANG et al., 2014). Por outro lado, uma metanálise não identificou associação entre resistência aos carbapenêmicos e óbito (PARAMYTHIOTOU; ROUTSI, 2016). Os aspectos que influenciam a evolução clínica e desfecho em infecções por *K. pneumoniae* necessitam de melhor compreensão.

Isolados de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos (CRKP) apresentam diferentes perfis de sensibilidade e mecanismos moleculares de resistência (LEE et al., 2016). Atualmente, a *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) é endêmica no Brasil (SAMPAIO; GALES, 2016). Nos últimos anos, observamos o aparecimento de novas enzimas. A carbapenemase *Brazilian*

Klebsiella carbapenemase (BKC) foi identificada pela primeira vez na cidade de São Paulo, sudeste do Brasil (NICOLETTI et al., 2015). Até o momento, não há registro desta enzima no nordeste brasileiro.

A resistência plasmidial à polimixina, opção terapêutica em infecções por isolados CRKP, tem sido reportada. Em 2015 na China, foi identificado o gene *mcr-1* em isolados de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* resistentes à colistina (LIU et al., 2016). Em 2016, este gene foi isolado em *E. coli* em Recife/PE (ROCHA et al., 2017). No sudeste do Brasil, foi descrito um isolado de *K. pneumoniae* carreando o genes *mcr-1* e bla_{KPC-2} (DALMOLIN et al., 2018). Não há relatos na literatura da ocorrência do gene *mcr-1* em *K. pneumoniae* em Recife/PE.

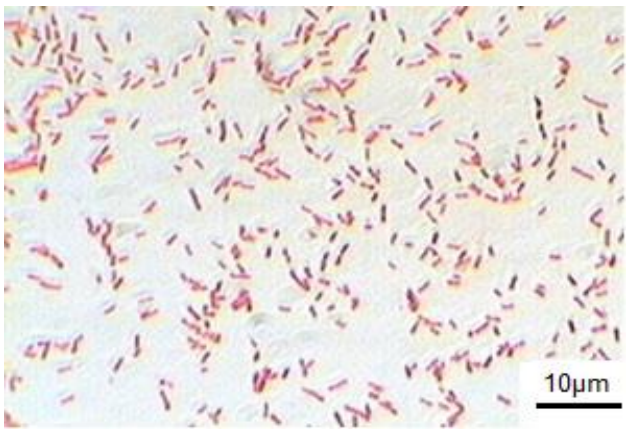
Em virtude da importância dessa infecção no cenário brasileiro, elaboramos este estudo para descrever os aspectos epidemiológicos e clínicos das bacteremias por *K. pneumoniae*, perfis de sensibilidade e mecanismos moleculares de resistência microbiana em hospital terciário em Recife/PE.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS DA ESPÉCIE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Em 1882, Friedlander descreve pela primeira vez bacilos encapsulados em tecido pulmonar de um paciente com pneumonia. Inicialmente, denominados “bacilos de Friedlander”, a primeira designação taxonômica foi *Bacillus mucosus capsulatus* (RUSSO; MARR, 2019). Em 1884, o dinamarquês Hans Christian Gram (1853-1938) desenvolve uma técnica de coloração, atualmente conhecida como “coloração de Gram”, e classifica tais bacilos como Gram-negativos (Figura 1). Diferenciam-se assim dos cocos Gram-positivos (*Streptococcus pneumoniae*) também isolados no pulmão. Em 1886, em homenagem ao bacteriologista alemão Edwin Klebs (1834-1913), Trevisan denomina tais bacilos de *Klebsiella pneumoniae* (PODSCHUN; ULLMANN, 1998).

Figura 1 - *Klebsiella pneumoniae*: cor vermelha à coloração de Gram (microscopia óptica)



Fonte: IDSA. Disponível em: <http://www.idimages.org>. Acesso em: 28/07/2019.

K. pneumoniae são bactérias anaeróbias facultativas, imóveis, em forma de bastonete que possuem 0,3 a 1µm de diâmetro e de 0,6 a 6µm de comprimento (Figura 2) (BRISSE; GRIMONT; GRIMONT, 2006). Estão presentes em dois habitats distintos: no meio ambiente, em plantas, solo, esgoto e águas de superfícies; e colonizando a mucosa da nasofaringe e intestinal de mamíferos, como humanos, equinos, suínos e, até mesmo, marinos, como tartarugas. Em humanos, o etilismo e

a exposição prévia a antimicrobianos são fatores de risco para colonização por *K. pneumoniae.* Em indivíduos imunocompetentes desospitalizados, raramente são encontradas na pele. As taxas de positivação em *swabs* nasais variam de 1 a 6%, enquanto que *swabs* retais variam de 5 a 38%. Em pacientes hospitalizados, as taxas de colonização aumentam para 19% em nasofaringe, 42% nas mãos e 77% no reto (PODSCHUN; ULLMANN, 1998).

Figura 2 - *Klebsiella pneumoniae*: microscopia eletrônica

Fonte: Health. Disponível em: <https://www.sciencemag.org/>. Acesso em: 28/07/2019.

Pertencentes à ordem Enterobacteriales, família Enterobacteriaceae, inicialmente o gênero *Klebsiella* era subdividido em três espécies cujos nomes correspondiam às doenças que causavam: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae* e *K. rhinoscleromatis*. Com o desenvolvimento de novos métodos taxonômicos, como a taxonomia numérica, essa divisão sofreu contínuas modificações. Atualmente, as classificações mais utilizadas são: Cowan (adotada no Reino Unido) e Orskov (nos Estados Unidos) (PODSCHUN; ULLMANN, 1998). A metodologia de Cowan baseia-se na análise de alterações morfológicas à microscopia eletrônica e testes bioquímicos (COWAN et al., 1960). De acordo com a classificação de Orskov e Orskov (1984), o gênero *Klebsiella* apresenta sete espécies e subespécies: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. terrigena* e *K. ornithinolytica* (WANG *et al.*, 2008). Recentemente, a análise genômica de isolados de *K. pneumoniae* embasou a divisão da espécie em três espécies distintas: *K.*

pneumoniae, *K. quasipneumoniae* e *K. variicola*. Erros na identificação da *K. quasipneumoniae* e *K. variicola* como *K. pneumoniae* são comuns. Todas as espécies podem causar infecções em humanos, contudo a mais importante é *K. pneumoniae* (RUSSO; MARR, 2019).

2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA

Os fatores de virulência são moléculas expressas com o intuito de aumentar a patogenicidade ou “capacidade de causar infecção”. Existem cinco fatores de virulência principais em *K. pneumoniae*: capsulares, polissacarídeos extracapsulares, lipopolissacarídeos, sideróforos e adesinas (Quadro 1). Um mesmo isolado de *K. pneumoniae* pode apresentar variações nos fatores e no nível de virulência identificados (PODSCHUN; ULLMANN, 1998). Cepas de *K. pneumoniae* isoladas de áreas geograficamente distintas apresentam variações nestes fatores *(*YU et al., 2006).

Quadro 1 - Fatores de virulência em *Klebsiella pneumoniae*

Fator de virulência	**Principais componentes**	**Função**
Capsular: antígeno K (79 sorotipos)	Polissacarídeo capsular: K1 / K2	Antifagocitose
Fenótipo hipermucoviscoso	Polissacarídeo extracapsular	Sororresistência
Lipopolissacarídeo (LPS): antígeno O (9 sorotipos)	Cadeia lateral O	Endotoxina Sororresistência
Sideróforos	Enterobactina Aerobactina Sistema de captação de ferro – Kfu	Aumento da captação de ferro Crescimento
Adesinas	Pili (fímbria): Tipo 1 (FimH) Tipo 3 (MrkD)	Adesão

Fonte: Adaptado de Yu, 2017. Disponível em: <http://www.uptodate.com>. Acesso em: 28/07/2019.

O gênero *Klebsiella* apresenta tipicamente dois antígenos na superfície celular: K (capsular) e O (lipopolissacarídeo - LPS). O antígeno K é um polissacarídeo capsular classificado em 79 sorotipos (BRISSE et al., 2013). A distribuição de cada sorotipo varia geograficamente. Na Europa e na América do

Norte, predominam os sorotipos K2 (mais prevalente no mundo), K21 e K55. O sorotipo K1 associou-se a quadros graves, como bacteremia, abscessos hepáticos metastáticos e endoftalmite séptica em Taiwan e na Coréia. Os sorotipos K1 e K2 são mais virulentos que os isolados não-K1/K2, principalmente pela capacidade de expressão do fenótipo hipermucoviscoso (Figura 3) e proteção contra fagocitose pelos neutrófilos, especificamente macrófagos alveolares (RUSSO; MARR, 2019).

Figura 3 - *Klebsiella pneumoniae* hipermucoviscosa. Teste de corda positivo: presença de muco verticalizado (>5 mm) após toque com alça circular na placa de ágar, caracterizando o fenótipo hipermucoviscoso

Fonte: Adaptado de RAFAT, 2013.

Os principais genes associados ao fenótipo hipermucoviscoso são *mag*A (gene A associado a mucoviscosidade, atualmente denominado *wzy)*, *rmp*A (regulador de fenótipo mucoso A) e o gene cromossomal *all*S (associado ao metabolismo da alantoina). O produto codificado pelo gene rmp_A atua como regulador ou ativador da transcriptação dos genes responsáveis pela síntese do polissacarídeo capsular (genes *cps*). Os genes de virulência associados ao metabolismo do ferro incluem *kfu* (gene cromossomal responsável por um sistema transportador para absorção de ferro), *iuc* (sideróforo aerobactina), *iro* (sideróforo salmochelina) e *irp* (sideróforo yersiniabactina) (RUSSO; MARR, 2019).

A parte externa da cápsula de *K. pneumoniae* (exopolissacarídeos) consiste em uma estrutura de fibras finas em rede, codificada pelo gene cromossomal *cps*

(polissacarídeo capsular) e regulada por elementos genéticos móveis plasmidiais, incluindo *rmp*A (gene A regulador de fenótipo mucoso), *rmp*A2 e *mag*A (gene A associado ao fenótipo mucoso) (KAWAI, 2006; SHON; BAJWA; RUSSO, 2013).

O antígeno O apresenta nove variantes e consiste em um dos componentes do LPS, sendo o principal responsável pela sororresistência ao impedir a ligação de proteínas do complemento C1q e C3b à membrana celular. Além disso, favorece a bacteremia em infecções pulmonares e atua como endotoxina, desencadeando a resposta sistêmica ao processo infeccioso ou septicemia (SHANKAR-SINHA et al., 2004).

Sideróforos são sistemas que aumentam a captação do ferro, atuando como quelantes. Os mais importantes são a enterobactina, a aerobactina e o sistema de captação de ferro Kfu. A aerobactina associa-se à maior virulência (RUSSO et al., 2011). Dois tipos de pili são expressos em *K. pneumoniae*: o tipo 1, presente em todas as enterobactérias; e o tipo 3, responsável pela formação de biofilme e adesão às células do hospedeiro (GERLACH; CLEGG; ALLEN, 1989).

2.3 INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

O período anterior à utilização da penicilina é denominado “era pré-antibiótica”. Nesta época, as principais infecções causadas por *K. pneumoniae* eram pneumonias adquiridas na comunidade (PAC) graves em pacientes etilistas, diabéticos ou pneumopatas, infecções do trato urinário (ITU), do trato biliar e osteomielites (SHON; BAJWA; RUSSO, 2013). Nos dias atuais, a maior parte das infecções por *K. pneumoniae* são relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (HUSSEIN et al., 2013).

Pacientes imunocomprometidos, recém-nascidos e idosos apresentam maior suscetibilidade a estas infecções. Algumas comorbidades predispõem à colonização e ao desenvolvimento da infecção, como: diabetes mellitus, neoplasias malignas, doenças hepatobiliares, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), uso prolongado de corticosteroides e insuficiência renal crônica (KO et al., 2002; KANG et al., 2006). O diabetes mellitus é o fator de risco mais frequentemente associado às infecções por *K. pneumoniae* adquiridas na comunidade, enquanto que as

neoplasias malignas associam-se às infecções nosocomiais (TSAY et al., 2002; SHON; BAJWA; RUSSO, 2013).

A letalidade na PAC por *K. pneumoniae* mesmo com terapia antimicrobiana adequada ainda é elevada (29,7%) (LIN et al., 2015). Um estudo com 93 pacientes observou maior letalidade nas bacteremias secundárias à PAC por *K. pneumoniae* em relação às causadas por *Streptococcus pneumoniae* (55 versus 27%). A infecção por *K. pneumoniae* foi fator de risco independente associado ao óbito (LIN et al., 2010).

Em países ocidentais, apesar de pouco isolada em PAC, um estudo evidenciou associação entre as infecções respiratórias por *K. pneumoniae* e aumento do risco de evento cardiovascular e óbito. Uma possível explicação seria a resposta imunogênica exacerbada desencadeada pela infecção por *K. pneumoniae* com hiperprodução de citocinas. A inflamação contribui diretamente para desestabilização da placa e progressão da aterosclerose, alterações no perfil lipoprotéico e predisposição a arritmias (GRIFFIN; WIEMKEN; ARNOLD, 2013).

2.3.1 *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta

Foram descritos no leste asiático, inicialmente em Taiwan, abscessos hepáticos invasivos causados por *K. pneumoniae* em pacientes da comunidade sem associação a desordens hepatobiliares ou fatores de risco para IRAS. Em 3 a 7,8% dos casos, observaram-se complicações por embolização séptica, como endoftalmite e meningite (FANG et al., 2007). Outro estudo realizado em sete países (Taiwan, África do Sul, Estados Unidos, Austrália, Bélgica, Turquia e Argentina) com 455 casos de bacteremias por *K. pneumoniae* identificou que as pneumonias adquiridas na comunidade (PAC) e os abscessos hepáticos invasivos ocorriam principalmente em Taiwan (YU et al., 2007). Não há relato sobre associação entre estes abscessos hepáticos e PAC. Nas últimas décadas, *K. pneumoniae* foi pouco isolada nas PAC na América do Norte, Europa e Austrália (GRIFFIN; WIEMKEN; ARNOLD, 2013; SHON; BAJWA; RUSSO, 2013).

Um estudo realizado durante dez anos em Nova York com 79 casos de abscessos hepáticos identificou *K. pneumoniae* como agente etiológico mais

prevalente (41%). Em apenas um caso, ocorreu associação com doença hepatobiliar ou colangite e todos os pacientes eram de etnia asiática ou hispânica (RAHIMIAN et al., 2004). Há também relatos na Califórnia (Estados Unidos) (FRAZEE; HANSEN; LAMBERT, 2009) e na França (DECRÉ et al., 2011) sobre abscessos hepáticos com evolução rápida e fatal, causados por isolados de *K. pneumoniae* com fatores de virulência semelhantes aos descritos na Ásia. A maioria dos pacientes era de etnia asiática, tinha histórico de viagem a algum país da costa asiática do Pacífico ou contato com pessoas provenientes destas regiões (MCCABE; LAMBERT; FRAZEE, 2010). Apesar do elevado nível de virulência, em relação ao perfil de sensibilidade, a maior parte dos isolados mostrava sensibilidade aos antimicrobianos rotineiramente utilizados (LIN et al., 2010).

K. pneumoniae hipervirulenta (hvKP) é um subtipo evolutivo com predileção por acometer indivíduos saudáveis da comunidade em infecções graves, como abscessos hepáticos metastáticos, infecções do sistema nervoso central e endoftalmites endógenas, sendo raros nas IRAS. hvKP difere da *K. pneumoniae* clássica pela habilidade de evasão à resposta imune e maior virulência, secundárias à aquisição de fatores de virulência, principalmente hiperprodução do polissacarídeo capsular e sideróforos, como aerobactina. Há relatos destas infecções globalmente, todavia ocorrem com maior frequência nos países da margem do pacífico asiático (LEE et al., 2016; RUSSO; MARR, 2019). A etnia chinesa parece ser fator de risco para colonização por *K. pneumoniae*. Em Taiwan, 75% dos chineses adultos são portadores nasais de *K. pneumoniae*. As frequências de colonização nasal variam em outros países asiáticos: 19% no Japão, 61% em Singapura e 88% na Malásia (LIN et al., 2012).

2.3.2 Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)

No final do século XX, houve uma melhoria significativa nos serviços médico-assistenciais oferecidos. Inovações terapêuticas aumentaram consideravelmente a sobrevida dos pacientes. As mudanças não ficaram restritas ao contexto hospitalar. Consequentemente, o perfil clínico, epidemiológico e etiológico das infecções adquiridas na comunidade tem se modificado (CARDOSO et al., 2013; MUNITA; ARIAS, 2016).

Além da clássica divisão entre infecções comunitárias e infecções hospitalares, Deborah Friedman propõe um novo termo “infecções relacionadas à assistência à saúde” (IRAS). Nesta nova classificação, ainda atualmente aceita, enquadram-se as infecções presentes na admissão hospitalar ou nas 48h após admissão com um dos seguintes critérios (FRIEDMAN et al., 2002):

- Pacientes domiciliados assistidos em serviços de *home care*, terapia intravenosa ou serviços para feridas crônicas;
- Pacientes atendidos em clínicas de hemodiálise ou em terapia quimioterápica intravenosa nos últimos 30 dias;
- Pacientes hospitalizados por dois ou mais dias nos últimos 90 dias.

Posteriormente, alguns autores acrescentaram outros critérios à definição inicialmente proposta: imunossupressão, neoplasia metastática, radioterapia, transferência de outra unidade assistencial, senescência, procedimento invasivo ou cirurgia prévia, membro da família colonizado por microrganismo “multidrogarresistente” (MDR) e antibioticoterapia recente. Entretanto, a aplicabilidade destes critérios na definição de IRAS e o período de tempo a ser considerado como exposição ainda está em discussão (CARDOSO et al., 2014).

Na era da resistência microbiana e limitação de recursos terapêuticos, as infecções causadas por enterobactérias vêm se tornando um grande desafio (TACCONELLI et al., 2018). Isolados de *K. pneumoniae* produtores de carbapenemases destacam-se como um dos principais agentes etiológicos das IRAS, sendo frequentemente reportados nos últimos 10 anos (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012; LOGAN; WEINSTEIN, 2017; YOO, 2018).

Em um estudo com 4543 pacientes acometidos por pneumonia nos Estados Unidos, em 2002 e 2003, *K. pneumoniae* foi isolada em 8,4% dos casos de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) (KOLLEF et al., 2005). De acordo com dados americanos do *National Nosocomial Infections Surveillance* (NNIS), a *K. pneumoniae* foi responsável por 9,8% (403/4109) das ITU hospitalares, 7,2% (314/4365) das pneumonias nosocomiais, 4,2% (99/2351) das IPCS e 3,0% (89/2984) das infecções de sítio cirúrgico (ISC) em 2003 (WEINSTEIN; GAYNES; EDWARDS, 2005).

A *K. pneumoniae* relaciona-se notadamente às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), entre elas infecções do trato urinário, pneumonias

associadas à ventilação mecânica, infecções de sítio cirúrgico e, principalmente, infecções primárias de corrente sanguínea (IPCS) (KAYE; POGUE, 2015). Estima-se que *K. pneumoniae* foi responsável por cerca de 3 a 8% de todas as IRAS nos Estados Unidos e Europa (SHON; BAJWA; RUSSO, 2013).

2.3.3 Infecções de corrente sanguínea

Bacteremia consiste na presença de isolados bacterianos na corrente sanguínea. As IPCS, associadas ou não a cateter venoso, caracterizam-se pela presença de isolado patogênico, obtido de forma asséptica, identificado em uma ou mais hemoculturas. Uma vez identificada uma espécie colonizante da pele, principalmente *Staphylococcus* coagulase-negativa, será considerada bacteremia se isolada em duas ou mais hemoculturas, caso contrário o resultado será interpretado como contaminação da amostra. Quando o microrganismo identificado está relacionado a outro foco infeccioso, denomina-se bacteremia secundária ou infecção de corrente sanguínea secundária (ANVISA, 2017).

As infecções de corrente sanguínea são a principal causa infecciosa de óbito nos Estados Unidos e Europa com dois milhões de episódios e 250.000 óbitos anualmente, o que equivale a uma mortalidade de 23.5-27.5 por 100.000 pessoas-ano (GOTO; AL-HASAN, 2013). Em uma revisão sistemática, a mortalidade em infecções de corrente sanguínea em adultos no primeiro ano de seguimento variou de 18 a 60% (McNamara et al., 2018).

Depois da *E. coli*, a *K. pneumoniae* é a segunda bactéria Gram-negativa mais frequentemente isolada em infecções de corrente sanguínea, considerando todas as infecções, sejam elas adquiridas na comunidade ou IRAS (MEATHERALL et al., 2009; DIEKEMA et al., 2019). As bacteremias por *K. pneumoniae* são mais frequentes nas IRAS do que nas adquiridas na comunidade. Nas infecções de corrente sanguínea comunitárias, os principais agentes etiológicos identificados são: *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*. *Klebsiella* spp. é o quarto agente mais frequente (LAUPLAND; CHURCH, 2014). Nas bacteremias secundárias, os sítios mais acometidos são o trato biliar e o genitourinário (WEINSTEIN; GAYNES; EDWARDS, 2005).

No Canada, em uma coorte retrospectiva de 640 casos de bacteremia por *K. pneumoniae*, 70% eram relacionados à assistência à saúde. A idade média dos pacientes acometidos era 69 anos e os principais fatores de risco foram transplante de órgãos sólidos, doença hepática crônica, terapia renal dialítica e neoplasias malignas. A taxa de mortalidade global foi 20% com maior ocorrência nos idosos (MEATHERALL et al., 2009). Outro estudo associou maior letalidade em bacteremias por *K. pneumoniae* à admissão em unidade de terapia intensiva, em portadores de tumores em órgãos sólidos e diagnóstico inicial de pneumonia (CHETCUTI ZAMMIT; AZZOPARDI; SANT, 2014).

As infecções de corrente sanguínea por *K. pneumoniae* apresentaram variações sazonais em quatro continentes. As estações do ano, em virtude das mudanças de temperatura e umidade, parecem influenciar a ocorrência destas infecções, com uma maior frequência nos meses mais quentes. A velocidade de crescimento das colônias é ideal na temperatura de 36,9^{o}C e na presença de elevada umidade. Em contrapartida, modelos experimentais demonstraram que a desidratação provoca inativação da bactéria. Tal sazonalidade não é observada em infecções por outras enterobactérias, como *Serratia* sp. e *Enterobacter* sp. Uma hipótese seria a maior tolerabilidade ao calor da *K. pneumoniae* entre os isolados entéricos (ANDERSON et al., 2008).

Ao longo dos anos, observa-se uma mudança no perfil etiológico das infecções de corrente sanguínea. Um estudo multicêntrico norte-americano em 49 hospitais de 1995 a 2002 com 24.179 casos de infecções de corrente sanguínea nosocomiais relatou bactérias Gram-positivas (estafilococos coagulase negativa, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* sp.) em cerca de 60% das infecções. Apenas 5% dos isolados eram *K. pneumoniae* (WISPLINGHOFF et al., 2004). Por outro lado, no Brasil, dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária apontam *K. pneumoniae* e *Staphylococcus* coagulase-negativa como principais agentes etiológicos isolados em IPCS associadas a CVC em pacientes adultos hospitalizados em UTI (ANVISA, 2019).

2.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA

Com a descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming e seu uso na prática médica em 1940, iniciou-se uma era de inovação tecnológica e incontáveis avanços na saúde do homem e agropecuária. Por outro lado, em resposta ao ataque dos antibióticos observa-se um aumento dos isolados bacterianos com a capacidade de resistir à ação dos antimicrobianos aos quais eram suscetíveis. A resistência microbiana é o principal exemplo de adaptação mutacional bacteriana e um “pináculo” da evolução. “Sobrevivência do mais apto” é consequência da imensa plasticidade genética dessas espécies. A OMS classificou a resistência antimicrobiana como um dos três mais importantes problemas de saúde pública do século XXI. Estimam-se no mínimo 23.000 pacientes infectados por isolados MDR e um custo superior a 20 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos, com projeções de causar 300 milhões de óbitos e exorbitantes perdas econômicas até 2050 (MUNITA; ARIAS, 2016).

O fenômeno pode ocorrer de forma inata (cromossomal) ou adquirida através da transferência horizontal de elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons ou integrons (NOLTE, 2014; GOODMAN et al., 2016). Os principais mecanismos de resistência microbiana em bactérias Gram-negativas são: produção de enzimas; alterações de permeabilidade de membrana (perda de porinas na membrana externa); superexpressão de bombas de efluxo; e modificações no sítio de ação do antibiótico ou proteínas ligadoras de penicilina (PBP) modificadas (PELEG; HOOPER, 2010; MUNITA; ARIAS, 2016).

A menor concentração antimicrobiana capaz de inibir o crescimento de um microrganismo denomina-se concentração inibitória mínima (CIM ou MIC, do inglês *minimum inhibitory concentration*). A determinação da CIM estabelece a suscetibilidade *in vitro* (sensibilidade ou resistência) de uma espécie a um antibiótico. Comitês internacionais, como o EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) e o CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) estabelecem os pontos de corte (*breakpoints*) para cada antimicrobiano (ANDREWS, 2001). Em 2014, foi criado o BrCAST (Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos) para normatizar os padrões nacionais (BRCAST, 2017).

O nível de resistência microbiana apresenta variações de acordo com os mecanismos de resistência encontrados. Até recentemente, os TSA baseavam-se em provas fenotípicas e na CIM, sem considerar os mecanismos moleculares de resistência (KAZI et al., 2015). Alguns isolados bacterianos apresentam fenótipos com elevado grau de resistência microbiana pelo acúmulo de diferentes mecanismos (DOORDUIJN et al., 2016). Com o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento de patógenos MDR, a determinação dos mecanismos moleculares de resistência torna-se essencial.

Conforme o CDC (MAGIORAKOS et al., 2012), os isolados bacterianos com resistência aos antimicrobianos classificam-se em:

- Multidroga-resistente (MDR): resistência a pelo menos um antibiótico em três ou mais classes de antimicrobianos;
- Extensivamente droga-resistente (XDR): resistência a pelo menos um antimicrobiano em todas as classes e sensibilidade a apenas dois ou menos antibióticos;
- Pandroga-resistente (PDR): resistência a todos os antibióticos.

Em 2008, a *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) emitiu um alerta sobre o aparecimento de “superbactérias” com elevado grau de resistência aos antibióticos convencionais e urgente necessidade do desenvolvimento de novos antimicrobianos, com o mnemônico “ESKAPE”. Cada letra corresponde à inicial de um patógeno considerado ameaça à saúde global: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* sp. (RICE, 2008).

A disseminação de isolados de *K. pneumoniae* MDR constitui um problema de saúde pública mundial. Em algumas regiões, a elevada prevalência de isolados resistentes aos antibióticos rotineiramente utilizados nos esquemas empíricos, como penicilinas e cefalosporinas, aumenta as chances de falha terapêutica e limita as opções disponíveis (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012). Em 2003, nos Estados Unidos, a taxa de resistência às cefalosporinas de terceira geração em isolados de *K. pneumoniae* variou de 11,2 a 21% nas unidades de terapia intensiva (NNIS; 2004; WEINSTEIN; GAYNES; EDWARDS, 2005). Na América Latina, as taxas de resistência em isolados de *K. pneumoniae* ao imipenem aumentaram

gradativamente: 0,5% de 1997 a 1999, 1,7% de 2003 a 2005 e 8,6% de 2008 a 2010 (GALES et al., 2012). Outro estudo, em países da América Latina em 2011, evidenciou resistência aos carbapenêmicos em *Klebsiella* spp. de 7,9% (JONES et al., 2013).

A escolha antimicrobiana empírica nas IRAS deve se adequar ao perfil microbiológico local. Recomenda-se a monitorização da prevalência de isolados bacterianos MDR e dos perfis de suscetibilidade (BARLAM et al., 2016). Em alguns estudos, infecções por isolados CRKP foram associadas à falha na antibioticoterapia empírica e aumento da mortalidade (RETAMAR et al., 2012; CARDOSO et al., 2013; ZILBERBERG et al., 2017).

Em estudo de caso-controle realizado em pacientes de UTI em Madri (Espanha), idade menor que doze anos e exposição prévia a cefalosporinas de terceira geração ou aminoglicosídeos foram associados independentemente à colonização ou infecção por *K. pneumoniae* MDR (ASENSIO et al., 2000). Nos anos seguintes, alguns estudos de caso-controle e coortes avaliaram fatores de risco e preditores de óbito em infecções por isolados CRKP. As principais publicações estão sumarizadas na tabela 1.

Tabela 1 - Estudos com fatores de risco, preditores de mortalidade, determinantes moleculares de resistência microbiana e mortalidade em infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos

(continua)

Estudo Ano	Período Local	Fatores de risco para CRKP*	Exposição prévia a antibióticos	Preditores de óbito	Mecanismos moleculares de resistência	Mortalidade n/N[a] (%) p-valor
LI et al., 2019	2014 – 2018 China	Terapia imunossupressora Ventilação mecânica Cateter venoso central Nutrição parenteral	Aminoglicosídeos Carbapenêmicos Fluoroquinolonas Cefalosporinas de 3[a] e 4[a] geração	Não avaliados.	*bla*$_{KPC-2}$: 241/244 (98,6) *bla*$_{NDM}$: 6/244 (2,5)	Geral: 100/507 (19,7) CRKP: 71/244 (29,0) CSKP: 29/263 (11,0)
PAN et al., 2019	2014 China	Intubação estomacal prévia Terapia renal substitutiva contínua (CRRT)	Carbapenêmicos	Albumina sérica elevada Antibioticoterapia com cefalosporinas	*bla*$_{KPC-2}$: 66/66 (100) ST11*	Geral: 27/198 (13,6) CRKP: 12/66 (18,2) CSKP: 15/132 (11,4)
ROJO et al., 2018	2013 – 2015 Espanha	Exposição prévia a antibióticos	Não avaliada.	Ventilação mecânica Pneumonia	*bla*$_{OXA-48}$: 14/16 (87,5) *bla*$_{KPC}$: 1/16 (6,3)	CRKP: 4/16 (25,0)
WANG et al., 2018	2010 – 2014 China	Elevado CCI Hemodiálise Doença cardiovascular Ventilação mecânica Cateter vesical Sonda nasogástrica Internamento em UTI Exposição prévia a antibióticos	β-lactâmicos + inibidores de β-lactamase Cefalosporinas de terceira e quarta geração Carbapenêmicos Fluoroquinolonas Antifúngicos	Idade avançada (74,2±16,5 anos) Elevado CCI Uso de aminoglicosídeos	*bla*$_{KPC}$: 31/48 (64,6) Não-KPC: 17/48 (35,4)	Geral: 25/96 (26,0) CRKP: 23/48 (47,9) CSKP: 2/48 (4,2) p = 0,030
PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS et al., 2017	2012 – 2015 Grécia	Doença pulmonar obstrutiva crônica	Colistina Tigeciclina Linezolida	Choque séptico Doença renal crônica Uso de corticosteroides Nutrição parenteral	*bla*$_{KPC}$: 128/139 (92,1) *bla*$_{KPC}$+*bla*$_{VIM}$: 7/139 (5,0) *bla*$_{VIM}$: 3/139 (2,2) *bla*$_{NDM}$:1/139 (0,7)	CRKP: 50/139 (36,0)
MILLS et al., 2016	2008 – 2013 Estados Unidos da América	Transplante de órgãos sólidos e células tronco Ventilação mecânica Incontinência fecal	Glicopeptídeos Carbapenêmicos Metronidazol	Não avaliados.	Não avaliados.	Não avaliado.

Tabela 1 - Estudos com fatores de risco, preditores de mortalidade, determinantes moleculares de resistência microbiana e mortalidade em infecções por *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos

(conclusão)

Estudo Ano	Período Local	Fatores de risco para CRKP*	Exposição prévia a antibióticos	Preditores de óbito	Mecanismos moleculares de resistência	Mortalidade n/N[a] (%) p-valor
JIAO et al., 2015	2010 – 2011 China	Cateter venoso central Traqueostomia Cateter vesical Sonda nasogástrica Internamento em UTI Exposição prévia a antibióticos	Glicopeptídeos Carbapenêmicos	Idade avançada (71±13,8 anos) Doença pulmonar Cardiopatia Disfunção renal Internamento em UTI	*bla*$_{KPC}$: 30/30 (100)	Geral: 15/60 (25,0) CRKP: 10/30 (33,3) CSKP: 5/30 (16,7)
KOFTERIDIS et al., 2014	Grécia	Internamento em UTI Cirurgia prévia Doença renal crônica Cateter venoso central Ventilação mecânica	Não houve associação.	Não houve associação.	*bla*$_{KPC-2}$: 83/83 (100)	Geral: 34/162 (20,0) CRKP: 22/83 (26,5) CSKP: 12/79 (15,2)
PAGANO et al., 2014	2009 – 2012 Itália	Estudo realizado em pacientes onco-hematológicos com bacteremia. Não avaliou fatores de risco para CRKP ou óbito.			*bla*$_{KPC}$: 26/26 (100,0)	Geral: 17/38 (44,7) CRKP: 15/26 (57,6) CSKP: 2/12 (16,7) p = 0,020
TUON et al., 2012	2006 – 2011 Brasil	Idade avançada Ventilação mecânica	Fluoroquinolonas	Não avaliado.	*bla*$_{KPC-2}$: 18/18 (100,0)	Não avaliado.
ZARKOTOU et al., 2011	2008 – 2010 Grécia	Não avaliado.	Não avaliado.	Idade avançada Sepse grave Terapia antibiótica inapropriada Uso de CVC / IPCS Cirurgia prévia	*bla*$_{KPC-2}$: 53/53 (100,0)	CRKP: 28/53 (52,8)

* CRKP: *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos. CSKP: *Klebsiella pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos. UTI: unidade de terapia intensiva. CCI: Índice de comorbidades de Charlson. ESBL: β-lactamase de espectro estendido. CVC: cateter venoso central. IPCS: infecção primária de corrente sanguínea. ST: tipo de sequência, do inglês *sequence type.* [a]n/N: número de óbitos/amostra. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. NDM: Nova Deli metalo-β-lactamase. VIM: Verona metalo-β-lactamase codificada em integron, do inglês *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase*. OXA: oxacilinase. Fonte: autoria própria.

2.4.1 Mecanismos de resistência microbiana em *Klebsiella pneumoniae*

O aumento da resistência microbiana entre bactérias Gram-negativas é um problema de ordem mundial. A produção enzimática é o principal mecanismo de resistência em isolados de *K. pneumoniae*. A eficácia de alguns β-lactâmicos, como as cefalosporinas, vem sendo comprometida pela disseminação de isolados bacterianos produtores de β-lactamases do tipo cefalosporinases. O fenômeno intensificou-se após 1970 com a ampla utilização das penicilinas (amoxicilina e ampicilina) e cefalosporinas de espectro estreito ou *narrow-spectrum* (primeira e segunda gerações), e a consequente disseminação das penicilinases e cefalosporinases de espectro estreito. Na década seguinte, com a introdução das cefalosporinas de espectro estendido ou *expanded-spectrum* (terceira e quarta gerações) e monobactâmicos no mercado, eclodiram as β-lactamases de espectro estendido (ESBL) e ocorreu a dispersão mundial de isolados bacterianos produtores destas enzimas (ROSSOLINI; DOCQUIER, 2006). Em 1983, houve o primeiro relato de isolado de *K. pneumoniae* ESBL positivo (KNOTHE et al., 1983).

O início do século XXI foi marcado pelo intenso uso dos carbapenêmicos, antimicrobianos de escolha para o tratamento das infecções por isolados produtores de ESBL (D'ANGELO et al., 2016). O anel β-lactâmico dos carbapenêmicos apresenta grande similaridade às cadeias terminais D-alanina-D-alanina dos peptideoglicanos presentes na parede celular bacteriana. Ao se ligarem às PBP (proteínas ligadoras de penicilinas), os carbapenêmicos inibem a transpeptidação e bloqueiam a síntese da parede celular. A estrutura bioquímica destes antimicrobianos assegura baixa toxicidade por não atuarem em células eucarióticas (EL-GAMAL et al., 2017). No Brasil, encontram-se disponíveis carbapenêmicos do grupo 1 (ertapenem) e grupo 2 (imipenem e meropenem). Não dispomos para uso comercial do doripenem (carbapenêmico do grupo 2), e de representantes do grupo 3, ativos também contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).

Os principais mecanismos de resistência aos carbapenêmicos em *K. pneumoniae* é a produção de carbapenemases e a hiperprodução de enzimas AmpC ou ESBL associada à alterações na permeabilidade da membrana pela perda de porinas (GOODMAN et al., 2016). Isolados de *K. pneumoniae* não produtores de carbapenemases podem apresentar menor virulência. As infecções por estes isolados cursam com melhor evolução clínica do que às causadas por isolados

produtores de carbapenemases, sugerindo que o desfecho clínico pode variar conforme o mecanismo de resistência (GOODMAN et al., 2016; TAMMA et al., 2017).

A resistência aos carbapenêmicos pode ser mediada ou não pela produção de carbapenemases. A relação entre a perda de porinas OmpK35 e OmpK36 e resistência aos carbapenêmicos em Enterobacteriaceae ainda não está bem definida. Diferentes mecanismos de resistência microbiana parecem influenciar a resposta à antibioticoterapia e o desfecho clínico (KAZI; SHETTY; RODRIGUES, 2015). Alguns estudos demonstraram que, em isolados CRKP, com alteração de permeabilidade por perda de porinas, a eliminação da carbapenemase KPC tornou-as sensíveis aos carbapenêmicos. Sugerindo que a presença de carbapenemases seria o principal fator responsável pela resistência (ZHANG et al., 2014). Por outro lado, em outro estudo, isolados não produtores de carbapenemases e com perda de porinas mantiveram elevadas CIM para o meropenem (KITCHEL et al., 2010).

De acordo com os critérios do CLSI/2010, CRE caracteriza-se por doripenem, imipenem ou meropenem com CIM ≥ 4mg/L ou ≥ 2mg/L para o ertapenem. Em 2015, o CDC acrescentou que se evidencia resistência aos carbapenêmicos, se os testes de suscetibilidade demonstrarem resistência a pelo menos um carbapenêmico, independente da sensibilidade às cefalosporinas de terceira geração. Estas mudanças foram adotadas para aumentar a sensibilidade para detecção de isolados produtores de carbapenemases (CLSI, 2015).

2.4.2 Carbapenemases

As carbapenemases são enzimas com capacidade catalítica contra a maior parte dos anéis β-lactâmicos, incluindo carbapenêmicos. Podem ser codificadas no cromossomo (enzimas: IMI-1, NMC-A, SME, SHV-38 e SFC-1) ou presentes em elementos genéticos móveis, como os plasmídeos (enzimas: KPC, GES e IMI-2). Além da síntese enzimática, baixo nível de resistência aos carbapenêmicos pode surgir devido a combinação de alterações de permeabilidade de membrana e hiperexpressão de outras enzimas, como AmpC ou ESBL, o que pode interferir nos testes fenotípicos para detecção de carbapenemases (MUNOZ-PRICE et al., 2013).

Diferenciar as várias classes de β-lactamases é laborioso. Não há um teste único para análise simultânea de todas as enzimas. Geralmente combinam-se testes, como o teste de difusão do disco duplo, teste de Hodge Modificado (MHT) e testes inibitórios, contudo não há aplicabilidade universal para todas as β-lactamases. Testes automatizados de baixa sensibilidade ou especificidade podem muitas vezes não identificar a presença de carbapenemases e, consequentemente, não detectar a ocorrência de surtos (KAZI et al., 2015).

Baseando-se na estrutura molecular, em 1980, Ambler classifica as β-lactamases de acordo com a sequência de aminoácidos que as codificam: A (ESBL; penicilinases e carbenicilinases); B (metalo-β-lactamases); C (cefalosporinases cromossomais); e D (oxacilinases) (AMBLER, 1980). As enzimas da classe C de Ambler (AmpC cefalosporinases) não conseguem hidrolisar carbapenêmicos. Nos isolados produtores destas enzimas, o fenótipo de resistência aos carbapenêmicos é resultante de uma hiperexpressão de AmpC associada à perda de porinas ou bombas de efluxo (PAPP-WALLACE et al., 2011; LEE et al., 2016).

De acordo com a dependência de cátions bivalentes de zinco para a ativação enzimática, as carbapenemases classificam-se em zinco independente ou serino-β-lactamase (enzimas das classes A e D de Ambler); e zinco dependente ou metalo-β-lactamase (MBL) (enzimas da classe B de Ambler). Outra classificação, proposta por Bush em 1989, e atualizada em 1995 e 2010 por Bush e Jacoby, correlaciona o substrato preferencial e as propriedades inibitórias com a estrutura molecular da enzima (Tabela 3) (BUSH; JACOBY, 2010). As carbapenemases presentes em *K. pneumoniae* têm distribuição cosmopolita. As serino-carbapenemases (classe A) de Ambler, como a *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC), são as carbapenemases mais comumente reportadas em isolados clínicos em diversas partes do mundo. As enzimas da classe B e D de Ambler também são identificadas em *K. pneumoniae*, porém em menor frequência (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012).

Quadro 2 - Classificação das principais carbapenemases

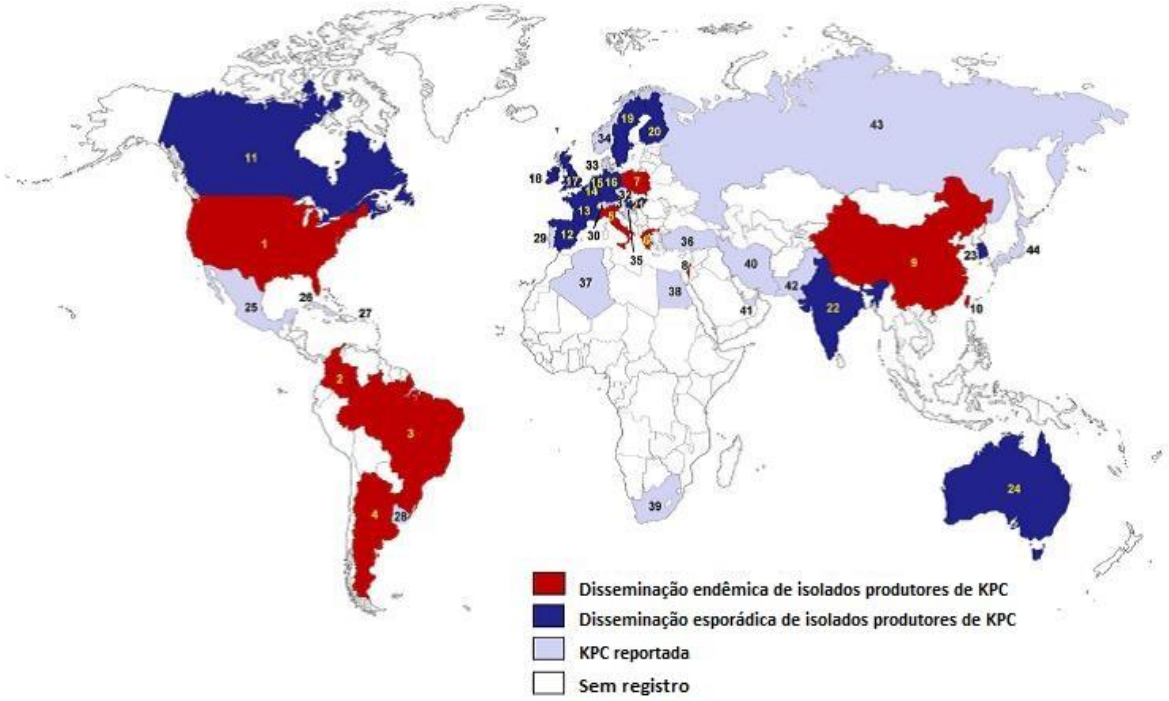
Carbapenemases	Classificação Ambler (1980)	Classificação Bush e Jacoby (2010)	Ativação enzimática
KPC SME GES	A	2f	Serino-β-lactamases
NDM VIM IMP SPM	B	3ª	Metalo-β-lactamases
OXA	D	2d	Serino-β-lactamases

IMP: Imipenemase. KPC: *K. pneumoniae* carbapenemase. NDM: Nova Deli metalo-β-lactamase. OXA: Oxacillinase; SPM: São Paulo metalo-β-lactamase. VIM: Verona metalo-β-lactamase codificada em integron, do inglês *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase*. Fonte: Adaptado de Bush e Jacoby, 2010; Goodman et al., 2016.

A enzima KPC apresenta a capacidade de hidrolisar todos os β-lactâmicos: penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos, carbapenêmicos e, até mesmo, inibidores de β-lactamases. Os variantes alélicos identificados mais bem descritos são KPC-2 e KPC-3 (MUNOZ-PRICE et al., 2013). Descrita pela primeira vez nos Estados Unidos em 1996 (YIGIT et al., 2001), sua prevalência em isolados de *K. pneumoniae* vem se mantendo estável ao longo dos anos nesse país: 5,9% em 2007, 4,9% em 2008 e 5,7% em 2009 (KAISER et al., 2013). Existem pelo menos 25 variantes de KPC descritos (MUNITA; ARIAS, 2016).

A epidemiologia molecular dos isolados de *K. pneumoniae* produtores de KPC varia geograficamente (Figura 4). Atualmente, carbapenemases são endêmicas no Brasil, Argentina, Colômbia, Estados Unidos, China, Taiwan e alguns países da Europa, como Itália, Polônia, Grécia e Israel. Eventuais surtos ocorrem em diversos países europeus, como Espanha, Bélgica, Alemanha, Holanda, Reino Unido, Suécia, Finlândia, França, Croácia, Hungria e República Tcheca. Assim como na Austrália, Índia e Coréia do Sul (MUNOZ-PRICE et al., 2013).

Figura 4 - Disseminação epidemiológica da *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC



Fonte: Adaptado de Lee et al., 2016.

No Brasil, o primeiro relato de *K. pneumoniae* produtora de KPC-2 foi no Recife, em 2006 (MONTEIRO et al., 2009). Entretanto novos estudos detectaram a ocorrência de KPC-2 em hospitais brasileiros desde 2005 (PAVEZ; MAMIZUKA; LINCOPAN, 2009). Atualmente disseminada por todo o país, a enzima KPC-2 já foi reportada nas cinco regiões brasileiras (ANDRADE et al., 2011; SEKI et al., 2011). Em Recife/PE, a carbapenemase KPC é amplamente descrita em isolados de enterobactérias (CABRAL et al., 2012, 2015, 2017; MARGATE et al., 2015).

Outras carbapenemases têm emergido em diversas partes do globo. Em 2009 na Índia, emergiu uma MBL, denominada *New Delhi Metalo-β-lactamase* (NDM) (LASCOLS et al., 2013). Em 2014, um trabalho realizado em Mumbai, com 113 enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, das quais 46 eram *K. pneumoniae*, identificou por técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) multiplex, entre as carbapenemases pesquisadas (*bla*$_{NDM}$, *bla*$_{OXA}$, *bla*$_{KPC}$, *bla*$_{VIM}$ e *bla*$_{IMP}$), uma maior prevalência de *bla*$_{NDM-1}$ (75,2%), sugerindo que a distribuição dessas enzimas varia em função da territorialidade ou áreas geográficas (KAZI et al., 2015).

As MBL encontram-se amplamente disseminadas pelo território brasileiro. Em 2013, a enzima NDM foi reportada em *Providencia rettgeri*, *Enterobacter* spp., *Morganella morgannii* e *Escherichia coli*, em Porto Alegre/RS e no Rio de Janeiro/RJ. Em *Pseudomonas aeruginosa*, predomina a SPM (São Paulo MBL), sendo esta a MBL mais prevalente no nosso país (FERREIRA et al., 2016).

Entre as enzimas da classe D de Ambler, encontradas principalmente em espécies de *Acinetobacter* spp., somente OXA-23 e OXA-48 foram descritas em Enterobacteriacea. O primeiro relato de OXA-48 em *K. pneumoniae* foi na Turquia em 2001 (CANDAN E AKSÖZ, 2015). No Brasil, algumas enterobactérias produtoras de oxacilinases foram descritos recentemente (PEREIRA et al., 2015).

2.5 ANTIBIOTICOTERAPIA NAS INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Nos últimos 15 anos, o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas MDR vem se tornando um grande desafio. O surgimento de novas classes de antimicrobianos e novos antibióticos não acompanha o aumento progressivo da resistência microbiana. Entidades reconhecidas internacionalmente, como CDC e OMS, têm feito alertas globais para que se priorizem investimentos no desenvolvimento de opções para o tratamento de infecções por bactérias MDR (LEE et al., 2016; BASSETTI et al., 2019).

A prevalência de isolados CRKP tem aumentado globalmente. Além da resistência aos carbapenêmicos, isolados CRKP costumam ser resistentes a todos os β-lactâmicos, incluindo penicilinas, inibidores de β-lactamases e cefalosporinas, e fluoroquinolonas, o que limita as opções terapêuticas. Entre as alternativas medicamentosas disponíveis, dispomos dos aminoglicosídeos, glicilciclinas, fosfomicina (indisponível na apresentação parenteral no Brasil), polimixinas, carbapenêmicos em terapia dupla (ertapenem e meropenem) e, mais recentemente, ceftazidima-avibactam. A melhor estratégia ainda não está definida (TRECARICHI; TUMBARELLO, 2017; LI et al., 2019).

As recomendações atuais para o tratamento de infecções por isolados CRKP sugerem associação de antimicrobianos, preferencialmente tigeciclina e polimixina. A ceftazidima-avibactam é uma combinação de uma antiga cefalosporina com um novo inibidor de β-lactamase indicada para o tratamento de infecções intra-abdominais (em associação com o metronidazol), ITU complicada e recentemente pneumonias. Potente inibidor das enzimas da classe A, classe C e algumas da classe D de Ambler, é intensamente ativa contra carbapenemases do tipo KPC-2 e OXA-48 (TUON; ROCHA; FORMIGONI-PINTO, 2018; SHEU et al., 2019).

Terapia combinada é geralmente utilizada no manejo das infecções por isolados CRKP. Melhor sobrevida não foi associada à terapia combinada em alguns estudos (ZARKOTOU et al., 2011; GOMEZ-SIMMONDS et al., 2016). Por outro lado, estudos mais recentes demonstraram que esquemas antimicrobianos combinados parecem ter melhor resposta do que monoterapia (TRECARICHI; TUMBARELLO, 2017; GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ et al., 2017). Isolados clínicos de *K. pneumoniae* com CIM para o meropenem ≤ 8mg/L tratados com dose dobrada e tempo de infusão prolongada do carbapenêmico em associação com outro antibiótico apresentaram menor mortalidade do que monoterapia (TZOUVELEKIS et al., 2014; DAIKOS et al., 2014).

As polimixinas B e E (colistina) são polipeptídios de ação bactericida, produzidos pela bactéria *Paenibacillus polymyxa* e ativos exclusivamente contra bactérias Gram-negativas, sem atividade contra Gram-positivas e anaeróbias. O mecanismo de ação ocorre pela interação da polimixina policatiônica com o LPS da membrana externa da parede celular, o que desloca os cátions bivalentes Ca^{2+} e Mg^{2+}, inverte a carga iônica e desencadeia a lise celular. Devido aos efeitos adversos, como distúrbios eletrolíticos, nefrotoxicidade e neurotoxicidade, inicialmente tiveram seu uso desencorajado. O surgimento de antibióticos com maior segurança e tolerabilidade restringiu o uso das polimixinas em humanos às formulações tópicas e na agropecuária. Entretanto, diante da ineficácia das opções terapêuticas para o tratamento de infecções por bactérias MDR, estes “velhos” antimicrobianos foram reintroduzidos no mercado como último recurso (AH; KIM; LEE, 2014; CANIAUX et al., 2017).

Algumas espécies, como *Morganella* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. e *Burkholderia* spp., apresentam resistência intrínseca às polimixinas codificadas em mutações cromossomais descritas há alguns anos. Por outro lado, na China em 2015, o gene plasmidial *mcr-1* foi descrito em isolados de *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes à colistina (LIU et al., 2016). Em 2016 no nordeste brasileiro, o gene *mcr-1* foi identificado em *E. coli* (FERNANDES et al., 2016). Recentemente, no sudeste do Brasil, foi descrito um isolado de *K. pneumoniae* carreando o genes *mcr-1* e bla_{KPC-2} (DALMOLIN et al., 2018). Não há relatos da ocorrência do gene *mcr-1* em *K. pneumoniae* em Recife/PE. A resistência transferível à polimixina precisa ser monitorizada.

Por fim, a magnitude desastrosa das bacteremias por isolados de *K. pneumoniae* adverte e intriga a comunidade científica mundial. A disseminação dos isolados resistentes aos carbapenêmicos, considerados as melhores opções para o tratamento de Gram-negativos MDR, é preocupante. Conhecer minuciosamente as infecções por isolados CRKP e identificar indivíduos predispostos ao adoecimento e morte é essencial para redução dos indicadores de morbimortalidade e melhor utilização dos recursos disponíveis.

3 PERGUNTA CONDUTORA

A resistência aos carbapenêmicos e mortalidade em bacteremias por *K. pneumoniae* em hospital terciário de Recife/PE podem ser justificadas pelos aspectos clínicos, epidemiológicos e mecanismos de resistência microbiana?

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Descrever os aspectos clínicos, epidemiológicos, perfis de sensibilidade e mecanismos moleculares de resistência microbiana em bacteremias por isolados de *K. pneumoniae* em um hospital terciário de Recife/PE no período de janeiro de 2016 a maio de 2017.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os aspectos epidemiológicos dos participantes do estudo, quanto ao sexo biológico e idade;
- Descrever os aspectos clínicos das bacteremias por *K. pneumoniae* (comorbidades; adequação do esquema antimicrobiano empírico; desfecho);
- Analisar a sobrevida dos participantes com bacteremias por *K. pneumoniae* (tempo entre admissão e bacteremia; bacteremia e óbito; e tempo de permanência intra-hospitalar);
- Determinar o perfil de sensibilidade dos isolados de *K. pneumoniae* em bacteremias;
- Identificar os mecanismos e determinantes genéticos da resistência microbiana;
- Determinar a relação clonal dos isolados de *K. pneumoniae*.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo do tipo corte transversal.

5.2 LOCAL DO ESTUDO

A coleta de dados de prontuários foi realizada no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do Hospital das Clínicas / UFPE, localizado na cidade de Recife/PE. O hospital caracteriza-se como terciário universitário e dispõe de 411 leitos, dos quais 12 leitos são UTI adulto e 13 leitos UTI neonatal. A média de internamentos é 1251 admissões e são realizadas cerca de 683 cirurgias por mês (EBSERH, 2019). Além disso, utilizamos o banco de dados (planilhas e relatórios) do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar para melhor avaliar a exposição prévia a antimicrobianos e definição diagnóstica.

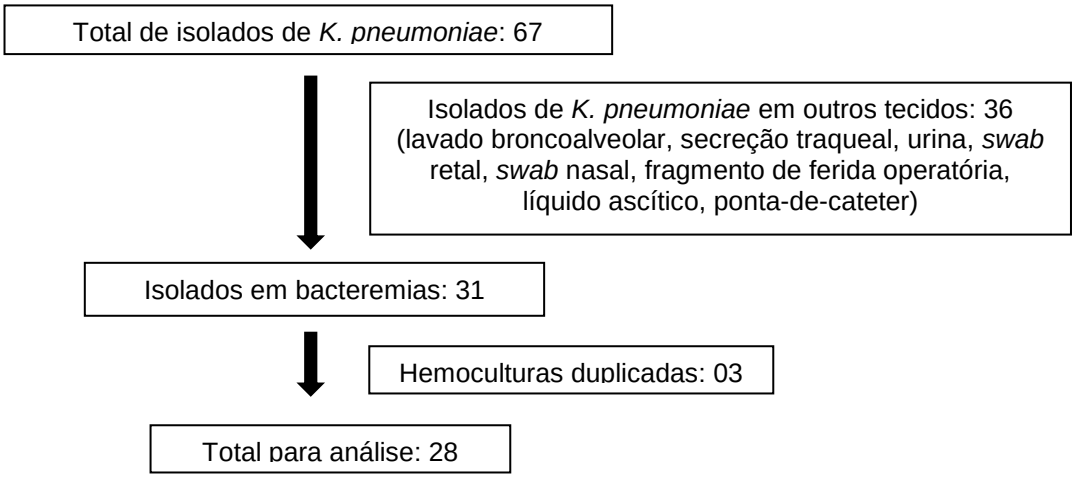
5.3 PERÍODO DO ESTUDO

Janeiro de 2016 a maio de 2017.

5.4 POPULAÇÃO / AMOSTRA DO ESTUDO

Isolados clínicos bacterianos de *K. pneumoniae* em hemoculturas provenientes de pacientes em qualquer faixa etária e ambos os sexos, obtidos das unidades de internamento por conveniência na rotina do laboratório de microbiologia clínica do Hospital das Clínicas/UFPE. Considerou-se apenas um isolado bacteriano por paciente, excluindo-se as duplicatas (amostras de sangue coletadas no mesmo dia de um mesmo paciente) (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma da amostragem do estudo: isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de hemoculturas de pacientes do Hospital das Clínicas / UFPE, no período de janeiro de 2016 a maio de 2017. Bacterioteca disponível no Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE)



Fonte: autoria própria.

Os isolados encontravam-se armazenados a -80^{o}C no Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE) como parte de um projeto intitulado “Acervo Microbiológico para Implantação de Programa de Vigilância e Estudo da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos: Estudo Genético dos Determinantes de Resistência Antimicrobiana entre Isolados Clínicos Bacterianos” sob a responsabilidade do Dr. Danilo Elias Xavier, desenvolvido em parceria com o Serviço de Controle de Infecção Hospitalar e Laboratório de Microbiologia Clínica do Hospital das Clínicas / UFPE (número do parecer: 1.190.837).

5.4.1 Critérios de inclusão

- Espécie *Klebsiella pneumoniae*;
- Isolados bacterianos em hemoculturas;
- Pacientes em qualquer faixa etária;
- Pacientes de ambos os sexos.

5.4.2 Critérios de exclusão

- Hemoculturas polimicrobianas (mais de um patógeno isolado).

5.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS / CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO AGENTE ETIOLÓGICO

5.5.1 Confirmação da espécie dos isolados bacterianos

Para confirmação da espécie, os isolados de *K. pneumoniae* foram reprocessados no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) por espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF e pelo sistema *MALDI Biotyper system* versão 2.0 (Bruker Daltonics) (CARBONNELLE et al., 2011).

Foi utilizado o método de colônia direta, em duplicata (ALATOOM et al., 2011), onde duas a três colônias de cada isolado foram transferidas de culturas em ágar *Brain Heart Infusion* (BHI, Himedia) com o auxílio de uma ponteira de micropipeta e aplicadas de forma a compor uma fina camada de células nos respectivos *spots* da placa 384 *polished steel* (Bruker Daltonics). Sobre as camadas de células bacterianas foi aplicado 1µL da *MALDI matrix*, consistindo de uma solução saturada de ácido α-ciano-4-hidroxicinâmico (10 mg/mL), acetonitrila 50% (v/v) e ácido trifluoroacético 0,3% (v/v) e deixado à temperatura ambiente por 30 minutos para completa secagem da matriz até o instante da obtenção dos espectros proteicos.

Como calibrador espectral, foi utilizado o *Protein Calibration Standard I* (Bruker Daltonics), aplicado nas mesmas condições dos isolados bacterianos (ALATOOM et al., 2011). Os espectros foram obtidos manualmente para cada spot no *Bruker Daltonics Autoflex III Smartbeam* (Bruker Daltonics) utilizando os parâmetros originais previamente definidos como *MBT_FC.par flexControl* pelo fabricante. Os espectros de massa foram gerados a partir dos dados provenientes de vários disparos de laser (300-*shots*) em diferentes posições de cada spot contendo as amostras e comparados com espectro previamente depositado no banco de dados do software *Biotyper MALDI 2.0* (Bruker Daltonics) para a identificação em gênero e/ou espécie bacteriana. Os parâmetros utilizados para a avaliação dos resultados seguiram as instruções do fabricante. As identificações com score ≥ 2,300 foram consideradas confiáveis para identificação do gênero e espécie bacteriana (+++), scores entre 2,000 e 2,299 foram considerados confiáveis

para o gênero bacteriano e provável para espécie bacteriana (++), scores entre 1,700 e 1,999 foram considerados como identificação confiável apenas para o gênero bacteriano (+) e, por fim, scores ≤ 1,699 foram considerados não-confiáveis (-) para identificação bacteriana.

5.5.2 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE) pela técnica de microdiluição em caldo, de acordo com a padronização e recomendações do *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI), documento M07-A10 (CLSI, 2015).

Os isolados de *K. pneumoniae* foram testados frente aos seguintes antimicrobianos: ampicilina-sulbactam (SAM), cefalotina (CEF), cefuroxima (CXM), ceftriaxona (CRO), ceftazidima (CAZ), cefepima (FEP), ertapenem (ETP), piperacilina/tazobactam (TZP), imipenem (IPM), meropenem (MEM), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LVX), amicacina (AMK), gentamicina (GEN), sulfametoxazol-trimetropim (SXT) e polimixina B (PMB) (Sigma Aldrich).

Como controle de qualidade, foram utilizadas as cepas da *American Type Culture Colection* (ATCC®) de *E. coli* ATCC® 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853.

Placas de microdiluição de 96 poços para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos foram confeccionadas preenchendo cada coluna com um volume de 50 µL de CA-MHB (*Cation-adjusted Müeller-Hinton broth,* Fluka – Sigma-Aldrich) contendo uma diluição seriada de cada antimicrobiano a uma concentração correspondente ao dobro das concentrações desejadas. As placas foram armazenadas em freezer -80 °C até a realização dos testes.

O inóculo bacteriano foi preparado pela técnica de suspensão direta de colônias crescidas em placas contendo ágar Müeller-Hinton (Himedia) em 1 mL de CA-MHB estéril até uma densidade OD625nn de 0,08 – 0,13 UA, determinada em espectrofotômetro *UV 1101 Biotech Photometer* (WPA), correspondente a 0,5 da escala de McFarland ou 1-5 × 10^8 UFC/mL. Essa suspensão foi subsequentemente

diluída 1:1000 em CA-MHB em volume suficiente para inoculação dos poços da placa de microdiluição. Um volume de 50 µL desta última diluição foi inoculado simultaneamente com o auxílio de pipetador automático multicanal em cada poço da placa previamente confeccionada, de modo que, ao final dessa etapa, cada poço contenha um volume final de 100 µL com a concentração final desejada para cada antimicrobiano e uma densidade celular bacteriana de cerca de 1-5 × 10^5 UFC/mL. Como controles positivos do crescimento bacteriano foram inoculados poços contendo CA-MHB livre de antimicrobianos e, como controles negativos de crescimento foram reservados poços contendo apenas CA-MHB, sem inoculação.

As placas foram confeccionadas e inoculadas seguindo recomendações de boas práticas de laboratório em capela de fluxo laminar. Após inoculação, as mesmas foram incubadas por 18-24 horas, a 35 ± 2° C e após esse período, inspecionadas visualmente para a determinação da CIM, que é considerada a menor concentração de cada antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano. Os resultados da CIM foram interpretados de acordo com o documento M100S (CLSI, 2018) para classificação dos isolados como sensíveis, intermediários ou resistentes a cada droga testada. Os critérios de interpretação do EUCAST (2018) foram utilizados para classificação dos isolados de *K. pneumoniae* quanto à sensibilidade à polimixina B.

Para controle da qualidade do inóculo, um volume de 10 µL recuperados do poço correspondente ao controle positivo do crescimento bacteriano foi diluído 1:1000 (10-3) imediatamente após sua inoculação e, dessa diluição, 100 µL foram semeados em ágar BHI (Himedia) e espalhados por toda a sua superfície com o auxílio de alças de Drigalski, sendo esta etapa realizada em triplicata. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 20 horas a 35 ± 2° C. O número de colônias foi determinado e utilizado para o cálculo da concentração de células bacterianas presentes no inóculo.

Os testes considerados válidos foram aqueles nos quais: a) os controles negativos de crescimento não apresentaram turvação; b) as concentrações inibitórias mínimas da cepa de *E. coli* ATCC® 25922 utilizada como controle de qualidade para cada antibiótico corresponderam aos critérios estabelecidos pelo

CLSI; c) o inóculo apresentou uma densidade de 1-5 x 10^5 UFC/mL estimada como descrito para controle de qualidade do inóculo bacteriano.

O TSA padrão-ouro para a ceftzadima/avibactam (CAZ-AVI) é a microdiluição em caldo, contudo devido à dificuldade para aquisição do sal de antimicrobiano foi realizado por fitas de ETEST Ceftazidime/Avibactam (CZA 0.016-256 mg/L-Biomérieux).

5.5.3 Teste *in vitro* de hidrólise enzimática dos carbapenêmicos

A pesquisa da produção de enzimas β-lactamases do tipo carbapenemase pelos isolados de *K. pneumoniae* foi realizada pelo método do *CarbaNP Enterobacteriaceae.* Esse método baseia-se na detecção da hidrólise enzimática do anel β-lactâmico de antimicrobiano da classe dos carbapenêmicos em reações cromogênicas utilizando vermelho de fenol como indicador de pH. Quando hidrolisado pelas carbapenemases, os carbapenêmicos são convertidos em sua forma carboxílica, resultando na diminuição do pH e na consequente variação de coloração da reação indicada pelo vermelho de fenol (NORDMANN, POIREL e DORTET, 2012).

O *CarbaNP Enterobacteriaceae* foi realizado a partir de aproximadamente 10 colônias do isolado cultivados em ágar BHI (Difco). Essas colônias bacterianas foram diluídas em 100 µL da solução de lise (Tris-HCl 20 mM pH 7,52) e homogeneizadas vigorosamente por 30 segundos. Um volume de 100 µL do lisado bacteriano foi diretamente testado para sua capacidade em hidrolisar o imipenem junto a 100 µL de solução de teste contendo vermelho de fenol 0,5% (m/v), 0,1 mM $ZnSO_4$ e 3 mg/mL de imipenem (pH 7,8). O teste foi considerado positivo para a produção de carbapenemase quando a coloração variar de sua cor original vermelha para coloração amarelada ou alaranjada. Como controle, o mesmo volume do lisado celular bacteriano foi examinado contra a solução de teste na ausência do imipenem, para averiguação da interferência do lisado na variação do pH da solução.

Para aquelas reações positivas para a produção de carbapenemase, o teste de inibição de sua atividade por EDTA 0,006 M, na ausência de $ZnSO_4$, foi realizado para indicação da produção de carbapenemases do tipo MBL, carbapenemases inibidas por quelantes de íons metálicos como o Zn^{2+}.

Como controles positivos para teste foram utilizadas as cepas *K. pneumoniae* Kp13 e a cepa *K. pneumoniae* FL_C262, produtoras de carbapenemase do tipo KPC-2 e da metalo-β-lactamase NDM-1, respectivamente. As reações foram incubadas a 37 °C por duas horas e a leitura foi realizada por inspeção visual. Como controle negativo de reação para o cada um dos testes CarbaNP *Enterobacteriaceae* foi utilizada a cepa de *E. coli* ATCC® 25922, desprovida de carbapenemases.

5.5.4 Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento

A extração do DNA genômico foi realizada com a utilização do *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Quiagen), seguindo as recomendações do fabricante, a partir de uma alíquota de 1500 µL de cultura crescida em caldo Luria-Bertani (LB) (Himedia) a 35 ± 2° C por 18 a 24 horas. Para isto, uma alíquota de cada amostra de interesse foi previamente semeada em ágar BHI (Himedia), o qual foi incubado em estufa a 35 ± 2 °C durante 18 a 24 horas. O DNA genômico extraído foi quantificado em *NanoDrop 2000c* (Thermo Fisher Scientific Inc.) com a verificação dos parâmetros utilizados para estimar a pureza e rendimento da extração (A260/280).

As reações de amplificação de DNA foi realizada por PCR contendo 40-100 ng do DNA-alvo, 20 pmol de cada oligonucleotídeo, 200 mM de cada dNTP, Tris-HCl 50mM (pH 9,0), NaCl 50 mM, MgCl2 5 mM e 1U de Taq DNA polimerase (Promega). As reações de amplificação foram submetidas à termociclagem em *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems) com pequenas modificações de acordo com a temperatura de anelamento para cada par de oligonucleotídeo iniciador utilizado neste estudo e de acordo com o tamanho esperado do amplicon (Apêndice A). Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% (m/v) diluída em tampão 0,5x TBE (Tris-base 89 mM; ácido bórico 89 mM e EDTA 2 mM pH 8,0) e contendo 0,1 µL/mL *SYBR Safe DNA Gel Stain* (Invitrogen), a 120 Volts e

150 mA durante 45 minutos, sendo posteriormente visualizados e fotografados sob luz ultravioleta em aparelho de fotodocumentação *L-Pix EX* (Loccus Biotecnologia).

Para sequenciamento de DNA pelo método de Sanger, os produtos de PCR serão previamente purificados com o kit *ExoSAP-IT PCR Product Cleanup* (Affymetrix) e quantificados em *NanoDrop 2000c* (Thermo Fisher Scientific Inc.). De acordo com o tamanho do fragmento amplificado, foram utilizados 3 a 40 ng do DNA oriundo dos produtos de PCR purificados em reações de sequenciamento com *BigDye Terminator Sequencing Kit* (Thermo Fisher Scientific), conforme recomendação do fabricante. As reações realizadas individualmente e contendo apenas um dos oligonucleotídeos *forward* ou *reverse* para cada gene alvo foram submetidas à termociclagem com etapa de desnaturação inicial de 2 minutos a 94 °C, seguida por 40 ciclos de 94 °C por 10 segundos, 55 °C por 10 segundos e 60 °C por 4 minutos cada, realizada em termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems) no Núcleo de Plataformas Tecnológicas do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE).

Os produtos de PCR foram precipitados e ressuspendidos em 10 µL de *Hi-Di Formamida* (Applied Biosystems) e posteriormente aplicados no sequenciador *3500 xL Genetic Analyzer* (Applied Biosystems). Os cromatogramas foram analisados com o software *Chromas Lite 2.1.1* (Technelysium) e os *contigs* montados com o software *BioEdit Sequence Alignment Editor* (Tom Hall), sendo posteriormente comparados com as sequências gênicas de DNA disponíveis no *GenBank* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) com a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).

5.5.5 Pesquisa de genes de resistência

A pesquisa de genes codificadores de β-lactamases entre os isolados analisados foi realizada por amplificação e sequenciamento dos genes que codificam carbapenemases da classe A (*bla*$_{KPC}$ e *bla*$_{BKC}$) com oligonucleotídeos específicos listados no quadro 3, de acordo com metodologia descrita no item 5.5.4

O gene *mcr-1* que codifica a enzima fosfoetanolamina transferase relacionada à resistência às polimixinas, foi pesquisado nos isolados de *K. pneumoniae* com sensibilidade reduzida à polimixina.

Quadro 3 - Oligonucleotídeos utilizados para a amplificação dos genes determinantes da resistência bacteriana

Oligonucleotídeo	Sequência nucleotídica (5' to 3')	Gene	Tamanho do produto	Referência
KPC-F	TCGCTAAACTCGAACAGG	bla_{KPC}	762 pb	NICOLETTI et al., 2015
KPC-R	TTACTGCCCGTTGACGCCCAATCC			
BKC-1-F	ACATAATCTCGCAACGGGCG	bla_{BKC}		NICOLETTI et al., 2015
BKC-1-R	TCGCCGGTCTTGTTCATCAC		513 pb	
MCR-1-F	TCTTGTGGCGAGTGTTGCCGT	*mcr-1*	342 pb	ZHANG et al., 2018
MCR-1-R	CCAATGATACGCATGATAAACGCTG			

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. BKC: Carbapenemase brasileira de *Klebsiella*, do inglês *brazilian Klebsiella carbapenemase*. MCR: resistência à colistina moderna, do inglês *modern colistin resistance.* F: frente, do inglês *forward*. R: inverso, do inglês *reverse*. Fonte: autoria própria.

5.5.6 Determinação da relação genética entre os isolados estudados

A relação genética entre os isolados de *K. pneumoniae* foi realizada pela técnica de eletroforese de campo pulsado (do inglês, *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* – PFGE) descrita nos tópicos abaixo.

5.5.6.1 Preparação dos blocos de agarose

Os isolados foram repicados em ágar BHI (Himedia) e incubados em estufa a 35 ± 2° C durante 20 horas para isolamento do crescimento em colônias. Em seguida, uma colônia de cada isolado foi inoculada em 10 mL de caldo Luria-Bertani (LB) (Himedia) e incubada a 35 ± 2 °C sob agitação de 180 rpm durante 20 horas. As culturas foram centrifugadas a 1000 × g por 15 minutos e o sobrenadante desprezado. O sedimento de células foi ressuspendido em 1 mL de solução salina estéril (NaCl 0,85%) e transferido para novos tubos de microcentrífuga, cujo peso

havia sido previamente determinado em balança analítica. As suspensões de células bacterianas de cada isolado foi centrifugadas a 13000 × g durante 30 segundos e o sobrenadante desprezado. O *pellet* foi novamente ressuspendido em um volume (1:1) de solução salina calculado de acordo com massa do *pellet*, correspondente à diferença entre o peso do microtubo contendo o sedimento celular (em mg) e o peso do mesmo microtubo vazio. As suspensões de células bacterianas foram vigorosamente homogeneizadas em vórtice e uma alíquota de 10 µL dessa suspensão foi transferida para um novo microtubo contendo 300 µL do tampão TEN (Tris 100 mM pH 7,5; EDTA 100 mM; NaCl 150 mM). A essa suspensão foram adicionados 340 µL de agarose 2% de baixo ponto de fusão a uma temperatura de 58 °C, estabilizada em banho-maria, e homogeneizados com auxílio de pipeta. Essa suspensão foi transferida para os moldes para confecção dos blocos de agarose (*plugs*) contendo as células bacterianas e deixados até sua completa solidificação a 5 °C por 20 minutos.

Após solidificação, os blocos de agarose foram transferidos para placas para cultura de células (24 poços) contendo 2 mL de tampão EC (Tris 6 mM pH 6,5; NaCl 1 M; EDTA 0.01 M, Brij 58 0,5%, Sarcosil 0,5% e Deoxiglicolato 0,2%), acrescido de 200 µL de lisozima (10 mg/mL) e incubados a 37 °C por 18 horas. Após este período, o EC foi aspirado e os *plugs* lavados duas vezes com 2 mL de CHEF-TE (Tris 0,1 M pH 7,5; EDTA 0,1 M), com intervalo de 30 minutos entre as lavagens. Após a lavagem, os *plugs* foram submergidos em 2 mL de solução ES (EDTA 0,4 M pH 9,3 e Sarcosil 10%), adicionados de 100 µL de proteinase K (20 mg/mL) (Fluka – Sigma-Aldrich) e incubados a 50 °C por 12 horas.

Após incubação, a solução ES foi desprezada e os *plugs* lavados quatro vezes com CHEF-TE, com intervalo de uma hora entre cada lavagem. Os *plugs* foram armazenados a 5 °C em CHEF-TE até a etapa de clivagem do DNA com as endonucleases específicas.

5.5.6.2 Restrição do DNA bacteriano

Para a etapa de restrição do DNA com endonucleases, os blocos de agarose contendo o material genético dos isolados foram reduzidos a

aproximadamente 1/3 do tamanho original, com o auxílio de uma lâmina de bisturi, e transferidos para placas de microtitulação (96 poços) contendo 200 µL de DNS (Tris 0,6 M pH 8,0; MgCl2 0,02 M). Os blocos foram lavados quatro vezes com intervalo de uma hora entre cada lavagem à temperatura ambiente com DNS (Tris 0,6 M pH 8,0; MgCl2 0,02 M).

Após as lavagens, o DNS foi substituído por 50 µL do tampão da enzima de restrição (CutSmart®) (*New England Biolabs*) e os blocos incubados a 5 °C por uma hora. O tampão CutSmart® foi removido e substituído por uma nova alíquota do mesmo tampão contendo a enzima de restrição. Foram utilizadas 10 U/plug de SpeI (*New England Biolabs*) para *K. pneumoniae* e incubados a 5 °C por duas horas.

Por fim, as placas com *plugs* de *K. pneumoniae* foram incubadas a 37 °C por 20 horas, respeitando a temperatura ótima de atividade enzimática fornecida pelo fabricante das enzimas.

5.5.6.3 Eletroforese em campo pulsátil (PFGE)

Após a clivagem enzimática, os *plugs* foram lavados quatro vezes com 150 µL de tampão TBE 10x, com intervalo de 15 minutos entre as lavagens. Os *plugs* foram posicionados no molde de acrílico (pente) e fixados com agarose fundida. O pente foi posicionado verticalmente na extremidade distal da forma do gel e cobertos com agarose 1% a 58 °C, permanecendo à temperatura ambiente até completa solidificação. O pente foi removido de modo que os *plugs* permanecessem no interior do gel de agarose e os poços remanecentes preenchidos com agarose 1% fundida.

Como marcador de peso molecular será utilizado o *Lambda Ladder PFG Marker N0340S* (*New England Biolabs*). A eletroforese foi realizada em tampão TBE 0,5x, em sistema *CHEF-DR III* (Bio-Rad Laboratories), à temperatura de 15 °C e 200 Volts (6 V/cm), conforme programação específica para a espécie *K. pneumoniae* com *switch time* (inicial de 5.0 e final de 60.0) e tempo de 19 horas.

O gel foi corado em recipiente contendo 400 mL de água destilada adicionado de 40 µL de brometo de etídio (10 mg/mL) (Sigma Aldrich) e fotografado em equipamento *L-Pix EX* (Loccus Biotecnologia).

O grau de similaridade entre os isolados da mesma espécie foi determinado pelo software GelClust (KHAKABIMAMAGHANI et al., 2013) e pelos critérios estabelecidos por TENOVER et al. (1995), de acordo com os perfis de bandas observados.

5.6 CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS

5.6.1 Variáveis independentes

5.6.1.1 Aspectos clínico-epidemiológicos:

Variável	Definição conceitual	Definição operacional	Categorização
Idade	Período de tempo entre a data do nascimento e a data da coleta da hemocultura. Variável quantitativa discreta.	Idade quantificada em anos completos.	Mediana (P25 - P75)
Sexo biológico	Sexo biológico do paciente. Variável qualitativa nominal dicotômica.	Dado obtido em prontuário na ficha cadastral do paciente.	Masculino Feminino
Tipo de infecção	IRAS: ver item 2.3.2 da revisão de literatura. Variável qualitativa nominal.	Classificação da infecção em: 1. Comunitária: infecção adquirida na comunidade ou até 48h após a admissão, sem critérios definidores de IRAS; 2. IRAS: infecções presentes na admissão hospitalar ou nas 48h após admissão com critérios definidores de IRAS (FRIEDMAN et al., 2002); ou adquirida após 48h da admissão hospitalar e que	1. Comunitária 2. Infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS)

		não estava incubada na admissão (CARDOSO et al., 2014).	
Internamento recente	Internamento em unidade hospitalar por mais de 48h nos últimos 90 dias anteriores à data da hemocultura (CARDOSO et al., 2014). Variável qualitativa dicotômica.	Histórico de internamentos pregressos.	Sim Não
Internamento em UTI	Assistência médica em UTI nos últimos 90 dias anteriores à data da hemocultura (CARDOSO et al., 2014). Variável qualitativa dicotômica.	Histórico de internamento em UTI.	Sim Não
Dispositivos invasivos	Dispositivos utilizados na assistência à saúde, caracterizados por romper barreiras naturais do organismo, penetrando em cavidades ou em tecidos estéreis (ZACARKIM E SCUSSIATO, 2016): 1. **Cateter venoso central:** cateter utilizado para infusão, coleta de amostra sanguínea ou monitoramento hemodinâmico, cuja terminação está posicionada próxima ao coração ou em um grande vaso. São considerados grandes vasos: aorta, artéria pulmonar, veias cavas, veias braquicefálicas, veias jugulares internas, veias subclávias, veias ilíacas externa e comum, veias femorais e, em neonatos, cateter umbilical venoso ou arterial; 2. **Cateter vesical de demora:** considera-se aquele que entra pelo orifício da uretra e permanece. Excluem-se cateter duplo J, cistostomia, punção suprapúbica e cateterização intermitente. 3. **Ventilador mecânico:** dispositivo utilizado para auxiliar ou controlar a respiração de forma continua, inclusive no período de desmame, por meio de traqueostomia ou intubação endotraqueal (ANVISA, 2017).	Dispositivos invasivos presentes na data da hemocultura ou retirados em até 24h após. »Cada dispositivo foi considerado uma variável.	Sim Não
Procedimento cirúrgico	Procedimento realizado dentro do centro cirúrgico com pelo menos uma incisão, com paciente em regime de internação superior a 24 horas,	Paciente submetido a qualquer procedimento cirúrgico.	Sim Não

	excluindo-se procedimentos de desbridamento cirúrgico, drenagem, episiotomia e biópsias que não envolvam vísceras ou cavidades (ANVISA, 2017). Variável qualitativa dicotômica.		
Uso prévio de antimicrobianos	Exposição a antimicrobianos nos últimos 90 dias anteriores à data da hemocultura (CARDOSO et al., 2014).	Uso prévio de antimicrobianos.	Sim Não
Comorbidades / Hábitos de vida	Condições mórbidas com ou sem relação direta com a patologia desencadeante do internamento, porém que podem influenciar o desfecho clínico das infecções: **1. Diabetes mellitus**: presença de sintomas clássicos de hiperglicemia (sede, perda de peso, poliúria, visão embaçada) e glicemia ≥ 200 mg/dL ou, em pacientes assintomáticos, por um dos critérios abaixo: glicemia de jejum ≥126 mg/dL; glicemia de duas horas em teste de tolerância oral à glicose (TOTG) ≥ 200 mg/dL ou HbA1C ≥ 6,5% (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017); **2. Insuficiência renal crônica:** lesão renal (albumina urinária ≥30 mg/dia) ou decréscimo da função renal (definida pela taxa de filtração glomerular < 60 mL/min/1,73 m^2) por três meses ou mais (KDIGO, 2013); **3. Úlceras crônicas:** feridas caracterizadas pela dificuldade de cicatrização, devido a angiogênese, inervação ou migração celular reduzida, como ocorre no pé diabético, úlceras venosas ou lesões por pressão em estágio avançado (GOLINKO et al., 2009)**;** **4. Imunocomprometidos;** pacientes neutropênicos ou com disfunção dos neutrófilos, devido a patologias onco-hematológicas, quimioterapia para tratamento de câncer ou uso de drogas, como micofenolato, azatioprina ou	Patologias descritas nas evoluções médico-assistenciais. » Cada comorbidade foi considerada uma variável.	Sim Não

	ganciclovir; uso de corticosteroides em dose imunossupressora, por mais de 15 dias, drogas antiTNF ou anticorpos monoclonais; imunodeficiências primárias (disfunções humorais ou celular-mediada); pacientes reumatológicos em uso de imunomodulador ou imunossupressor; esplenectomias ou disfunção esplênica (PATEL E RIEDEL, 2013).		
Índice de Comorbidades de Charlson (CCI)	Índice validado para estimar o risco de sobrevida em dez anos em pacientes com múltiplas comorbidades. Maior pontuação associa-se a menor sobrevida, de acordo com os seguintes valores: pontuação nula (98%), 1 (96%), 2 (90%), 3 (77%), 4 (53%), 5 (21%), 6 (2%), ≥7 (0%) (CHARLSON et al., 1987; QUAN et al., 2011).	Pontuação de acordo com as comorbidades identificadas: **- 01 ponto**: infarto do miocárdio; insuficiência cardíaca congestiva; doença vascular periférica; doença cerebrovascular; demência; doença pulmonar crônica; doença do tecido conjuntivo; úlcera; doença hepática leve; diabetes. - **02 pontos**: hemiplegia; doença renal moderada ou severa; diabetes com lesão de órgão alvo; tumores sólidos; leucemia; linfoma. - **03 pontos**: doença hepática moderada ou severa. - **06 pontos**: tumor sólido metastático; PVHIV*. - Acrescentado um ponto para cada 10 anos de idade acima dos 50 anos (máximo 04 pontos) (QUAN et al., 2011). *Artigo original utiliza a terminologia AIDS (CHARLSON et al., 1987).	
Antibioticoterapia empírica	Esquema antibiótico inicial empírico, geralmente de amplo espectro, prescrito ainda sem a definição etiológica. Variável qualitativa nominal.	Identificação de qual(s) antibiótico foi prescrito empiricamente.	Sim Não Antibiótico:_____
Topografia da infecção	Primeiro órgão, sistema ou sítio acometido pela *K. pneumoniae*	Identificação do sítio primário acometido, a	1. Corrente sanguínea

	Podendo ser: • "Infecção primária de corrente sanguínea" na ausência de outro sítio infeccioso; • Bacteremia secundária: sítio primário de infecção não é a corrente sanguínea.	fonte da bacteremia. Os casos onde o sítio primário é o sangue, sem comprometer de outros sistemas, classificam-se em "infecção primária de corrente sanguínea".	2. Respiratório 3. Abdominal 4. Urinário 5. Osteoarticular 6. Pele / Partes moles 7. Sistema nervoso

5.6.1.2 Caracterização microbiológica do agente etiológico

Variável	Definição conceitual	Definição operacional	Categorização
Perfil de sensibilidade	Perfil fenotípico dos isolados bacterianos de sensibilidade aos antimicrobianos (CLSI, 2018). Variável qualitativa nominal.	De acordo com as recomendações do CLSI, a partir de testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi determinada a sensibilidade aos antibióticos e classificados os isolados bacterianos em: 1. **Multissensível**: isolados com sensibilidade a todos os antimicrobianos testados; 2. **Multidroga-resistente (MDR):** isolado bacteriano não suscetível a pelo menos um antibiótico em pelo menos três classes de antimicrobianos, que eram potencialmente ativos; 3. **Extensivamente droga-resistente (XDR):** isolado bacteriano não suscetível a pelo menos um agente em todas as classes, exceto em duas ou menos; 4. **Pandroga-resistente (PDR):** isolado bacteriano suscetível a nenhum antibiótico em todas as classes de antimicrobianos;	1. Multissensível 2. MDR 3. XDR 4. PDR Obs.: Esta variável será classificada ainda em dicotômica, de acordo com a sensibilidade aos carbapenêmicos: 1. CARB-R 2. CARB-S
Resistência aos carbapenêmicos	Isolado de *K. pneumoniae* com CIM para o ertapenem >0,5 µg/mL, imipenem ou meropenem >4 µg/mL (CLSI, 2018).	Identificação de resistência a qualquer carbapenêmico por microdiluição em caldo. Para as análises, consideramos os isolados com resistência intermediária como resistentes.	1.*K. pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos (CSKP) 2.*K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (CRKP)
Fenótipo hipermucoviscoso	Fator de virulência caracterizado pela	Teste de corda positivo: presença de muco	Sim Não

	hiperexpressão do polissacarídeo capsular (RUSSO E MARR, 2019).	verticalizado (>5 mm) após toque com alça circular na placa de ágar (RUSSO E MARR, 2019).	

5.6.1.3 Relação clonal entre os isolados de *Klebsiella pneumoniae*

Variável	Definição conceitual	Definição operacional	Categorização
Relação clonal entre os isolados de *K. pneumoniae*	Clones são conjuntos de isolados bacterianos que possuem o mesmo genoma. Variável qualitativa nominal.	Avaliação da relação clonal entre os isolados de *K. pneumoniae* de acordo com PFGE e genótipo (PCR).	

5.6.2 Variáveis dependentes

Variável	Definição conceitual	Definição operacional	Categorização
Tempo entre a admissão e bacteremia	Período de tempo entre admissão e a data da hemocultura positiva para *K. pneumoniae*. Variável quantitativa discreta.	Contagem do período de tempo, em dias, da admissão à data da bacteremia. Obs.: Consideraremos com zero dias, os pacientes com diagnóstico de admissão a bacteremia por *K. pneumoniae*.	Média ± desvio padrão Em dias
Tempo entre a bacteremia e óbito	Período de tempo entre a data da hemocultura positiva para *K. pneumoniae* e o óbito.	Contagem dos dias entre a data da bacteremia e óbito (para os participantes não-sobreviventes).	Média ± desvio padrão Em dias
Tempo total de permanência hospitalar	Período de tempo em que o paciente ficou internado. Variável quantitativa discreta.	Contagem dos dias decorrentes da admissão à alta hospitalar ou óbito.	Média ± desvio padrão Em dias
Antibioticoterapia adequada	Esquema antimicrobiano com ação contra o isolado de *K. pneumoniae*, ou seja, com sensibilidade *in vitro* a pelo menos um antibiótico prescrito. Variável qualitativa nominal.	Avaliação se o isolado bacteriano era sensível ao antimicrobiano prescrito.	Sim Não
Sobreviventes	Ausência de óbito durante o internamento hospitalar.	Verificação em prontuário se o participante sobreviveu ao término do internamento.	Sim Não
Mortalidade intra-hospitalar	Óbito durante o internamento hospitalar por qualquer etiologia.	Verificação em prontuário se o desfecho clínico do participante foi o óbito.	Sim Não
Mortalidade	Óbito resultante da	Verificação em	Sim

atribuída a *K. pneumoniae*	infecção por *K. pneumoniae.* Variável qualitativa nominal.	prontuário se a bacteremia resultou em sepse grave, falência de múltiplos órgãos e óbito.	Não
Óbito por qualquer causa	Óbito por outras causas não relacionadas à bacteremia por *K. pneumoniae.*. Variável qualitativa nominal.	Analisar em prontuário se o óbito foi por outras causas não relacionadas diretamente a bacteremia.	Sim Não

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com os programas *SPSS Statistics*, versão 25 (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA) e *Stata Statistical*, versão 14 (StataCorp LP, College Station, TX). Variáveis contínuas foram expressas em média (± desvio padrão) ou mediana (P25-P75) e comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Variáveis categóricas foram expressas com números e porcentagens e comparadas pelo teste exato de Fisher ou teste do qui-quadrado. A análise de sobrevida foi realizada pelo método de Kaplan-Meier e as curvas de sobrevida comparadas por log-rank. Foi considerado estatisticamente significativo $p \leq 0,05$ com intervalo de confiança a 95%.

6 RESULTADOS

6.1 ARTIGO - ANÁLISE DE SOBREVIDA, ASPECTOS CLÍNICOS E RESISTÊNCIA MICROBIANA EM BACTEREMIAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

RESUMO

As bacteremias por *Klebsiella pneumoniae* vêm aumentando morbidade e mortalidade. Realizamos estudo transversal em hospital terciário para avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos, resistência microbiana e análise de sobrevida nessas infecções. Entre janeiro de 2016 e maio de 2017, de 28 isolados identificados por espectrometria de massas (MALDI-TOF), 35,7% apresentaram resistência aos carbapenêmicos (CRKP). O determinante genético por reação em cadeia da polimerase (PCR) foi bla_{KPC-2}. Isolados CRKP apresentaram associação às neoplasias hematológicas (p=0,041), úlceras crônicas (p=0,011), hemodiálise (p=0,011), terapia intensiva (p<0,0001), ventilação mecânica (p=0,041) e exposição a antimicrobianos (p<0,05): meropenem, polimixina, amicacina, sulfametoxazol-trimetropim, glicopeptídeos e antifúngicos. Amicacina e polimixina apresentaram resistência inferior a 10,0%. Nenhum isolado foi resistente à ceftazidima-avibactam. A mortalidade intra-hospitalar foi 35,7%. A análise comparativa da sobrevida segundo resistência aos carbapenêmicos e antibioticoterapia adequada não foi estatisticamente significante. A monitorização da resistência microbiana local e identificação dos pacientes em risco são necessárias para adequação da antibioticoterapia empírica.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*. Enterobacteriáceas Resistentes a Carbapenêmicos. Bacteriemia. Resistência Microbiana a Antibióticos. Análise de Sobrevida.

1 Introdução

Em 2017, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou as Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos (CRE) como “prioridade crítica”

na lista de bactérias que apresentam risco para os humanos e grave problema de saúde pública (Tacconelli et al., 2018). O desenvolvimento de novos antimicrobianos não acompanha a expansão epidemiológica dessas cepas.

As infecções de corrente sanguínea são a principal causa infecciosa de óbito nos Estados Unidos e Europa com dois milhões de episódios e 250.000 óbitos anualmente (Goto e Al-Hasan, 2013). No Brasil, a *Klebsiella pneumoniae* constitui 19% dos agentes etiológicos nas infecções primárias de corrente sanguínea (IPCS) associadas ao cateter venoso central (CVC) em adultos nas unidades de terapia intensiva (UTI) e, com o *Staphylococcus* coagulase-negativo, são os agentes mais prevalentes nessas infecções. Cerca de 40% desses isolados de *K. pneumoniae* apresentam resistência às cefalosporinas de terceira e quarta gerações e carbapenêmicos (ANVISA, 2019). O Nordeste do Brasil engloba a segunda maior população do país (IBGE, 2019), e, por limitação de recursos, apresenta escassos dados sobre o tema.

O custo medicamentoso em infecções por *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (CRKP) foi estimado em US$4100,00 (Santos e Secoli, 2019). Resistência microbiana e infecções potencialmente letais vêm aumentando o número de óbitos relacionados à assistência à saúde. Nessa direção, a mortalidade nas infecções por isolados CRKP parece ser mais elevada do que por isolados sensíveis (CSKP) (Hussein et al., 2013).

Em virtude da importância dessa infecção no cenário brasileiro, elaboramos este estudo para descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos, perfis de sensibilidade e mecanismos moleculares de resistência microbiana nas bacteremias por *K. pneumoniae* em hospital terciário no Nordeste do Brasil.

2 Materiais e métodos

2.1 Amostra e desenho do estudo

Estudo retrospectivo, de corte transversal, realizado no Hospital das Clínicas / Universidade Federal de Pernambuco, em Recife, Brasil. Incluímos isolados de *K. pneumoniae* em hemoculturas de pacientes em qualquer faixa etária e ambos os sexos. Consideramos apenas um isolado bacteriano por paciente.

2.2 Coleta de dados e definições das variáveis

As seguintes variáveis foram coletadas nos prontuários médicos: sexo; idade; unidade de internamento hospitalar (enfermaria ou UTI); comorbidades (neoplasias, insuficiência renal e/ou úlceras crônicas); índice de comorbidades de Charlson (CCI); fatores de risco para resistência microbiana nos últimos 90 dias anteriores à hemocultura (internamento hospitalar, em UTI e/ou uso de antibióticos); dispositivos invasivos na data da hemocultura ou retirados em até 24h (CVC, ventilador mecânico ou cateter vesical de demora); e procedimentos cirúrgicos.

As bacteremias foram classificadas em IPCS ou secundária à infecção em sítio primário (abdominal, trato urinário, pneumonia ou sítio cirúrgico) (CDC, 2019). Avaliamos o tempo (em dias) entre admissão e bacteremia; bacteremia e óbito; e tempo de permanência intra-hospitalar.

Consideramos adequados esquemas antimicrobianos com pelo menos um antibiótico sensível no antibiograma. O desfecho foi descrito pelas taxas de sobreviventes, mortalidades no 14º, 30º e 60º dias. Para mortalidade intra-hospitalar incluímos todos os óbitos ocorridos durante a hospitalização. Os óbitos por sepse grave e/ou disfunção orgânica múltipla até sete dias após a hemocultura, excluindo-se outras causas, foram atribuídos à infecção por *K. pneumoniae*.

2.3 Caracterização microbiológica do agente etiológico

Os isolados de *K. pneumoniae* foram reprocessados por espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF (Carbonnelle et al., 2011) e pelo sistema *MALDI Biotyper system* versão 2.0 (Bruker Daltonics). O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi realizado por microdiluição em caldo, de acordo com as recomendações do *Clinical Laboratory Standard Institute*, documento M07-A10 (CLSI, 2015). O TSA para ceftzadima-avibactam foi realizado por ETEST (CZA 0,016-256µg/mL - Biomérieux). Utilizamos os critérios de interpretação do EUCAST (2018) para polimixina B e do CLSI (2018) para os demais antimicrobianos. Como controle, utilizamos as cepas *E. coli* ATCC® 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853. Agrupamos isolados com sensibilidade intermediária e resistentes nas análises.

A detecção de carbapenemases foi realizada por CarbaNP Enterobacteriaceae e metalo-β-lactamases por inibição do EDTA (Nordmann, Poirel e Dortet, 2012). Os genes de resistência aos carbapenêmicos (bla_{KPC} e bla_{BKC}) e

polimixinas (*mcr-1*) foram pesquisados por reação em cadeia da polimerase (PCR) (Nicoletti et al., 2015; Zhang et al., 2018). A diversidade clonal foi determinada por eletroforese de campo pulsado (PFGE). Os padrões foram analisados pelo método Tenover et al. (1995) e software GelClust (Khakabimamaghani et al., 2013). O fenótipo hipermucoviscoso foi observado pelo “teste de corda” (Russo et al., 2011).

2.4 Análise estatística

As análises foram realizadas com os programas SPSS Statistics, versão 25 (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA) e Stata Statistical, versão 14 (StataCorp LP, College Station, TX). Medianas e frequências foram comparadas pelo teste exato de Fisher, Mann-Whitney ou teste do qui-quadrado. O método de Kaplan-Meier e log-rank foram utilizados na análise de sobrevida. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

2.5 Aspectos Éticos

Este estudo recebeu autorização do comité de ética do referido hospital (número do parecer: 3.040.607).

3 Resultados

Entre janeiro de 2016 e maio de 2017, dos 67 isolados de *K. pneumoniae*, 31 foram obtidos em hemoculturas. Excluindo três amostras duplicadas, 28 isolados foram incluídos no estudo. Apenas 5 (17,9%) hemoculturas procediam das UTI, 23 (82,1%) das enfermarias. Observamos o predomínio de homens (20; 71,4%) e mediana de idade 52,5 (33-67) anos. Entre as comorbidades, destacamos neoplasias (15; 53,6%) e insuficiência renal crônica (14; 50,0%). A média do CCI foi 5,7 (±2,7). A maior parte dos pacientes tinha registro de internamento hospitalar nos últimos três meses (23; 82,1%) e exposição prévia a antimicrobianos (21; 75,0%).

O dispositivo invasivo mais frequente foi o CVC em 21 (75,0%) pacientes, seguido do cateter vesical de demora (7; 25,0%) e ventilação mecânica (5; 17,9%). Todas as infecções foram relacionadas à assistência à saúde (IRAS), sendo IPCS a mais comum (21; 75,0%). Os antibióticos mais prescritos foram meropenem (42,6%) e piperacilina-tazobactam (32,1%). Onze (39.3%) pacientes não receberam antibioticoterapia adequada. A mortalidade intra-hospitalar foi 35,7%. Seis (21,4%)

óbitos foram atribuídos à *K. pneumoniae* com mediana de idade (29,5; 1,5-55) inferior aos sobreviventes (56; 42-67) (p=0,019). Maior mortalidade foi associada ao internamento em UTI (p=0,050) e CCI elevado (p=0,036). Não identificamos associação entre mortalidade e antibioticoterapia inadequada.

3.1 Fatores de risco para resistência aos carbapenêmicos

Dez (35,7%) isolados foram classificados como CRKP. A resistência aos carbapenêmicos foi associada às neoplasias hematológicas, úlceras crônicas, terapia renal substitutiva, internamento em UTI e ventilação mecânica (p<0,05). Essas infecções apresentaram CCI dois pontos superiores às infecções por isolados CSKP (7,0±2,5). Observamos uma maior tendência ao óbito no grupo CRKP com mortalidade de 50,0% (5/10), porém sem diferença estatística. O uso prévio de meropenem, polimixina, amicacina, sulfametoxazol-trimetropim, glicopeptídeos e antifúngicos foi associado à resistência aos carbapenêmicos (Tabela 2).

Tabela 2 – Aspectos demográficos, clínicos e desfecho em 28 bacteremias por *Klebsiella pneumoniae*, em relação à sensibilidade aos carbapenêmicos

(continua)

Variáveis	CSKP[a] 18 (64,3)	CRKP[b] 10 (35,7)	p-valor
Sexo masculino	14 (77,8)	6 (60,0)	0,400[c]
Idade (anos), mediana (P25-P75)	50,5 (31,8-66,2)	58,5 (33,2-73,8)	0,362[d]
Unidade de Internamento			
Enfermaria	17 (94,4)	6 (60,0)	**0,041[c]**
Unidade de terapia intensiva	1 (5,6)	4 (40,0)	
Comorbidades			
Neoplasias	9 (50,0)	6 (60,0)	0,705[c]
Tumores sólidos	7 (38,9)	2 (20,0)	0,098[c]
Neoplasias hematológicas	1 (5,6)	4 (40,0)	**0,041[c]**
Terapia renal substitutiva	3 (16,7)	7 (70,0)	**0,011**[c]
Úlceras crônicas	2 (11,1)	6 (60,0)	**0,011[c]**
Índice de Comorbidades de Charlson (CCI)[d], média ± DP[e]	4,9 ± 2,6	7,0 ± 2,5	0,057[f]
Fatores de risco para resistência microbiana (últimos 90 dias)			
Internamento prévio	14 (77,8)	9 (90,0)	0,626[c]
Internamento em unidade de terapia intensiva	3 (16,7)	9 (90,0)	**<0,0001[c]**
Uso prévio de antimicrobianos	11 (61,1)	10 (100,0)	0,125[c]
Ciprofloxacina	3 (16,7)	2 (20,0)	1,000[c]
Ceftriaxona	4 (22,2)	4 (40,0)	0,400[c]
Amicacina	1 (5,6)	5 (50,0)	**0,013**[c]

Tabela 2 – Aspectos demográficos, clínicos e desfecho em 28 bacteremias por *Klebsiella pneumoniae*, em relação à sensibilidade aos carbapenêmicos

(conclusão)

Variáveis	CSKP[a] 18 (64,3)	CRKP[b] 10 (35,7)	p-valor
Sulfametoxazol-trimetropim	1 (5,6)	5 (50,0)	**0,023**[c]
Piperacilina-tazobactam	3 (16,7)	5 (50,0)	0,091[c]
Meropenem	1 (5,6)	9 (90,0)	**<0,0001**[c]
Polimixina	1 (5,6)	4 (40,0)	**0,041**[c]
Glicopeptídeos[g]	2 (11,1)	7 (70,0)	**0,003**[c]
Antifúngicos[h]	1 (5,6)	7 (70,0)	**0,001**[c]
Dispositivos invasivos na data da bacteremia			
Cateter venoso central	11 (61,1)	10 (100,0)	0,057[c]
Cateter vesical de demora	5 (27,8)	2 (20,0)	0,678[c]
Ventilador mecânico	1 (5,6)	4 (40,0)	**0,047**[c]
Procedimento cirúrgico	1 (5,6)	1 (10,0)	1,000[c]
Classificação das bacteremias (CDC[i], 2019)			
Infecção primária de corrente sanguínea	12 (66,7)	9 (90,0)	0,231[c]
Secundárias	6 (33,3)	1 (10,0)	0,072[j]
Infecção abdominal	1 (5,6)	0 (0,0)	
Infecção de sítio cirúrgico	0 (0,0)	1 (10,0)	
Infecção do trato urinário	4 (22,2)	0 (0,0)	
Pneumonia associada à ventilação mecânica	1 (5,6)	0 (0,0)	
Antibioticoterapia adequada	13 (72,2)	4 (40,0)	0,114[c]
Fenótipo hipermucoviscoso	6 (33,3)	1 (10,0)	0,364[c]
Tempo entre admissão e bacteremia[d]	31,0 ± 40,2	42,1 ± 35,3	0,472[f]
Tempo entre bacteremia e óbito[d]	13,2 ± 14,6	18,8 ± 21,0	0,638[f]
Tempo total de permanência hospitalar[d] (em dias, média ± DP[e])	46,1 ± 39,1	71,2 ± 44,7	0,134[f]
Desfecho clínico			
Sobreviventes	13 (72,2)	5 (50,0)	0,634[c]
Mortalidade intra-hospitalar	5 (27,8)	5 (50,0)	0,412[c]
Mortalidade no 14º dia	3 (16,7)	3 (30,0)	0,634[c]
Mortalidade no 30º dia	4 (22,2)	4 (40,0)	0,400[c]
Mortalidade no 60º dia	5 (27,8)	5 (50,0)	0,412[c]
Mortalidade atribuída a *K. pneumoniae*	3 (16,7)	3 (30,0)	1,000[c]

[a]CSKP = *K. pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos. [b]CRKP = *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos. [c]Teste Exato de Fisher. [d]Distribuição normal (Teste de normalidade Shapiro-Wilk >0,05). [e]DP = desvio padrão. [f]Teste de Mann Whitney. [g]Vancomicina ou teicoplanina. [h]Fluconazol, micafungina, anidulafungina ou anfotericina B. [i]CDC: Centros de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*. [j]Teste do qui-quadrado. Fonte: autoria própria.

3.2 Perfil de sensibilidade e mecanismos de resistência microbiana

Observamos elevada resistência à ceftriaxona e ceftazidima (20; 71,4%); piperacilina-tazobactam e cefepima (18; 64,3%); ciprofloxacina (16; 57,1%).

Excetuando cefalosporinas e piperacilina-tazobactam, não houve associação entre CRKP e resistência a outros antimicrobianos. Amicacina, ceftazidima-avibactam e polimixina B apresentaram suscetibilidade superior a 90,0%. Nenhum isolado foi resistente à ceftazidima-avibactam. Apenas 13 (46,4%) isolados foram testados para tigeciclina e nenhum resistente. Houve notável divergência entre os aminoglicosídeos, com 46,4% de suscetibilidade à gentamicina. Dois isolados apresentaram resistência à polimixina B (Tabela 3).

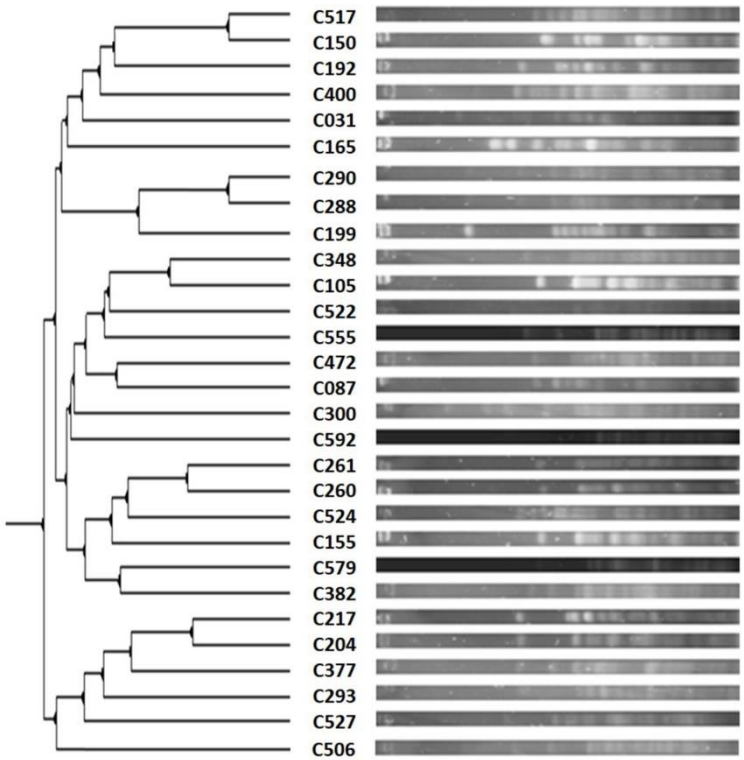
Tabela 3 - Resistência microbiana em 28 isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias

Antimicrobianos	Isolados resistentes[a] n[c] (%)	CIM[b] (µg/mL) CIM_{50}	CIM_{90}
Ampicilina	26 (92,8)	16,00	32,00
Ampicilina-sulbactam	21 (75,0)	32,00	32,00
Ceftazidima	20 (71,4)	16,00	64,00
Ceftriaxona	20 (71,4)	64,00	64,00
Cefepima	18 (64,3)	2,00	64,00
Piperacilina-tazobactam	18 (64,3)	16,00	128,00
Ciprofloxacina	16 (57,1)	2,00	4,00
Gentamicina	15 (53,6)	1,00	16,00
Ertapenem	10 (35,7)	0,50	8,00
Imipenem	10 (35,7)	0,25	16,00
Meropenem	9 (32,1)	0,25	16,00
Polimixina	2 (7,1)	0,50	4,00
Amicacina	1 (3,6)	2,00	16,00
Ceftazidima-avibactam[d]	0 (0,0)	0,06	0,50

[a]Os isolados com sensibilidade intermediária ao antimicrobiano testado foram considerados resistentes. [b]CIM = concentração inibitória mínima. [c]n = número de isolados. [d]O teste de sensibilidade para ceftzadima/avibactam foi realizado por ETEST, os demais por microdiluição em caldo. Fonte: autoria própria.

Nos dez isolados CRKP, detectamos carbapenemases. O gene de resistência identificado em todos os isolados CRKP foi o bla_{KPC-2}. Não encontramos metalo-β-lactamases na amostra. Não identificamos os genes bla_{BKC} e *mcr-1*. Obtivemos seis padrões pelo PFGE. O padrão C foi o mais prevalente, sendo observado em 7 (25,0%) (Figura 6). Nenhum padrão clonal associou-se à mortalidade. O “teste de corda” foi positivo em 7 (25,0%) isolados. O fenótipo hipermucoviscoso não foi associado à resistência microbiana nem mortalidade, todavia foi identificado em quatro *clusters* e associou-se à dispersão clonal (p = 0,010).

Figura 6 - Dendrograma de distribuição dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae*, de acordo com os padrões de bandas obtidos por PFGE, fenótipo hipermucoviscoso, genes de resistência e perfil de sensibilidade



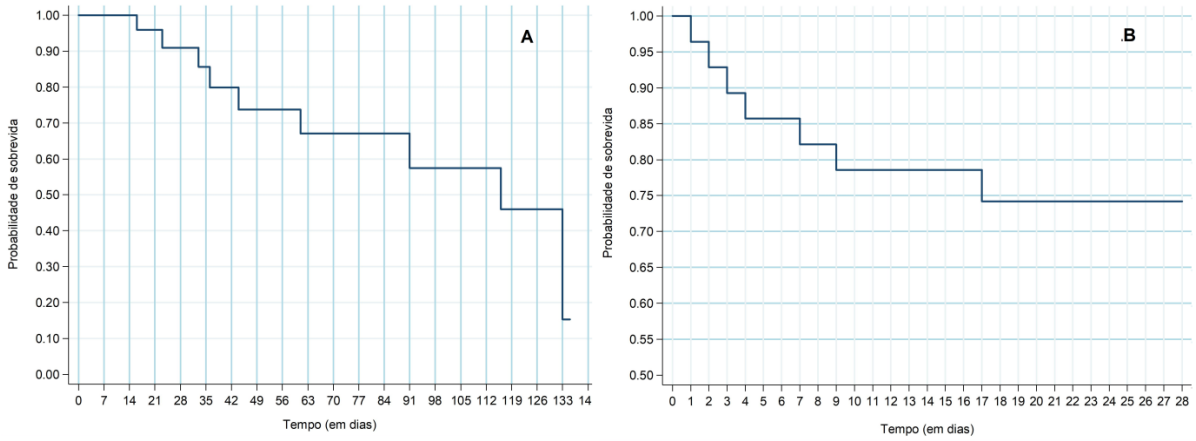
	Sítio	Data	Sexo	Idade[a]	PFGE[b]	CarbaNP[c]	Hipermuco[d]	bla_{KPC}	bla_{BKC}	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos[e] - CIM[f] (µg/mL)									
										CIP	PMB	FEP	FOX	CRO	TZP	IPM	MEM	ETP	CZA
C517	Hemocultura	Abr/17	Masculino	01	A	Negativo	Não	Negativo	Negativo	2	ND	<1	<1	<1	16	<0.25	<0.25	ND	0.125
C150	Hemocultura	Jun/16	Feminino	44	A	Negativo	Não	Negativo	Negativo	S	ND	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C192	Hemocultura	Set/16	Masculino	64	A	Negativo	Não	Negativo	Negativo	R	S	ND	ND	ND	I	ND	ND	ND	0.19
C400	Hemocultura	Fev/17	Masculino	37	A	Positivo	Não	Positivo	Negativo	>4	<0.5	>128	>64	>64	>128	>16	>16	ND	0.5
C031	Hemocultura	Jan/16	Masculino	19	A	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	0.5	>4	<1	>16	<1	<4	<1	<1	0.25	0.19
C165	Hemocultura	Jun/16	Masculino	67	A	Positivo	Não	Positivo	Negativo	R	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.0125
C290	Hemocultura	Nov/16	Masculino	49	B	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	>4	<0.5	2	ND	>64	16	ND	<0.25	<0.5	0.19
C288	Hemocultura	Nov/16	Masculino	52	B	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	>4	<0.5	2	ND	>64	16	<1	<0.25	ND	0.19
C199	Hemocultura	Set/16	Masculino	67	B	Negativo	Não	Negativo	Negativo	1	0.5	<1	<4	<1	8	<1	0.25	0.5	0.125
C348	Hemocultura	Dez/16	Feminino	64	C	Positivo	Não	Positivo	Negativo	>4	<0.5	>64	>64	>64	>128	1	16	ND	0.19
C105	Hemocultura	Mar/16	Feminino	49	C	Positivo	Sim	Positivo	Negativo	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C522	Hemocultura	Mar/17	Feminino	53	C	Positivo	Não	Positivo	Negativo	0.5	<0.5	>64	16	>64	>128	>16	>16	ND	0.0125
C555	Hemocultura	Mai/17	Masculino	84	C	Positivo	Não	Positivo	Negativo	2	2	>64	>64	>64	>128	>16	>16	ND	0.19
C472	Hemocultura	Mar/17	Feminino	22	C	Positivo	Não	Positivo	Negativo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.19
C087	Hemocultura	Mar/16	Feminino	49	C	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C300	Hemocultura	Nov/16	Masculino	66	C	Negativo	Não	Negativo	Negativo	<0.5	<0.5	<1	<4	<1	<4	<1	<0.25	ND	0.19
C592	Hemocultura	ND	ND	ND	C	Negativo	Não	Negativo	Negativo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C261	Hemocultura	Out/16	Masculino	22	D	Positivo	Não	Positivo	Negativo	>4	<0.5	>64	ND	>64	>128	1	>16	ND	0.19
C260	Hemocultura	Out/16	Masculino	73	D	Positivo	Não	Positivo	Negativo	1	>16	>64	ND	>64	>128	1	>16	ND	0.19
C524	Hemocultura	Mar/17	Feminino	02	D	Negativo	Não	Negativo	Negativo	2	<0.5	<1	<4	<1	16	<0.25	<0.25	ND	0.125
C155	Hemocultura	Jun/16	Masculino	76	D	Positivo	Não	Positivo	Negativo	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C579	Hemocultura	Mai/17	Masculino	82	D	Negativo	Não	Negativo	Negativo	<0.5	<0.5	<1	<4	<1	<4	<0.25	<0.25	<0.5	0.0125
C382	Hemocultura	Jan/17	Masculino	31	D	Negativo	Não	Negativo	Negativo	R	ND	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	ND
C217	Hemocultura	Out/16	Masculino	69	E	Negativo	Não	Negativo	Negativo	<0.5	ND	<1	ND	<1	<4	ND	<0.25	<0.5	0.19
C204	Hemocultura	Set/16	Masculino	59	E	Negativo	Não	Negativo	Negativo	>4	<0.5	8	8	>64	>128	<1	0.25	<0.5	0.19
C377	Hemocultura	Jan/17	Masculino	32	E	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	>4	<0.5	2	<4	>64	16	<1	<0.25	<0.5	0.094
C293	Hemocultura	Nov/16	Masculino	ND	E	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	>4	<0.5	8	<4	>64	>128	<1	<0.25	ND	0.25
C527	Hemocultura	Abr/17	Masculino	71	F	Negativo	Sim	Negativo	Negativo	>4	<0.5	8	ND	>64	>128	<0.25	<0.25	ND	0.19
C506	Hemocultura	Mar/17	Feminino	36	F	Negativo	Não	Negativo	Negativo	2	<0.5	<1	<4	<1	ND	<0.25	<0.25	<0.5	0.064

[a]Idade em anos. [b]PFGE: eletroforese de campo pulsado. [c]CarbaNP: teste CarbaNP Enterobacteriaceae. [d]Hipermuco: fenótipo hipermucoviscoso. [e]Antimicrobianos: CIP: ciprofloxacina; PMB: polimixina B; FEP: cefepima; FOX: cefoxitina; CRO: ceftriaxona; TZP: piperacillina-tazobactam; IPM: imipenem; MEM: meropenem; ETP: ertapenem; CZA: ceftazidima-avibactam. [f]CIM: concentração inibitória mínima. ND: não determinada. Fonte: autoria própria.

3.3 Análise de sobrevida

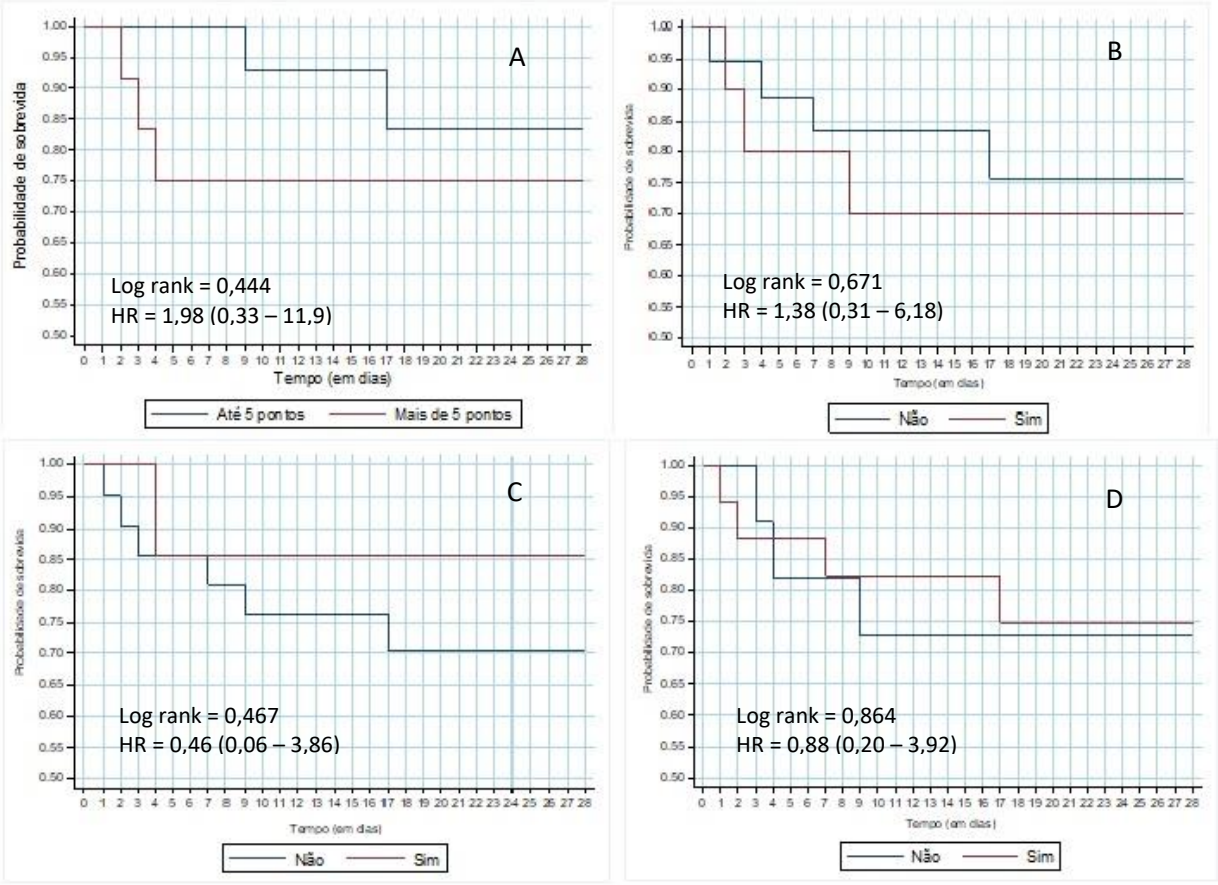
A análise de sobrevida demonstrou uma taxa de mortalidade de 6,5 óbitos/1000 pacientes-dia (IC95%: 3,5 - 12,1). A mediana do tempo de sobrevida foi 116 dias e de acompanhamento foi de 38 dias (10 - 135). Considerando os primeiros 28 dias, a mediana do tempo de sobrevida reduziu para 21 dias (1 - 28) e a taxa de mortalidade aumentou para 13,2 óbitos/1000 pacientes-dia (IC95%: 6,3 - 27,7). A probabilidade de óbito nos primeiros três dias foi 7,1% e nos primeiros oito dias 17,9% (Figura 7). A análise comparativa das curvas de sobrevida segundo resistência aos carbapenêmicos, fenótipo hipermucoviscoso e antibioticoterapia adequada não obteve diferença estatisticamente significante. Observamos um maior risco de óbito nos participantes com pontuação superior a cinco no CCI, porém também não significativo (HR = 1,98; IC95%: 0,33 – 11,9; log-rank: 0,444) (Figura 8).

Figura 7 - Curvas de sobrevida dos pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* em todo o seguimento (A) e nos primeiros 28 dias (B)



Fonte: autoria própria.

Figura 8 - Curvas de sobrevida nos primeiros 28 dias dos pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* segundo o índice de comorbidades de Charlson (A), resistência aos carbapenêmicos (B), fenótipo hipermucoviscoso (C) e antibioticoterapia adequada (D)



HR: relação de risco, do inglês *hazard ratio*. Fonte: autoria própria.

4 Discussão

A *K. pneumoniae* intriga a comunidade científica pela impressionante capacidade de adquirir novos elementos genéticos e adaptação. Nos últimos dez anos, observamos um notório aumento no número de infecções por isolados CRKP (Logan e Weinstein, 2017). A rápida disseminação dos mecanismos de resistência microbiana limita ainda mais as opções terapêuticas (Kaye e Pogue, 2015). Observa-se uma predominância do sexo masculino em infecções por *K. pneumoniae*. Esta divergência entre os gêneros pode estar relacionada a diferenças fisiológicas genéticas ou estilo de vida (Ang e Sun, 2018). Mais estudos são necessários para esclarecer essa hipótese.

O aumento das infecções por *K. pneumoniae* em pacientes oncológicos é relatado em vários países do mundo. No Canada, câncer foi fator de risco para

infecções de corrente sanguínea por *K. pneumoniae*, com destaque para leucemia mieloide aguda (Meatherall et al., 2009). Esta mesma neoplasia foi associada às bacteremias por isolados CRKP na Itália (Pagano et al., 2014; Micozzi et al., 2017). Metade dos participantes deste estudo apresentavam neoplasias, sendo 17.9% hematológicas. Entretanto, linfoma foi a mais encontrada.

A produção de carbapenemase do tipo KPC é descrita em vários países do mundo, sendo o principal mecanismo de resistência aos carbapenêmicos em *K. pneumoniae* (Jiao et al., 2015; Lee et al., 2016; Logan e Weinstein, 2017). Todos os isolados CRKP desta pesquisa eram produtores de KPC. Alguns estudos registram o gene bla_{KPC-2} como único determinante genético de resistência enzimática aos carbapenêmicos no Brasil (Tolentino et al., 2019). Um estudo realizado no centro-oeste brasileiro com 97 isolados CRKP, identificou o gene bla_{KPC} em 93.3% (Rodrigues et al., 2019). Todavia, há relato em Recife (Brasil) de isolado CRKP negativo para o gene bla_{KPC}, carreando o gene bla_{NDM-1} (Scavuzzi et al., 2019). A expansão epidemiológica de outros genes de resistência torna a vigilância dos mecanismos moleculares de resistência essencial.

Isolados CRKP são mais resistentes a outros antimicrobianos do que isolados CSKP, uma vez que carreadores do gene bla_{KPC} contêm genes de resistência a diferentes classes de antimicrobianos (Wang et al., 2018; Durante-Mangoni, Andini e Zampino, 2019). No presente estudo, encontramos o perfil de sensibilidade esperado para isolados produtores de carbapenemases, com resistência a todas as cefalosporinas e piperacilina-tazobactam. Entretanto não identificamos associação da resistência aos carbapenêmicos a outros antimicrobianos.

A resistência à polimixina em nossos isolados não foi relacionada ao gene *mcr-1*, corroborando com estudo de 15 isolados de *K. pneumoniae* resistentes à polimixina no Brasil, que também não identificou variantes desse gene (Rodrigues et al., 2019). Os principais determinantes genéticos não-plasmidiais de resistência à polimixina em *K. pneumoniae* é a inativação por inserção dos gene *mgrB*, principalmente, ou *CrrAB* por regulação positiva dos sistemas de dois componentes regulatórios PhoP/PhoQ ou PmrA/PmrB respectivamente. Estes sistemas são quinases ativadas por alterações nas concentrações iônicas do ferro, magnésio e pH ácido (Kumar et al., 2018). A avaliação dos prontuários médicos não forneceu informações sobre possíveis distúrbios hidroeletrolíticos.

Um isolado de *K. pneumoniae* resistente à polimixina foi exposto previamente a este antimicrobiano. Doses subótimas de polimixina podem desencadear o crescimento de subpopulações bacterianas resistentes em meio a uma população previamente sensível, desde que a cepa de *K. pneumoniae* apresente mutações no gene *mgrB*. Esse fenômeno é denominado heterorresistência (Jayol et al., 2015). O mesmo isolado carreava o gene bla_{KPC-2}. Plasmídeos que carreiam o gene bla_{KPC}, podem conter sequências de inserções que alteram a sequência de codificação do gene *mgrB*, desencadeando resistência à polimixina (Antonelli et al., 2017). A pesquisa do gene *mgrB* substanciaria tais hipóteses.

O fenótipo hipermucoviscoso caracteriza-se pela hiperexpressão do polissacarídeo capsular e representa um dos principais fatores de virulência em *K. pneumoniae*. Esse fator pode ser encontrado na *K. pneumoniae* clássica, associada às IRAS e, principalmente, nos isolados hipervirulentos, relacionados às infecções comunitárias graves, como abscessos hepáticos metastáticos e endoftalmites (Russo e Marr, 2019). Entre os 7 (25,0%) isolados hipermucoviscosos deste estudo, identificamos apenas um CRKP (1/10; 10,0%) e nenhum hipervirulento. Um estudo apontou 22,7% fenótipos hipermucoviscosos em 66 isolados CRKP (Pan et al., 2019).

A associação dos isolados CRKP à permanência em UTI, úlceras crônicas, terapia renal substitutiva e ventilação mecânica é apontada por outras publicações (Tuon et al., 2012; Kofteridis et al., 2014; Jiao et al., 2015; Wang et al., 2018; Li et al., 2019). Esses fatores de risco não são exclusivos de infecções por *K. pneumoniae* e são reportados em infecções por bactérias MDR (Li et al., 2019). Pacientes assistidos em UTI são submetidos a procedimentos invasivos. O uso de tubos endotraqueais provoca lesões na mucosa do trato respiratório, torna o escarro seco, viscoso e leva à falha nos mecanismos de proteção das vias aéreas, favorecendo a colonização por bactérias MDR e aumento da densidade de incidência das IRAS (Ang e Sun, 2018; Wang et al., 2018). O uso de antibióticos de amplo espectro seleciona isolados MDR, entre eles CRKP (Koopmans et al., 2017). Não encontramos associação entre CRKP e cateter vesical, provavelmente pela exclusão dos isolados em urina.

A associação entre infecções por isolados CRKP e o uso prévio de carbapenêmicos, aminoglicosídeos, polimixinas, glicopeptídeos e antifúngicos é

descrita na literatura (Jiao et al., 2015; Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017; Wang et al., 2018; Li et al., 2019). Outros estudos são necessários para a compreensão desses resultados. A antibioticoterapia com polimixina, amicacina e antifúngicos geralmente resulta da exposição prévia a múltiplos esquemas antimicrobianos, inclusive carbapenêmicos. Metade dos participantes expostos ao sulfametoxazol-trimetropim estava em uso deste antibiótico como profilaxia para *Pneumocystis jiroveci*, agente oportunista durante a quimioterapia para neoplasia hematológicas (Cooley et al., 2014).

A disseminação de isolados CRKP tornou o tratamento das IRAS um grande desafio. Terapia combinada é geralmente utilizada, contudo a melhor estratégia ainda é desconhecida. Entre as opções terapêuticas, dispomos das polimixinas, glicilciclinas, aminoglicosídeos, terapia dupla com carbapenêmicos e, recentemente, ceftazidima-avibactam (Bassetti et al., 2018). Nossos resultados apontam amicacina, ceftazidima-avibactam e polimixina B como boas opções empíricas para estas infecções, uma vez que menos de 10% dos isolados foram resistentes. As taxas de resistência aos antimicrobianos em isolados CRKP sofrem variações entre os países.

Na Grécia, foram evidenciados 24,5% (13/53) de resistência à colistina e apenas 3,8% (2/53) à gentamicina (Zarkotou et al., 2011). Outro estudo com 38 isolados demonstrou taxa de resistência 30,8% à gentamicina e 19,2% à colistina na Itália (Pagano et al., 2014). Em ambos os estudos citados, as taxas de resistência à gentamicina foram inferiores às nossas e não houve menção às taxas da amicacina. No sudeste do Brasil, foram identificados 20,8% (10/48) de resistência à amicacina, 10,5% (2/19) à polimixina, 95,8% (46/48) à ciprofloxacina e 91,7% (44/48) à gentamicina (Tolentino et al., 2019). Nossos isolados apresentaram valores inferiores de resistência à ciprofloxacina (57,1%) e à gentamicina (53,6%).

Estudo realizado na Grécia com 139 isolados reportou dados preocupantes. Além da esperada elevada resistência à gentamicina (60,4%), 44,6% dos isolados eram resistentes à polimixina e 28,1% à tigeciclina (Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017). Por outro lado, na China, a tigeciclina foi identificada como a melhor opção terapêutica em 244 isolados CRKP, com 95,5% de suscetibilidade, seguida da amicacina com apenas 31,1% isolados suscetíveis (Li et al., 2019). As taxas de suscetibilidade para a piperacilina-tazobactam (55.9%) foram melhores do que as encontradas neste estudo (35,7%). Não identificamos resistência à ceftazidima-

avibactam e tigeciclina. Nos Estados Unidos, de 2012 a 2015, as taxas de resistência em 380 isolados CRKP foram 0.8% para ceftazidima-avibactam, 1,1% para tigeciclina e 19,9% para colistina. Apenas três isolados foram resistentes à ceftazidima-avibactam. Dois carreavam, além do gene *bla*$_{KPC}$, genes de metalo-β-lactamases (*bla*$_{NDM-1}$ ou *bla*$_{VIM-4}$), e um isolado apresentava alterações em porinas (Castanheira et al., 2017).

Alguns estudos endossam a associação entre internamento prévio em UTI e óbito (Jiao et al., 2015; Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2017). A mortalidade nas bacteremias por *K. pneumoniae* varia na literatura de 20 a 60% (Pagano et al., 2014; Jiao et al., 2015; Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2016). A taxa de mortalidade intra-hospitalar desta pesquisa (35.7%) situa-se nesta faixa. As infecções por isolados CRKP apresentam variações intercontinentais na mortalidade: América do Norte (33,3%), América do Sul (46,7%), Europa (50,1%) e Ásia (44,8%) (Xu et al., 2017). Encontramos taxa semelhante ao esperado para América do Sul (50,0%). A mediana de idade inferior nos óbitos atribuídos à *K. pneumoniae* reflete dois óbitos (2/6; 33,3%) ocorridos em participantes menores de dois anos.

O CCI foi desenvolvido em 1984 como ferramenta utilizada para avaliar o risco de mortalidade, ponderando comorbidades e estimando o percentual de sobrevida em 10 anos (Quan et al., 2011). Segundo nosso estudo, a média do CCI nos óbitos foi superior aos sobreviventes, ratificando a eficácia deste índice como bom preditor de mortalidade. Tal achado corrobora com estudo prévio (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2017).

Os resultados deste estudo assemelham-se com outras pesquisas ao concluir que a resistência aos carbapenêmicos seja pouco relevante para mortalidade em infecções por isolados CRKP (Kofteridis et al., 2014; Paramythiotou e Routsi, 2016; Zheng et al., 2017; Wang et al., 2018). A literatura ainda é controversa em relação a essa associação. A colonização retal por *K. pneumoniae* KPC foi o único fator de risco independente para mortalidade em pacientes com pé diabético (Tascini et al., 2015), porém não se avaliaram as infecções por isolados CRKP nessa população. Maior mortalidade foi associada às infecções por CRKP em UTI (Li et al., 2019). Diversos fatores contribuem para a gravidade dessas infecções: pacientes acometidos por múltiplas comorbidades; tempo prolongado de hospitalização; e terapia empírica inapropriada, visto que isolados CRKP apresentam resistência aos esquemas antimicrobianos de primeira escolha, como

cefalosporinas, penicilinas e carbapenêmicos (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2016: Zheng et al., 2017; Cristina et al., 2018).

Terapia antimicrobiana apropriada foi associada a menor mortalidade em infecções de corrente sanguínea por Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2017; Martin et al., 2018; Sabino et al., 2019) e isolados CRKP (Zarkotou et al., 2011; Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017; Micozzi et al., 2017). Não encontramos tal associação em nosso estudo. O declínio do status imunológico-funcional decorrente das múltiplas comorbidades é determinante na sobrevida dos pacientes. O impacto dessa variável e sua relação com a assertividade terapêutica precisa ser melhor avaliado.

Entre as limitações do estudo, destacamos o tamanho da amostra, a procedência de único centro, a heterogeneidade da população com ampla faixa etária e diversas unidades de internamento. Sugerimos pesquisas com participantes e faixas etárias melhores delimitadas.

As bacteremias por isolados de *K. pneumoniae* descritas assemelham-se ao relatado na literatura. Associou-se mortalidade à presença de múltiplas comorbidades. Entretanto resistência microbiana e antibioticoterapia adequada não definiram desfecho. A inserção de novos antibióticos na prática médica demanda a monitorização dos mecanismos moleculares de resistência e aprimoramento dos programas de gestão dos antimicrobianos. A terapia empírica deve se adequar aos perfis locais de sensibilidade. Portanto, entendemos que prevenir transmissão ainda é a principal via de proteção contra infecções por isolados CRKP. Endossamos medidas de controle de infecção hospitalar, tais como higiene das mãos, vigilância ambiental e precaução de contato para pacientes colonizados por patógenos MDR.

Agradecimentos

Ao Hospital das Clínicas - UFPE / EBSERH pela disponibilização dos isolados bacterianos e prontuários; e ao Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE) pela realização das análises bacteriológicas.

Financiamento

Esta pesquisa não recebeu nenhuma concessão específica de agências de financiamento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Referências

Ang H, Sun X. Risk factors for multidrug-resistant Gram-negative bacteria infection in intensive care units: A meta-analysis. Int J Nurs Pract 2018;24(4):e12644.

Antonelli A, D'Andrea MM, Giani T, Rossolini GM. Plasmid-mediated or chromosomally mediated colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*? Lancet Infect Dis 2017;17(1):26–7.

ANVISA. Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 17: Avaliação dos indicadores nacionais das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e resistência microbiana do ano de 2017. https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/boletim-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude, 2019 (acesso em 11 de agosto de 2019).

Bassetti M, Giacobbe DR, Giamarellou H, Viscoli C, Daikos GL, Dimopoulos G, et al. Management of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. Clin Microbiol Infect 2018;24(2):133–44.

Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Beretti J-L, et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. Clin Biochem 2011;44(1):104–9.

Castanheira M, Mendes RE, Sader HS. Low frequency of ceftazidime-avibactam resistance among Enterobacteriaceae isolates carrying bla_{KPC} collected in U.S. hospitals from 2012 to 2015. Antimicrob Agents Chemother 2017;61(3).

CDC C for DC and P. National Healthcare Safety Network (NHSN) Patient Safety Component Manual. https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/pcs manual_ current.pdf, 2019 (acesso em 1 de agosto de 2019).

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. M100. 2015.

Cooley L, Dendle C, Wolf J, Teh BW, Chen SC, Boutlis C, et al. Consensus guidelines for diagnosis, prophylaxis and management of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological and solid malignancies, 2014. Intern Med J 2014;44(12b):1350–63.

Cristina ML, Alicino C, Sartini M, Faccio V, Spagnolo AM, Bono VD, et al. Epidemiology, management, and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in hospitals within the same endemic metropolitan area. J Infect Public Health 2018;11(2):171–7.

Durante-Mangoni E, Andini R, Zampino R. Management of carbapenem resistant Enterobacteriaceae infections. Clin Microbiol Infect 2019.

EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf_, 2018 (acesso em 28 de novembro de 2018).

Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. Clin Microbiol Infect 2013;19(6):501–9.

Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh P-R, Viale P, Paño-Pardo JR, et al. A predictive model of mortality in patients with bloodstream infections

due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Mayo Clin Proc 2016;91(10):1362–71.

Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh P-R, Viale P, Paño-Pardo JR, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. Lancet Infect Dis 2017;17(7):726–34.

Hussein K, Raz-Pasteur A, Finkelstein R, Neuberger A, Shachor-Meyouhas Y, Oren I, et al. Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital-acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. J Hosp Infect 2013;83(4):307–13.

IBGE. Indicadores Sociais Mínimos: Aspectos Demográficos. https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/população, 2019 (acesso em 01 de agosto de 2019)

Jayol A, Nordmann P, Brink A, Poirel L. Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system. Antimicrob Agents Chemother 2015;59(5):2780–4.

Jiao Y, Qin Y, Liu J, Li Q, Dong Y, Shang Y, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. Pathog Glob Health 2015;109(2):68–74.

Kaye KS, Pogue JM. Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: epidemiology and management. Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther 2015;35(10):949–62.

Khakabimamaghani S, Najafi A, Ranjbar R, Raam M. GelClust: A software tool for gel electrophoresis images analysis and dendrogram generation. Comput Methods Programs Biomed 2013;111(2):512–8.

Kofteridis DP, Valachis A, Dimopoulou D, Maraki S, Christidou A, Mantadakis E, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization: a case–case-control study. J Infect Chemother. 2014;20(5):293–7.

Koopmans M, Vermei L, van Wieren A, Bruins N, de Jager CM, Christiaan Boerma E. Improvement in functional abilities at ICU discharge is feasible without prolongation of the length of stay ICU. Intensive Care Med 2017;43(2):273–4.

Kumar A, Biswas L, Omgy N, Mohan K, Vinod V, Sajeev A, et al. Colistin resistance due to insertional inactivation of the *mgrB* in *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin: First report from India. Rev Esp Quimioter 2018;31(5):406–10.

Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. Front Microbiol 2016;7:895.

Li Y, Shen H, Zhu C, Yu Y. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections among ICU admission patients in central China: prevalence and prediction Model. Biomed Res Int 2019;2019:1–10.

Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. J Infect Dis 2017;215(suppl_1):S28–36.

Martin A, Fahrbach K, Zhao Q, Lodise T. Association between carbapenem resistance and mortality among adult, hospitalized patients with serious infections due to Enterobacteriaceae: results of a systematic literature review and meta-analysis. Open Forum Infect Dis 2018;5(7):ofy150.

Meatherall BL, Gregson D, Ross T, Pitout JDD, Laupland KB. Incidence, risk factors, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. Am J Med 2009;122(9):866–73.

Micozzi A, Gentile G, Minotti C, Cartoni C, Capria S, Ballarò D, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in high-risk haematological patients: factors favouring spread, risk factors and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias. BMC Infect Dis 2017;17(1):203.

Nicoletti AG, Marcondes MFM, Martins WMBS, Almeida LGP, Nicolás MF, Vasconcelos ATR, et al. Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2015;59(9):5159–64.

Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2012;18(9):1503–7.

Pagano L, Caira M, Trecarichi EM, Spanu T, Di Blasi R, Sica S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and hematologic Malignancies. Emerg Infect Dis 2014;20(7):1235–6.

Pan H, Lou Y, Zeng L, Wang L, Zhang J, Yu W, et al. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* : microbiological characteristics and risk factors. Microb Drug Resist 2019;25(2):287–96.

Papadimitriou-Olivgeris M, Fligou F, Bartzavali C, Zotou A, Spyropoulou A, Koutsileou K, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in critically ill patients: risk factors and predictors of mortality. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017;36(7):1125–31.

Paramythiotou E, Routsi C. Association between infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria and mortality in critically ill patients. World J Crit Care Med 2016;5(2):111.

Quan H, Li B, Couris CM, Fushimi K, Graham P, Hider P, et al. Updating and validating the Charlson comorbidity index and score for risk adjustment in hospital discharge abstracts using data from 6 countries. Am J Epidemiol 2011;173(6):676–82.

Rodrigues ACS, Santos IC de O, Campos CC, Rezende IN, Ferreira YM, Chaves CEV, et al. Non-clonal occurrence of *pmrB* mutations associated with polymyxin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2019;114(0):e180555.

Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Clin Microbiol Rev 2019;32(3).

Russo TA, Shon AS, Beanan JM, Olson R, MacDonald U, Pomakov AO, et al. Hypervirulent *K. pneumoniae* secretes more and more active iron-acquisition molecules than “classical” *K. pneumoniae* thereby enhancing its virulence. Spellberg B, organizador. PLoS One 2011;6(10):e26734.

Sabino S, Soares S, Ramos F, Moretti M, Zavascki AP, Rigatto MH. A cohort study of the impact of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections on mortality of patients presenting with sepsis. Bradford PA, organizador. mSphere 2019;4(2).

Santos WM dos, Secoli SR. Economic burden of inpatients infected with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. Einstein (São Paulo) 2019;17(4):eGS4444.

Scavuzzi AML, Firmo EF, Oliveira ÉM de, Lopes AC de S. Emergence of bla_{NDM-1} associated with the *aac(6')-Ib-cr*, *acrB*, *cps*, and *mrkD* genes in a clinical isolate of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* from Recife-PE, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2019;52(0):e20180352.

Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. Lancet Infect Dis 2018;18(3):318–27.

Tascini C, Lipsky BA, Iacopi E, Ripoli A, Sbrana F, Coppelli A, et al. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* rectal colonization is a risk factor for mortality in patients with diabetic foot infections. Clin Microbiol Infect 2015;21(8):790.e1-790.e3.

Tenover FC, Arbeit RD, Goering R V, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33(9):2233–9.

Tolentino FM, Bueno MFC, Franscisco GR, Barcelos DD de P, Lobo SM, Tomaz FMMB, et al. Endemicity of the high-risk clone *Klebsiella pneumoniae* ST340 coproducing QnrB, CTX-M-15, and KPC-2 in a Brazilian Hospital. Microb Drug Resist 2019;25(4):528–37.

Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, Arend LN, Dias CH, Leite TM, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. Brazilian J Infect Dis 2012;16(5):416–9.

Wang Z, Qin R-R, Huang L, Sun L-Y. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and mortality of *Klebsiella pneumoniae* infection. Chin Med J (Engl) 2018;131(1):56.

Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2017;16(1):18.

Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. Clin Microbiol Infect 2011;17(12):1798–803.

Zhang J, Wang J, Chen L, Yassin AK, Kelly P, Butaye P, et al. Housefly (*Musca domestica*) and blow fly (*Protophormia terraenovae*) as vectors of bacteria carrying colistin resistance Genes. Dozois CM, organizador. Appl Environ Microbiol 2018;84(1):e01736-17.

Zheng X, Wang J, Xu W, Xu J, Hu J. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. Antimicrob Resist Infect Control 2017;6(1):102.

6.2 TABELAS E FIGURAS QUE NÃO FORAM UTILIZADAS NO ARTIGO

Tabela 4 – Aspectos demográficos e clínicos dos 28 pacientes com bacteremia por *Klebsiella pneumoniae*

Variáveis, n (%)	Valor
Sexo masculino	20 (71,4)
Idade (anos)[a], média ± DP[b]	49,9 ± 22,8
Unidade de Internamento	
Enfermaria	23 (82,1)
Unidade de terapia intensiva	5 (17,9)
Comorbidades	
Neoplasias	15 (53,6)
Tumores sólidos	10 (35,7)
Neoplasias hematológicas	5 (17,9)
Tratamento quimioterápico ou corticoide	9 (32,1)
Insuficiência renal crônica	14 (50,0)
Terapia renal substitutiva	10 (35,7)
Etilismo	9 (32,1)
Úlceras crônicas	8 (28,6)
Diabetes mellitus	6 (21,4)
Índice de Comorbidades de Charlson (CCI)[a], média ± DP[b]	5,7 ± 2,7
Fatores de risco para resistência microbiana (últimos 90 dias)	
Internamento prévio	23 (82,1)
Uso de antibióticos	21 (75,0)
Internamento em unidade de terapia intensiva	12 (42,9)
Dispositivos invasivos presentes na data da bacteremia	
Cateter venoso central	21 (75,0)
Ventilador mecânico	5 (17,9)
Cateter vesical de demora	7 (25,0)
Procedimento cirúrgico	2 (7,1)
Classificação das bacteremias (Critérios CDC[c], 2018)	
Infecção primária de corrente sanguínea	21 (75,0)
Secundárias	7 (25,0)
Infecção abdominal	1 (3,6)
Infecção de sítio cirúrgico	1 (3,6)
Infecção do trato urinário	4 (14,3)
Pneumonia associada à ventilação mecânica	1 (3,6)
Tempo entre admissão e bacteremia em dias[a], média ±DP[b]	34,9 ± 38,3
Tempo entre bacteremia e óbito em dias[a], média ±DP[b]	16,0 ± 17,3
Tempo total de permanência hospitalar em dias[a], média ±DP[b]	55,1 ± 42,2
Antibioticoterapia adequada	17 (60,7)
Isolados resistentes aos carbapenêmicos (CRKP)	10 (35,7)
Desfecho clínico	
Sobreviventes	22 (78,6)
Mortalidade intra-hospitalar	10 (35,7)
Mortalidade no 14º dia	6 (21,4)
Mortalidade no 30º dia	8 (28,6)
Mortalidade no 60º dia	10 (35,7)
Mortalidade atribuída a *K. pneumoniae*	6 (21,4)

[a]Distribuição normal (Teste de normalidade Shapiro-Wilk >0,05). [b]DP = desvio padrão. [c]CDC: Centros de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*. Fonte: autoria própria.

Tabela 5 - Aspectos demográficos e clínicos das 28 bacteremias por *Klebsiella pneumoniae*, em relação ao desfecho clínico

Variáveis	Sobreviventes 18 (64,3)	Não-sobreviventes 10 (35,7)	p-valor
Sexo masculino	13 (77,2)	7 (70,0)	1,000[c]
Idade (anos)[a], média ± DP[b]	54,8 ± 17,3	41,1 ± 29,3	0,129[d]
Unidade de Internamento			
Enfermaria	15 (83,3)	8 (80,0)	1,000[c]
Unidade de terapia intensiva	3 (16,7)	2 (20,0)	
Comorbidades			
Neoplasias	8 (44,4)	7 (70,0)	0,254[c]
Tumores sólidos	6 (33,3)	4 (40,0)	0,677[c]
Neoplasias hematológicas	2 (11,1)	3 (30,0)	0,315[c]
Quimioterápico ou corticoide	5 (27,8)	5 (50,0)	0,412[c]
Insuficiência renal crônica	9 (50,0)	5 (50,0)	1,000[c]
Terapia renal substitutiva	6 (33,3)	4 (40,0)	1,000[c]
Etilismo	6 (33,3)	3 (30,0)	1,000[c]
Diabetes mellitus	2 (11,1)	4 (40,0)	0,147[c]
Úlceras crônicas	3 (16,7)	5 (50,0)	0,091[c]
Índice de Comorbidades de Charlson (CCI)[a], média ± DP[b]	5,0 ± 2,7	7,4 ± 2,1	**0,036[d]**
Fatores de risco para resistência microbiana (últimos 90 dias)			
Internamento prévio	14 (77,8)	9 (90,0)	0,626[c]
Uso de antibióticos	14 (77,8)	7 (70,0)	0,602[c]
Assistência em terapia intensiva	5 (27,8)	7 (70,0)	**0,050[c]**
Dispositivos invasivos na data da bacteremia			
Cateter venoso central	12 (66,7)	9 (90,0)	0,071[c]
Ventilador mecânico	2 (11,1)	3 (30,0)	0,295[c]
Cateter vesical de demora	4 (22,2)	3 (30,0)	0,653[c]
Procedimento cirúrgico	1 (5,6)	1 (10,0)	1,000[c]
Classificação das bacteremias[e]			
Primárias	14 (77,8)	7 (70,0)	0,674[c]
Secundárias	4 (22,2)	3 (30,0)	0,268[f]
Infecção abdominal	0	1 (10,0)	
Infecção de sítio cirúrgico	0	1 (10,0)	
Infecção do trato urinário	3 (16,7)	1 (10,0)	
Pneumonia associada à ventilação mecânica	1 (5,6)	0	
Tempo: admissão - bacteremia[a]	25,1±30,2	58,7±46,1	0,066[c]
Tempo: permanência hospitalar[a] (em dias, média ± DP[b])	47,6±39,3	68,6±45,8	0,212[c]
Antibioticoterapia adequada	11 (61,1)	6 (60,0)	0,705[c]
Fenótipo hipermucoviscoso	5 (27,8)	2 (20,0)	1,000[c]
Dispersão clonal	9 (50,0)	7 (70,0)	0,434[c]
Resistência aos carbapenêmicos			
CSKP[g]	13 (72,2)	5 (50,0)	0,412[c]
CRKP[h]	5 (27,8)	5 (50,0)	

[a]Distribuição normal (Teste de normalidade Shapiro-Wilk >0.05). [b]DP = desvio padrão. [c]Teste Exato de Fisher. [d]Teste de Mann Whitney. [e]CDC: Centros de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention* [f]Teste do qui-quadrado. [g]CSKP: *K. pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos. [h]CRKP: *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos. Fonte: autoria própria.

Tabela 6 - Características microbiológicas dos 28 isolados de *K. pneumoniae* em bacteremias

Variáveis	Valor
Perfil de sensibilidade antimicrobiano	
Multissensível	5 (17,9)
Multidrogarresistente	19 (67,9)
Extensivamente drogarresistente	1 (3,6)
Pandrogarresistente	0
Presença de β-lactamases	
AmpC	0
ESBL[a]	10 (35,7)
KPC-2[b]	9 (32,1)[c]
BKC[d]	0[c]
Metalo-β-lactamase	0
Fenótipo hipermuviscoso	7 (25)

[a]ESBL: β-lactamase de espectro estendido, do inglês *extended-spectrum β-lactamase*. [b]KPC: Carbapenemase de *Klebsiella pneumoniae*, do inglês *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*. [c]Um isolado bacteriano resistente aos carbapenêmicos não cresceu em placa, por isso não realizamos o teste *CarbNP Enterobacteriaceae* nem a pesquisa do genes bla_{KPC} e bla_{BKC}. [d]BKC: Carbapenemase Brasileira de *Klebsiella*, do inglês *Brazilian Klebsiella carbapenemase*. Fonte: autoria própria.

Tabela 7 – Associação entre os padrões de bandas obtidos por PFGE dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias e mortalidade

Complexos clonais	Sobreviventes n=18	Não-sobreviventes n=10	p-valor[a]
A	3 (16,7)	3 (30,0)	0,634
B	3 (16,7)	0	0,533
C	4 (22,2)	3 (30,0)	0,674
D	3 (16,7)	3 (30,0)	0,634
E	3 (16,7)	1 (10,0)	1,000
F	2 (11,1)	0	0,524

[a]Teste Exato de Fisher. Fonte: autoria própria.

Tabela 8 - Suscetibilidade antimicrobiana dos 28 isolados de *Klebsiella pneumoniae* em bacteremias, de acordo com a sensibilidade aos carbapenêmicos.

Antimicrobiano, n (%)	CSKP[a] n=18	CRKP[b] n=10	p-valor[c]
Amicacina	18 (100)	9 (90,0)	0,357
Gentamicina	10 (55,6)	3 (30,0)	0,254
Ceftriaxona/Ceftazidima	8 (44,4)	0	**0,025**
Cefepima	10 (55,6)	0	**0,004**
Piperac-tazobactam	10 (55,6)	0	**0,004**
Ciprofloxacina	8 (44,4)	4 (40,0)	1,000
Polimixina	17 (94,4)	9 (90,0)	1,000
Tigeciclina (n=15)[d]	10 (100)	3 (60,0)	0,095

[a]CSKP = *K. pneumoniae* carbapenêmico suscetível. [b]CRKP = *K. pneumoniae* carbapenêmico resistente. [c]Teste Exato de Fisher. [d]Tigeciclina não foi testada em todos os isolados bacterianos. Fonte: autoria própria.

7 CONCLUSÕES

- As bacteremias por *K. pneumoniae* relacionam-se à assistência à saúde; sexo masculino; múltiplas comorbidades, principalmente neoplasias e insuficiência renal; CVC como principal dispositivo invasivo; e, consequentemente, IPCS;
- Associou-se mortalidade à presença de múltiplas comorbidades e internamento em UTI. Observamos uma maior tendência ao óbito no grupo CRKP. Entretanto, não houve associação entre mortalidade e antibioticoterapia inadequada. Concluímos que resistência microbiana e antibioticoterapia adequada não definiram desfecho;
- A análise de sobrevida demonstrou uma taxa de mortalidade de 13,2 óbitos/1000 pacientes-dia (IC95%: 6,3-27,7) nos primeiros 28 dias;
- A exposição prévia a antimicrobianos (meropenem, polimixina, amicacina, sulfametoxazol-trimetropim, glicopeptídeos ou antifúngicos), neoplasias hematológicas, úlceras crônicas, terapia renal substitutiva, internamento em UTI e ventilação mecânica foram associadas à resistência aos carbapenêmicos. Essas associações são identificadas em outros estudos;
- Os isolados de *K. pneumoniae* apresentaram taxas de resistência superiores a 50% à ceftriaxona, ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam e ciprofloxacina. Amicacina e polimixina B apresentaram taxas de resistência menores que 10%. Nenhum isolado foi resistente à ceftazidima-avibactam;
- O determinante genético de resistência aos carbapenêmico foi bla_{KPC-2};
- Antibióticos influenciam a dinâmica entre bactérias e seres humanos há anos. A inserção de novos ativos químicos na prática médica demanda a monitorização dos mecanismos moleculares de resistência microbiana e aprimoramento dos programas de gestão dos antimicrobianos. Outros estudos são necessários para acompanhamento e melhor compreensão desses desafiadores enigmas.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**: critérios diagnósticos de infecção relacionada à assistência à saúde. v. 2, p. 80, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 17: Avaliação dos indicadores nacionais das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e resistência microbiana do ano de 2017. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/category/boletins-estatisticos>. Acesso em 11 de agosto de 2019.

AH, Y.-M.; KIM, A.-J.; LEE, J.-Y. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 1, p. 8–15, 2014.

ALATOOM, A. A. et al. Comparison of direct colony method versus extraction method for identification of gram-positive cocci by use of Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 8, p. 2868–73, 2011.

AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321–31, 1980.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Classification and diagnosis of diabetes. **Diabetes care**, v. 40, n. Suppl 1, p. S11–S24, 2017.

ANDERSON, D. J. et al. Seasonal variation in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection on 4 continents. **The Journal of infectious diseases**, v. 197, n. 5, p. 752–6, 2008.

ANDRADE, L. N. et al. Dissemination of bla_{KPC-2} by the spread of *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among Enterobacteriaceae species in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3579–83, 2011.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 48 Suppl 1, p. 5–16, 2001.

ANG, H.; SUN, X. Risk factors for multidrug-resistant Gram-negative bacteria infection in intensive care units: A meta-analysis. **International Journal of Nursing Practice**, v. 24, n. 4, p. e12644, 2018.

ANTONELLI, A. et al. Plasmid-mediated or chromosomally mediated colistin resistance in Klebsiella pneumoniae ? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 26–27, 2017.

ASENSIO, A. et al. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 30, n. 1, p. 55–60, 2000.

BARLAM, T. F. et al. Executive summary: Implementing an antibiotic stewardship

program: guidelines by the infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, n. 10, p. 1197–1202, 2016.

BASSETTI, M. et al. Treatment of infections due to MDR Gram-negative bacteria. **Frontiers in Medicine**, v. 6, p. 74, 16 abr. 2019.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. Tabela de Pontos de Corte Clínicos do BrCAST-EUCAST versão 2019. Disponível em: <http://brcast.org.br/>. Acesso em 23 jan. 2018.

BRISSE, S. et al. *wzi* Gene sequencing, a rapid method for determination of capsular type for *Klebsiella* strains. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 12, p. 4073–8, 2013.

BRISSE, S.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P. A. D. The Genus *Klebsiella*. *In*: **The Prokaryotes**. Springer New York, 2006. p. 159–196.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–76, 2010.

CABRAL, A. B. et al. Multidrug resistance genes, including bla_{KPC} and $bla_{CTX\text{-}M\text{-}2}$, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 5, p. 572–578, 2012.

CABRAL, A. B. et al. KPC-2 in *Proteus mirabilis* in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 1, p. 94–95, 2015.

CABRAL, A. B. et al. Clonal spread and accumulation of β-lactam resistance determinants in *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae* complex isolates from infection and colonization in patients at a public hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 70–77, 2017.

CANDAN, E. D.; AKSÖZ, N. *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. **Acta Biochimica Polonica**, v. 62, n. 4, p. 867–874, 2015.

CANIAUX, I. et al. MCR: modern colistin resistance. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 36, n. 3, p. 415–420, 2017.

CARBONNELLE, E. et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. **Clinical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 104–109, 2011.

CARDOSO, T. et al. The impact of healthcare-associated infection on mortality: failure in clinical recognition is related with inadequate antibiotic therapy. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e58418, 2013.

CARDOSO, T. et al. Classification of healthcare-associated infection: a systematic review 10 years after the first proposal. **BMC Medicine**, v. 12, n. 1, p. 40, 2014.

CASTANHEIRA, M.; MENDES, R. E.; SADER, H. S. Low Frequency of Ceftazidime-Avibactam Resistance among Enterobacteriaceae Isolates Carrying bla_{KPC} Collected in U.S. Hospitals from 2012 to 2015. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.

61, n. 3, 2017.

CHARLSON, M. E. et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. **Journal of chronic diseases**, v. 40, n. 5, p. 373–83, 1987.

CHETCUTI ZAMMIT, S.; AZZOPARDI, N.; SANT, J. Mortality risk score for *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. **European Journal of Internal Medicine**, v. 25, n. 6, p. 571–576, 2014.

CLINICAL LABORATORY STANDARD INSTITUTE. **CLSI:** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. M100. 2015.

COOLEY, L. et al. Consensus guidelines for diagnosis, prophylaxis and management of *P neumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological and solid malignancies, 2014. **Internal Medicine Journal**, v. 44, n. 12b, p. 1350–1363, 2014.

COWAN, S. T. et al. A Classification of the *Klebsiella* Group. **Journal of General Microbiology**, v. 23, n. 3, p. 601–612, 1960.

CRISTINA, M. L. et al. Epidemiology, management, and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in hospitals within the same endemic metropolitan area. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 2, p. 171–177, 2018.

D'ANGELO, R. G. et al. Treatment options for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC-producing bacteria. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 17, n. 7, p. 953–967, 2016.

DAIKOS, G. L. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 4, p. 2322–2328, 2014.

DALMOLIN, T. V. et al. Acquisition of the *mcr-1* gene by a high-risk clone of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST437/CC258, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 90, n. 2, p. 132–133, 2018.

DECRÉ, D. et al. Emerging severe and fatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* in two university hospitals in France. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 8, p. 3012–4, 2011.

DIEKEMA, D. J. et al. The microbiology of bloodstream infection: 20-year trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 7, 2019.

DOORDUIJN, D. J. et al. Complement resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae*. **Immunobiology**, v. 221, n. 10, p. 1102–1109, 2016.

DURANTE-MANGONI, E.; ANDINI, R.; ZAMPINO, R. Management of carbapenem resistant Enterobacteriaceae infections. **Clinical Microbiology and Infection**, 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES. **EBSERH:** HC em

números. Disponível em: <http://www2.ebserh.gov.br/web/hc-ufpe/licitacoes-e-contratacoes>. Acesso em 5 de agosto de 2019.

EL-GAMAL, M. I. et al. Recent updates of carbapenem antibiotics. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 131, p. 185–195, 2017.

FANG, C.-T. et al. *Klebsiella pneumoniae* genotype K1: an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 3, p. 284–293, 2007.

FERNANDES, M. R. et al. First report of the globally disseminated IncX4 plasmid carrying the *mcr-1* gene in a colistin-resistant *Escherichia coli* sequence type 101 isolate from a human infection in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 60, n. 10, p. 6415–7, 2016.

FERREIRA, A. M. et al. First report of a clinical isolate of New Delhi metallo-β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. **Journal of Hospital Infection**, v. 94, n. 1, p. 73–74, 2016.

FRAZEE, B. W.; HANSEN, S.; LAMBERT, L. Invasive infection with hypermucoviscous *klebsiella pneumoniae*: multiple cases presenting to a single emergency department in the United States. **Annals of Emergency Medicine**, v. 53, n. 5, p. 639–642, 2009.

FRIEDMAN, N. D. et al. Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. **Annals of internal medicine**, v. 137, n. 10, p. 791–7, 2002.

GALES, A. C. et al. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 73, n. 4, p. 354–60, 2012.

GERLACH, G. F.; CLEGG, S.; ALLEN, B. L. Identification and characterization of the genes encoding the type 3 and type 1 fimbrial adhesins of *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of bacteriology**, v. 171, n. 3, p. 1262–70, 1989.

GOLINKO, M. S. et al. Wound emergencies: the importance of assessment, documentation, and early treatment using a wound electronic medical record. **Ostomy/wound management**, v. 55, n. 5, p. 54–61, 2009.

GOMEZ-SIMMONDS, A. et al. Combination regimens for treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 6, p. 3601–3607, 2016.

GOODMAN, K. E. et al. Infection control implications of heterogeneous resistance mechanisms in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). **Expert review of anti-infective therapy**, v. 14, n. 1, p. 95–108, 2016.

GOTO, M.; AL-HASAN, M. N. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 6, p. 501–509, 2013.

GRIFFIN, A. T.; WIEMKEN, T. L.; ARNOLD, F. W. Risk factors for cardiovascular

events in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. **International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 17, n. 12, p. e1125-9, 2013.

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

HUSSEIN, K. et al. Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital-acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Hospital Infection**, v. 83, n. 4, p. 307–313, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE:** indicadores sociais mínimos - aspectos demográficos. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br /estatisticas/sociais/populacao/17374-indicadores-sociais-inimos.html?=&t=resultad os>. Acesso em 11 de agosto de 2019.

JAYOL, A. et al. Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 2780–4, 2015.

JIAO, Y. et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. **Pathogens and Global Health**, v. 109, n. 2, p. 68–74, 2015.

JONES, R. N. et al. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program (2011). **The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 672–81, 2013.

KAISER, R. M. et al. Trends in *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-positive *K. pneumoniae* in US hospitals: report from the 2007–2009 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 76, n. 3, p. 356–360, 2013.

KANG, C. I. et al. Community-acquired versus nosocomial *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: clinical features, treatment outcomes, and clinical implication of antimicrobial resistance. **Journal of Korean Medical Science**, v. 21, n. 5, p. 816, 2006.

KAWAI, T. Hypermucoviscosity: an extremely sticky phenotype of *Klebsiella pneumoniae* associated with emerging destructive tissue abscess syndrome. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 42, n. 10, p. 1359–61, 2006.

KAYE, K. S.; POGUE, J. M. Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: epidemiology and management. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 35, n. 10, p. 949–962, 2015.

KAZI, M. et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae at a tertiary care laboratory in Mumbai. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the**

European Society of Clinical Microbiology, v. 34, n. 3, p. 467–72, 2015.

KAZI, M.; SHETTY, A.; RODRIGUES, C. The carbapenemase menace: do dual mechanisms code for more resistance? **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 36, n. 01, p. 116–117, 2015.

KDIGO. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney Int Suppl**, v. 3, n. 5, 2013.

KHAKABIMAMAGHANI, S. et al. GelClust: A software tool for gel electrophoresis images analysis and dendrogram generation. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 111, n. 2, p. 512–518, 2013.

KITCHEL, B. et al. Genetic factors associated with elevated carbapenem resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 10, p. 4201–4207, 2010.

KNOTHE, H. et al. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. **Infection**, v. 11, n. 6, p. 315–7, 1983.

KO, W.-C. et al. Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. **Emerging infectious diseases**, v. 8, n. 2, p. 160–6, 2002.

KOFTERIDIS, D. P. et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization: a case–case-control study. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 20, n. 5, p. 293–297, 2014.

KOHLER, P. P. et al. Carbapenem resistance, initial antibiotic therapy, and mortality in *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: a systematic review and meta-analysis. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 38, n. 11, p. 1319–1328, 2017.

KOLLEF, M. H. et al. Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culture-positive pneumonia. **Chest**, v. 128, n. 6, p. 3854–62, 2005.

KOOPMANS, M. et al. Improvement in functional abilities at ICU discharge is feasible without prolongation of the length of stay ICU. **Intensive care medicine**, v. 43, n. 2, p. 273–274, 2017.

KUMAR, A. et al. Colistin resistance due to insertional inactivation of the *mgrB* in *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin: First report from India. **Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia**, v. 31, n. 5, p. 406–410, 2018.

LASCOLS, C. et al. Surveillance and molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* isolates that produce carbapenemases: first report of OXA-48-like enzymes in North America. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 130–6, 2013.

LAUPLAND, K. B.; CHURCH, D. L. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 647–64, 2014.

LEE, C.-R. et al. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 895, 2016.

LEE, I. R. et al. Differential host susceptibility and bacterial virulence factors driving Klebsiella liver abscess in an ethnically diverse population. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 29316, 2016.

LI, Y. et al. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infections among ICU admission patients in central China: prevalence and prediction model. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–10, 2019.

LIN, Y.-T. et al. Bacteremic community-acquired pneumonia due to *Klebsiella pneumoniae*: clinical and microbiological characteristics in Taiwan, 2001-2008. **BMC infectious diseases**, v. 10, n. 1, p. 307, 2010.

LIN, Y.-T. et al. Seroepidemiology of *Klebsiella pneumoniae* colonizing the intestinal tract of healthy chinese and overseas chinese adults in Asian countries. **BMC Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 13, 2012.

LIN, Y.-T. et al. Community-onset *Klebsiella pneumoniae* pneumonia in Taiwan: clinical features of the disease and associated microbiological characteristics of isolates from pneumonia and nasopharynx. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 122, 2015.

LIU, Y.-Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 16, n. 2, p. 161–8, 2016.

LOGAN, L. K.; WEINSTEIN, R. A. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 215, n. suppl_1, p. S28–S36, 2017.

MAGIORAKOS, A.-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.

MARGATE, E. et al. KPC-producing *Serratia marcescens* in a home-care patient from Recife, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 57, n. 4, p. 359–360, 2015.

MCCABE, R.; LAMBERT, L.; FRAZEE, B. Invasive *Klebsiella pneumoniae* infections, California, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 9, p. 1490–1491, 2010.

MCNAMARA, J. F. et al. Long-term morbidity and mortality following bloodstream infection: a systematic literature review. **Journal of Infection**, v. 77, n. 1, p. 1–8, 2018.

MEATHERALL, B. L. et al. Incidence, risk factors, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. **The American Journal of Medicine**, v. 122, n. 9, p. 866–873, 2009.

MICOZZI, A. et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in high-risk

haematological patients: factors favouring spread, risk factors and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias. **BMC infectious diseases**, v. 17, n. 1, p. 203, 2017.

MILLS, J. P. et al. The epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization and infection among long-term acute care hospital residents. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 37, n. 1, p. 55–60, 2016.

MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333–334, 2009.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *In*: **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens, Fifth Edition**. American Society of Microbiology, p. 481–511, 2016.

MUNOZ-PRICE, L. S. et al*.* Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 9, p. 785–796, 2013.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE SYSTEM. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. **American journal of infection control**, v. 32, n. 8, p. 470–85, 2004.

NICOLETTI, A. G. et al*.* Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 9, p. 5159–64, 2015.

NOLTE, O. Antimicrobial resistance in the 21st century: a multifaceted challenge. **Protein and peptide letters**, v. 21, n. 4, p. 330–5, 2014.

NORDMANN, P.; DORTET, L.; POIREL, L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! **Trends in Molecular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 263–272, 2012.

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

PAGANO, L. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and hematologic malignancies. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 7, p. 1235–1236, 2014.

PAN, H. et al. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* : microbiological characteristics and risk factors. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 2, p. 287–296, 2019.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, M. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in critically ill patients: risk factors and predictors of mortality. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 36, n. 7, p. 1125–1131, 2017.

PAPP-WALLACE, K. M. et al. Carbapenems: Past, Present, and Future. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 11, p. 4943–4960, 2011.

PARAMYTHIOTOU, E.; ROUTSI, C. Association between infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria and mortality in critically ill patients. **World Journal of Critical Care Medicine**, v. 5, n. 2, p. 111, 2016.

PATEL, D. M.; RIEDEL, D. J. Fever in immunocompromised hosts. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 31, n. 4, p. 1059–1071, 2013.

PAVEZ, M.; MAMIZUKA, E. M.; LINCOPAN, N. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 6, p. 2702, 2009.

PELEG, A. Y.; HOOPER, D. C. Hospital-acquired infections due to Gram-negative bacteria. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 19, p. 1804–1813, 2010.

PEREIRA, P. S. et al. Clonal dissemination of OXA-370-producing *Klebsiella pneumoniae* in Rio de Janeiro, Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 8, p. 4453–4456, 2015.

PODSCHUN, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 4, p. 589–603, 1998.

QUAN, H. et al. Updating and validating the Charlson comorbidity index and score for risk adjustment in hospital discharge abstracts using data from 6 countries. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, n. 6, p. 676–682, 2011.

RAHIMIAN, J. et al. Pyogenic liver abscess: recent trends in etiology and mortality. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 39, n. 11, p. 1654–9, 2004.

RETAMAR, P. et al. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: A propensity score-based analysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 1, p. 472–478, 2012.

RICE, L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. **The Journal of infectious diseases**, v. 197, n. 8, p. 1079–81, 2008.

ROCHA, I. V. et al. Ciprofloxacin-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* ST410 strain carrying the *mcr-1* gene associated with bloodstream infection. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 5, p. 655–656, 2017.

RODRIGUES, A. C. S. et al. Non-clonal occurrence of *pmrB* mutations associated with polymyxin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, n. 0, p. e180555, 2019.

ROJO, V. et al. Risk factors and clinical evolution of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections in a university hospital in Spain. Case-control study. **Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia**, v. 31, n. 5, p. 427–434, 2018.

ROSSOLINI, G. M.; DOCQUIER, J.-D. New β-lactamases: a paradigm for the rapid response of bacterial evolution in the clinical setting. **Future Microbiology**, v. 1, n. 3,

p. 295–308, 2006.

RUSSO, T. A. et al. Hypervirulent *K. pneumoniae* secretes more and more active iron-acquisition molecules than “classical” *K. pneumoniae* thereby enhancing its virulence. **PloS one**, v. 6, n. 10, p. e26734, 2011.

RUSSO, T. A.; MARR, C. M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 3, 2019.

SABINO, S. *et al.* A cohort study of the impact of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections on mortality of patients presenting with sepsis. **mSphere**, v. 4, n. 2, 2019.

SAMPAIO, J. L. M.; GALES, A. C. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on β-lactams and polymyxins. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 47 Suppl 1, p. 31–37, 2016.

SANTOS, W. M. DOS; SECOLI, S. R. Economic burden of inpatients infected with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. **Einstein (São Paulo)**, v. 17, n. 4, p. eGS4444, 2019.

SCAVUZZI, A. M. L. et al. Emergence of bla_{NDM-1} associated with the *aac(6')-Ib-cr*, *acrB*, *cps*, and *mrkD* genes in a clinical isolate of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* from Recife-PE, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, n. 0, p. e20180352, 2019.

SEKI, L. M. et al. Molecular epidemiology of KPC-2- producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Brazil: the predominance of sequence type 437. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 2, p. 274–277, 2011.

SHANKAR-SINHA, S. et al. The *Klebsiella pneumoniae* O antigen contributes to bacteremia and lethality during murine pneumonia. **Infection and immunity**, v. 72, n. 3, p. 1423–30, 2004.

SHEU, C.-C. et al. Infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: an update on therapeutic options. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 80, 2019.

SHON, A. S.; BAJWA, R. P. S.; RUSSO, T. A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 107–118, 2013.

SPINELLI, M. **Filósofos pré-socráticos:** primeiros mestres da filosofia e da ciência grega. 2. ed. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. p. 167–271.

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

TAMMA, P. D. et al. Comparing the outcomes of patients with carbapenemase-producing and non-carbapenemase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 3, p. 257–264, 2017.

TASCINI, C. et al. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* rectal colonization is a risk

factor for mortality in patients with diabetic foot infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 8, p. 790.e1-790.e3, 2015.

TOLENTINO, F. M. et al. Endemicity of the High-Risk Clone *Klebsiella pneumoniae* ST340 Coproducing QnrB, CTX-M-15, and KPC-2 in a Brazilian Hospital. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 4, p. 528–537, 2019.

TRECARICHI, E. M.; TUMBARELLO, M. Therapeutic options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. **Virulence**, v. 8, n. 4, p. 470–484, 2017.

TSAY, R.-W. et al. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection: risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection. **Archives of internal medicine**, v. 162, n. 9, p. 1021–7, 2002.

TUON, F. F. et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 416–419, 2012.

TUON, F. F.; ROCHA, J. L.; FORMIGONI-PINTO, M. R. Pharmacological aspects and spectrum of action of ceftazidime–avibactam: a systematic review. **Infection**, v. 46, n. 2, p. 165–181, 2018.

TZOUVELEKIS, L. S. et al. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 9, p. 862–872, 2014.

XU, L.; SUN, X.; MA, X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 18, 2017.

WANG, M. et al. Analysis of the 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer region in *Klebsiella* species. **Journal of clinical microbiology**, v. 46, n. 11, p. 3555–63, 2008.

WANG, Z. et al. Risk Factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and mortality of *Klebsiella pneumoniae* infection. **Chinese Medical Journal**, v. 131, n. 1, p. 56, 2018.

WEINSTEIN, R. A.; GAYNES, R.; EDWARDS, J. R. Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 6, p. 848–854, 2005.

WISPLINGHOFF, H. et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 39, n. 3, p. 309–17, 2004.

YIGIT, H. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1151–1161, 2001.

YOO, J.-H. The infinity war: how to cope with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **Journal of Korean medical science**, v. 33, n. 40, p. e255, 2018.

YU, V. L. et al. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *K. pneumoniae* bloodstream infections. **Emerging infectious diseases**, v. 13, n. 7, p. 986–93, 2007.

YU, W.-L. et al. Association between *rmpA* and *magA* genes and clinical syndromes caused by *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 42, n. 10, p. 1351–8, 2006.

ZACARKIM, V.M.; SCUSSIATO, L. A. Cuidados com sondas, drenos e acessos vasculares: uma educação continuada para a equipe de enfermagem. **Anais do EVINCI - UniBrasil**, v. 2, 2016.

ZARKOTOU, O. et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 12, p. 1798–1803, 2011.

ZHANG, J. et al. Housefly (*Musca domestica*) and Blow Fly (*Protophormia terraenovae*) as vectors of bacteria carrying colistin resistance genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 1, p. e01736-17, 2018.

ZHANG, Y. et al. Contribution of -lactamases and porin proteins OmpK35 and OmpK36 to carbapenem resistance in clinical isolates of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 1214–1217, 2014.

ZHENG, X. et al. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 102, . 2017.

ZILBERBERG, M. D. et al. Carbapenem resistance, inappropriate empiric treatment and outcomes among patients hospitalized with Enterobacteriaceae urinary tract infection, pneumonia and sepsis. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 279, 2017.

APÊNDICE A – VERSÃO DO ARTIGO EM INGLÊS

O artigo será submetido à revista *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

Survival analysis, clinical aspects and microbial resistance in *Klebsiella pneumoniae* bacteremia

Danylo C. C. Palmeira [a,b,*] , Igor V. Rocha[c] , Danilo E. Xavier[c], Claudia F. L. Vidal[b], Heloisa R. L. Melo[a,d]

a Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.
b Hospital das Clínicas, Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.
c Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Instituto Aggeu Magalhães, Recife, PE, Brazil.
d Centro de Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.
* Corresponding author:
Comissão de Controle de Infecção Hospitalar / Hospital das Clínicas - UFPE
Av. Prof. Moraes Rego, 1235. Cidade Universitária. Recife / PE. CEP: 50670-901.
Tel.: +5581-2126-3503. E-mail: dccpalm@gmail.com

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae bacteremia has been associated with increasing morbidity and mortality. A cross-sectional study was conducted at a tertiary hospital to evaluate the epidemiological, clinical, survival and microbial resistance aspects of these infections. Between January 2016 and May 2017, out of 28 isolates identified by mass spectrometry, 10 (35.7%) presented carbapenem resistance (CRKP). The genetic determinant by polymerase chain reaction (PCR) was bla_{KPC-2}. CRKP isolates were associated with hematologic malignancies (p=0.041), chronic ulcers (p=0.011), hemodialysis (p=0.011), intensive care unit (ICU) stay (p<0.0001), mechanical ventilation (p=0.041) and antimicrobial exposure (p<0.05): meropenem, polymyxin, amikacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, glycopeptides and antifungals. Amikacin and polymyxin demonstrated resistance below 10.0%. No isolates were resistant to ceftazidime-avibactam. In-hospital mortality was 35.7%. Comparative analysis of survival according to carbapenem resistance and adequate antibiotic therapy was not statistically significant. Monitoring of local microbial resistance and identification of patients at risk are necessary for the adequacy of empirical antibiotic therapy.

Key-words: *Klebsiella pneumoniae*. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. Bacteremia. Drug Resistance, Microbial. Survival Analysis.

1. Introduction

In 2017, the World Health Organization (WHO) classified Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) as a “critical priority” on the list of bacteria that pose a risk to humans and a serious public health problem (Tacconelli et al., 2018). The development of new antimicrobials does not follow the epidemiological expansion of these strains.

Bloodstream infections are the leading infectious cause of death in the United States and Europe with two million episodes and 250,000 deaths annually (Goto and Al-Hasan, 2013). In Brazil, *Klebsiella pneumoniae* constitutes 19% of the etiologic agents in central venous catheter-associated primary bloodstream infections (CVC-BSI) in adults in intensive care units (ICU), and, with coagulase-negative *Staphylococcus*, are the most prevalent agents in these infections. Around 40% of those *K. pneumoniae* isolates are resistant to third and fourth generation cephalosporins and carbapenems (ANVISA, 2019). The northeast of Brazil comprises the second largest population of the country (IBGE, 2019), and, due to limited resources, there is little available data on the subject.

The drug cost for carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (CRKP) infections has been estimated at US$ 4100.00 (Santos and Secoli, 2019). Microbial resistance and potentially lethal infections have increased the number of healthcare-related deaths. In this direction, mortality in CRKP isolate infections appears to be higher than in sensitive isolates (CSKP) (Hussein et al., 2013).

Due to the importance of this infection within the Brazilian scenario, we have designed this study to describe the epidemiological and clinical aspects, sensitivity profiles and molecular mechanisms of microbial resistance in *K. pneumoniae* bacteremia in a tertiary hospital in North-eastern Brazil.

2. Material and methods

2.1 Study design and sample

A retrospective, cross-sectional study was conducted at the Hospital das Clínicas / Universidade Federal de Pernambuco in Recife, Brazil. We included *K. pneumoniae* isolates in blood cultures from patients in any age group and from both sexes. We considered just one bacterial isolate per patient.

2.2 Data collection and defining variables

The following variables were collected from medical records: sex; age; inpatient unit (ward or ICU); comorbidities (neoplasms, kidney failure and/or chronic ulcers); the Charlson comorbidity index (CCI); risk factors for microbial resistance in the last 90 days prior to blood culture (hospitalization, ICU and/or antibiotic use); invasive devices at the time of blood culture or removed within 24 hours (CVC, mechanical ventilator or indwelling urinary bladder catheter); and surgical procedures.

Bacteremia was classified as primary BSI or secondary to primary infection (abdominal, urinary tract, pneumonia, or surgical site) (CDC, 2019). We assessed the time (in days) between admission and bacteremia; bacteremia and death; and length of in-hospital stay.

We considered antimicrobial regimens with at least one sensitive antibiotic on the antibiogram as appropriate. Outcome was described by survival rates, mortality on the 14^{th}, 30^{th} and 60^{th} days. For in-hospital mortality we included all deaths that occurred during hospitalization. Deaths due to severe sepsis and/or multiple organ dysfunction until seven days after blood culture, excluding other causes, were attributed to *K. pneumoniae* infection.

2.3 Microbiological characterization of the etiological agent

K. pneumoniae isolates were reprocessed by MALDI-TOF mass spectrometry (Carbonnelle et al., 2011) and by the MALDI Biotyper system version 2.0 (Bruker Daltonics). Antimicrobial susceptibility testing (AST) was performed using broth microdilution according to the recommendations of the Clinical Laboratory Standard Institute, document M07-A10 (CLSI, 2015). The AST for ceftazidime-

avibactam was performed by ETEST (CZA 0.016-256µg/mL - Biomérieux). We used the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) interpretation criteria (2018) for polymyxin and the CLSI criteria (2018) for the others antimicrobials. As control we used the *Escherichia coli* ATCC® 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 strains. We grouped isolates with intermediate sensitivity and resistance in the analyzes.

Carbapenemases were detected by CarbaNP Enterobacteriaceae and metallo-β-lactamases by ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) inhibition (Nordmann, Poirel and Dortet, 2012). Carbapenem resistance (bla_{KPC} and bla_{BKC}) and polymyxin (*mcr-1*) genes were detected by polymerase chain reaction (PCR) (Nicoletti et al., 2015; Zhang et al., 2018). Clonal diversity was determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). The patterns were analyzed with the method by Tenover et al. (1995) and GelClust software (Khakabimamaghani et al., 2013). The hypermucoviscosity phenotype was observed with the “string test” (Russo et al., 2011).

2.4 Statistical analysis

Analyzes were performed using SPSS Statistics 25 (IBM Corporation, Amonk, NY, USA) and Stata Statistical 14 (StataCorp LP, College Station, TX). Medians and frequencies were compared by the Fisher's exact test, the Mann-Whitney test or chi-square test. The Kaplan-Meier method and log-rank were used for the survival analysis. The p-value ≤0.05 was considered statistically significant.

2.5 Ethical aspects

This study received authorization from the Research Ethics Committee of the abovementioned hospital (number: 3.040.607).

3 Results

Between January 2016 and May 2017, of the 67 isolates of *K. pneumoniae*, 31 were obtained from blood cultures. After excluding three duplicate samples, 28 isolates were included in the study. Only 5 (17.9%) blood cultures came from ICU, and 23 (82.1%) from wards. Twenty (71.4%) participants were males and the median age was 52.5 (33-67) years. Amongst the comorbidities, we highlight neoplasms (15;

53.6%) and chronic kidney failure (14; 50.0%). The mean CCI was 5.7 (±2.7). Most patients had been hospitalized within the previous three months (23; 82.1%) and had previous exposure to antimicrobials (21; 75.0%).

The most frequent invasive device was CVC in 21 (75.0%) patients, followed by indwelling bladder catheter (7; 25.0%) and mechanical ventilation (5; 17.9%). All infections were healthcare-associated (HAI), the most common being CVC-BSI (21; 75.0%). The most prescribed antibiotics were meropenem (42.6%) and piperacillin-tazobactam (32.1%). Eleven (39.3%) patients did not receive adequate antibiotic therapy. In-hospital mortality was 35.7% (10). Six (21.4%) deaths were attributed to *K. pneumoniae* with a median age (29.5; 1.5-55) lower than the survivors (56; 42-67) (p=0.019). Higher mortality was associated with ICU admission (p=0.050) and elevated CCI (p=0.036). We did not identify an association between mortality and inadequate antibiotic therapy.

3.1 Risk Factors for Carbapenem Resistance

Ten (35.7%) isolates were classified as CRKP. Carbapenem resistance was associated with hematologic malignancies, chronic ulcers, renal replacement therapy, ICU stay and mechanical ventilation ($p<0.05$). Infections with CRKP isolates presented CCI two points higher than CSKP isolates (7.0±2.5). We observed a greater tendency to death in the CRKP group with a mortality rate of 50.0% (5/10), but with no statistical difference. Previous use of meropenem, polymyxin, amikacin, sulfamethoxazole-trimethoprim, glycopeptides and antifungals was associated with resistance (Table 1).

3.2 Sensitivity profile and mechanisms of microbial resistance

We identified a high resistance to ceftriaxone and ceftazidime (20; 71.4%); piperacillin-tazobactam and cefepime (18; 64.3%); ciprofloxacin (16; 57.1%). With the exception of cephalosporins and piperacillin-tazobactam, there was no association between CRKP and resistance to other antimicrobials. Amikacin, ceftazidime-avibactam and polymyxin B presented susceptibility greater than 90.0%. No isolates were resistant to ceftazidime-avibactam. Only 13 (46.4%) isolates were tested for tigecycline and none were resistant. There was a noticeable divergence between aminoglycosides, with 46.4% susceptibility to gentamicin. Two isolates presented resistance to polymyxin B (Table 2).

In the ten CRKP isolates, we detected carbapenemases. The resistance gene identified in all CRKP isolates was *bla*$_{KPC-2}$. No metallo-β-lactamases were observed in the sample. We did not identify the *bla*$_{BKC}$ or *mcr-1* genes. We obtained six patterns by the PFGE. Pattern C was the most prevalent, and was observed in 7 (25.0%) (Figure 1). No clonal patterns were associated with mortality. The “string test” was positive in 7 (25.0%) isolates. The hypermucoviscosity phenotype was not associated with microbial resistance or mortality. However, it was identified in four clusters and associated with clonal dispersion (p=0.010).

3.3 Survival analysis

The survival analysis demonstrated a mortality rate of 6.5 deaths/1000 patient-days (95% CI: 3.5-12.1). The median survival time was 116 days and follow-up was 38 days (10-135). Considering the first 28 days, the median survival time decreases to 21 days (1-28) and the mortality rate increases to 13.2 deaths/1000 patient-days (95% CI: 6.3-27.7). The probability of death in the first three days was 7.1% and in the first eight days 17.9% (Figure 2). The comparative analysis of survival curves according to carbapenem resistance, hypermucoviscosity phenotype, and adequate antibiotic therapy demonstrated no statistically significant differences. We observed a higher risk of death in participants with a score higher than five in the CCI, but also not significant (HR = 1.98; 95%CI: 0.33-11.9; log-rank: 0.444) (Figure 3).

4. Discussion

K. pneumoniae has intrigued the scientific community due to its impressive ability to acquire new genetic elements and to adapt. Over the past ten years, there has been a noticeable increase in the number of CRKP isolate infections (Logan and Weinstein, 2017). The rapid spread of microbial resistance mechanisms further limits therapeutic options (Kaye and Pogue, 2015). A male predominance has been observed in *K. pneumoniae* infections. This gender divergence may be related to genetic or lifestyle physiological differences (Ang and Sun, 2018). Further studies are needed to clarify this hypothesis.

The increase in *K. pneumoniae* infections in cancer patients has been reported in several countries worldwide. In Canada, cancer was a risk factor for *K.*

pneumoniae bloodstream infections, especially acute myeloid leukemia (Meatherall et al., 2009). This same neoplasm has been associated with bacteremia by CRKP isolates in Italy (Pagano et al. 2014; Micozzi et al. 2017). Half the participants in the present study presented with neoplasms, of which 17.9% were hematologic. However, lymphoma was the most commonly found.

K. pneumoniae carbapenemase (KPC) production has been described in several countries worldwide, whereby the main mechanism of carbapenem resistance is in *K. pneumoniae* (Jiao et al. 2015; Lee et al. 2016; Logan and Weinstein, 2017). All CRKP isolates from this research were KPC producers. Some studies report the bla_{KPC-2} gene as the only genetic determinant of enzymatic carbapenem resistance in Brazil (Tolentino et al.; 2019). One study conducted in the Brazilian Midwest with 97 CRKP isolates identified the bla_{KPC} gene in 93.3% (Rodrigues et al., 2019). However, there is a report in Recife (Brazil) of a negative CRKP isolate for the bla_{KPC} gene, carrying the bla_{NDM-1} gene (Scavuzzi et al.; 2019). The epidemiological expansion of other resistance genes makes surveillance of molecular resistance mechanisms essential.

CRKP isolates are more resistant to other antimicrobials than to CSKP isolates, since bla_{KPC} gene carriers contain resistance genes to different classes of antimicrobials (Wang et al. 2018; Durante-Mangoni, Andini and Zampino, 2019). In the present study, we detected the expected sensitivity profile for carbapenemases producing isolates with resistance to all cephalosporins and piperacillin-tazobactam. However, we identified no association of carbapenem resistance with other antimicrobials.

Polymyxin resistance in our isolates was not related to the *mcr-1* gene, corroborating a study of 15 polymyxin resistant *K. pneumoniae* isolates in Brazil, which also identified no variants of this gene (Rodrigues et al.; 2019). The main non-plasmid genetic determinants of polymyxin resistance in *K. pneumoniae* is the insertion inactivation mainly of the *mgrB* or *CrrAB* genes by up-regulation of the two-component PhoP/PhoQ or PmrA/PmrB regulatory systems respectively. These systems are kinases activated by changes in the ion concentrations of iron, magnesium and acid pH (Kumar et al., 2018). Evaluation of medical records provided no information regarding possible hydroelectrolytic disorders.

A *K. pneumoniae* isolate resistant to polymyxin was previously exposed to this antimicrobial. Suboptimal doses of polymyxin may trigger the growth of resistant bacterial subpopulations in a previously sensitive population, provided that the *K. pneumoniae* strain has mutations in the *mgrB* gene. This phenomenon is called heteroresistance (Jayol et al., 2015). The same isolate carries the bla_{KPC-2} gene. Plasmids carrying the bla_{KPC} gene may contain insertion sequences that alter the coding sequence of the *mgrB* gene, triggering polymyxin resistance (Antonelli et al., 2017). Research on the *mgrB* gene would substantiate such hypotheses.

The hypermucoviscosity phenotype is characterized by capsular polysaccharide overexpression and represents one of the main virulence factors in *K. pneumoniae*. This factor may be found in classic *K. pneumoniae*, associated with HAIs, and especially in hypervirulent isolates, related to severe community infections, such as metastatic liver abscesses and endophthalmites (Russo and Marr, 2019). Among the 7 (25.0%) hypermucoviscosity isolates in this study, there was only one CRKP (1/10; 10.0%) and no hypervirulent. One study identified 22.7% hypermucoviscosity phenotypes in 66 CRKP isolates (Pan et al., 2019).

The association of CRKP isolates with ICU stay, chronic ulcers, renal replacement therapy, and mechanical ventilation has been reported in other publications (Tuon et al., 2012; Kofteridis et al., 2014; Jiao et al., 2015; Wang et al., 2018; Li et al., 2019). These risk factors are not unique to *K. pneumoniae* infections and are reported in multidrug-resistant (MDR) bacterial infections (Li et al. 2019). ICU-assisted patients undergo invasive procedures. The use of endotracheal tubes causes lesions in the respiratory tract mucosa, makes sputum dry and viscous, and leads to failure of airway protection mechanisms, thereby favoring colonization by MDR bacteria and resulting in increased incidence density of HAIs (Ang and Sun, 2018; Wang et al., 2018). The use of broad-spectrum antibiotics selects MDR isolates, amongst which is CRKP (Koopmans et al., 2017). We observed no association between CRKP and bladder catheter, probably due to the exclusion of isolates in urine.

The association between CRKP isolate infections and a prior use of carbapenems, aminoglycosides, polymyxins, glycopeptides and antifungals is described in the literature (Jiao et al., 2015; Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017;

Wang et al., 2018; Li et al., 2019). Further studies are needed to understand these results. The use of polymyxin, amikacin and antifungals in therapeutic regimens usually results from previous exposure to multiple antimicrobial regimens, including carbapenems. Half the participants exposed to sulfamethoxazole-trimethoprim were using this antibiotic as prophylaxis for *Pneumocystis jiroveci*, an opportunistic agent during chemotherapy for hematologic malignancies (Cooley et al., 2014).

The spread of CRKP isolates has made the treatment of HAIs a major challenge. While combination therapy is generally used, the best strategy is still unknown. Therapeutic options include polymyxins, glycylcyclines, aminoglycosides, dual carbapenem therapy, and more recently, ceftazidime-avibactam (Bassetti et al., 2018). Our results have indicated amikacin, ceftazidime-avibactam and colistin as good empirical options for these infections, since less than 10% of the isolates were resistant. Antimicrobial resistance rates in CRKP isolates vary between countries.

In Greece, 24.5% (13/53) of resistance to colistin and only 3.8% (2/53) of gentamicin were reported (Zarkotou et al., 2011). Another study with 38 isolates, in Italy, demonstrated a resistance rate of 30.8% to gentamicin and 19.2% to colistin (Pagano et al., 2014). In both studies cited, gentamicin resistance rates were lower than those in the present study and no amikacin rates were mentioned. In south-eastern Brazil, 20.8% (10/48) of amikacin resistance, 10.5% (2/19) of polymyxin, 95.8% (46/48) of ciprofloxacin and 91.7% (44/48) of gentamicin were identified (Tolentino et al., 2019). Our isolates presented lower resistance values to ciprofloxacin (57.1%) and gentamicin (53.6%).

A study in Greece with 139 isolates reported data of deep concern. In addition to the expected high resistance to gentamicin (60.4%), 44.6% of the isolates were resistant to polymyxin and 28.1% to tigecycline (Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017). On the other hand, in China, tigecycline was identified as the best treatment option in 244 CRKP isolates, with high susceptibility (95.5%), followed by amikacin with only 31.1% susceptible isolates (Li et al., 2019). The susceptibility rates for piperacillin-tazobactam (55.9%) were better than those observed in the present study (35.7%). We identified no resistance to ceftazidime-avibactam and tigecycline. In the US, from 2012 to 2015, resistance rates in 380 CRKP isolates were 0.8% for ceftazidime-avibactam, 1.1% for tigecycline and 19.9% for colistin. Only three

isolates were resistant to ceftazidime-avibactam. Besides the *bla*$_{KPC}$ gene, two carried metallo-β-lactamases genes (*bla*$_{NDM-1}$ or *bla*$_{VIM-4}$), and one isolate presented changes in porins (Castanheira et al., 2017).

Some studies have endorsed an association between previous ICU admission and death (Jiao et al., 2015; Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2017). Mortality in *K. pneumoniae* bacteremia varies in the literature from 20 to 60% (Pagano et al., 2014; Jiao et al., 2015; Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2016). The in-hospital mortality rate of this survey (35.7%) is within this range. Infections by CRKP isolates present intercontinental variations in mortality: North America (33.3%), South America (46.7%), Europe (50.1%) and Asia (44.8%) (Xu et al., 2017). We detected a similar rate to that expected for South America (50.0%). A lower median age lower in deaths attributed to *K. pneumoniae* was reflected in two deaths (2/6; 33.3%), in participants aged under two years.

The CCI was developed in 1984 as a tool used to assess mortality risk by assessing comorbidities and estimating the 10-year survival rate (Quan et al., 2011). According to our study, the mean CCI in deaths was higher than survivors, confirming the effectiveness of this index as a good predictor of mortality. This finding corroborates a previous study (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2017).

The results of this study resemble other research by concluding that carbapenem resistance is irrelevant for mortality in CRKP isolate infections (Kofteridis et al., 2014; Paramythiotou & Routsi, 2016; Zheng et al., 2017; Wang et al., 2018). The literature is still controversial regarding this association. Rectal colonization by *K. pneumoniae* KPC was the only independent risk factor for mortality in patients with a diabetic foot (Tascini et al., 2015), although CRKP isolate infections were not assessed in this population. Higher mortality was associated with ICU CRKP infections (Li et al., 2019). Several factors contribute to the severity of these infections: patients with multiple comorbidities; prolonged in-hospital stay; and inappropriate empirical therapy, since CRKP isolates are resistant to first-choice antimicrobial regimens, such as cephalosporins, penicillin, and carbapenems (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2016: Zheng et al., 2017; Cristina et al., 2018).

Appropriate antimicrobial therapy has been associated with lower mortality in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae bloodstream infections (Gutiérrez-

Gutiérrez et al., 2017; Martin et al., 2018; Sabino et al., 2019) and CRKP isolates (Zarkotou et al., 2011; Papadimitriou-Olivgeris et al., 2017; Micozzi et al., 2017). We observed no such association in the present research. The decline in immune-functional status due to multiple comorbidities is a determining factor in patient survival. The impact of this variable and its relationship with therapeutic assertiveness needs to be better assessed.

Amongst the limitations of the study, we highlight the sample size, the basis of a single center, the heterogeneity of the population with a wide age range and several inpatient units. We suggest research with improved delimitations of participants and age groups.

The bacteremia by *K. pneumoniae* isolates described are similar to those reported in the literature. Mortality was associated with the presence of multiple comorbidities. However, microbial resistance and adequate antibiotic therapy did not define the outcome. The insertion of new antibiotics in medical practice demands the monitoring of molecular resistance mechanisms and an improvement of antimicrobial stewardship programs. Empirical therapy should adapt to local sensitivity profiles. Therefore, we understand that preventing transmission is still the main route of protection against CRKP isolate infections. We endorse measures for hospital infection control such as hand hygiene, environmental surveillance and contact precautions for patients colonized by MDR pathogens.

Acknowledgments

Our thanks to the Hospital das Clínicas - UFPE/EBSERH for the availability of bacterial isolates and medical records; and to the Aggeu Magalhães Institute (FIOCRUZ / PE) for carrying out the bacteriological analyzes.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

Ang H, Sun X. Risk factors for multidrug-resistant Gram-negative bacteria infection in intensive care units: A meta-analysis. Int J Nurs Pract. 2018;24(4):e12644.

Antonelli A, D'Andrea MM, Giani T, Rossolini GM. Plasmid-mediated or chromosomally mediated colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*? Lancet Infect Dis 2017;17(1):26–7.

ANVISA. Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde no 17: Avaliação dos indicadores nacionais das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e resistência microbiana do ano de 2017. . https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/boletim-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude, 2019 (accessed 11 August 2019).

Bassetti M, Giacobbe DR, Giamarellou H, Viscoli C, Daikos GL, Dimopoulos G, et al. Management of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. Clin Microbiol Infect 2018;24(2):133–44.

Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Beretti J-L, et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. Clin Biochem 2011;44(1):104–9.

Castanheira M, Mendes RE, Sader HS. Low frequency of ceftazidime-avibactam resistance among Enterobacteriaceae isolates carrying bla_{KPC} collected in U.S. hospitals from 2012 to 2015. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(3).

CDC C for DC and P. National Healthcare Safety Network (NHSN) patient safety component manual. https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/pcsmanual_current.pdf., 2019 (accessed 1 August 2019).

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. 2015.

Cooley L, Dendle C, Wolf J, Teh BW, Chen SC, Boutlis C, et al. Consensus guidelines for diagnosis, prophylaxis and management of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological and solid malignancies, 2014. Intern Med J 2014;44(12b):1350–63.

Cristina ML, Alicino C, Sartini M, Faccio V, Spagnolo AM, Bono VD, et al. Epidemiology, management, and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in hospitals within the same endemic metropolitan area. J Infect Public Health 2018;11(2):171–7.

Durante-Mangoni E, Andini R, Zampino R. Management of carbapenem resistant Enterobacteriaceae infections. Clin Microbiol Infect 2019.

Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. Clin Microbiol Infect 2013;19(6):501–9.

Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh P-R, Viale P, Paño-Pardo JR, et al. A predictive model of mortality in patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Mayo Clin Proc 2016;91(10):1362–71.

Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh P-R, Viale P, Paño-Pardo JR, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae

(INCREMENT): a retrospective cohort study. Lancet Infect Dis 2017;17(7):726–34.

Hussein K, Raz-Pasteur A, Finkelstein R, Neuberger A, Shachor-Meyouhas Y, Oren I, et al. Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital-acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. J Hosp Infect 2013;83(4):307–13.

IBGE. Indicadores sociais mínimos: aspectos demográficos. https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/população, 2019 (accessed 01 August 2019).

Jayol A, Nordmann P, Brink A, Poirel L. Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system. Antimicrob Agents Chemother 2015;59(5):2780–4.

Jiao Y, Qin Y, Liu J, Li Q, Dong Y, Shang Y, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. Pathog Glob Health 2015;109(2):68–74.

Kaye KS, Pogue JM. Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: epidemiology and management. Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther 2015;35(10):949–62.

Khakabimamaghani S, Najafi A, Ranjbar R, Raam M. GelClust: A software tool for gel electrophoresis images analysis and dendrogram generation. Comput Methods Programs Biomed 2013;111(2):512–8.

Kofteridis DP, Valachis A, Dimopoulou D, Maraki S, Christidou A, Mantadakis E, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization: A case–case-control study J Infect Chemother. 2014;20(5):293–7.

Koopmans M, Vermei L, van Wieren A, Bruins N, de Jager CM, Christiaan Boerma E. Improvement in functional abilities at ICU discharge is feasible without prolongation of the length of stay ICU. Intensive Care Med 2017;43(2):273–4.

Kumar A, Biswas L, Omgy N, Mohan K, Vinod V, Sajeev A, et al. Colistin resistance due to insertional inactivation of the *mgrB* in *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin: first report from India. Rev Esp Quimioter 2018;31(5):406–10.

Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. Front Microbiol 2016;7:895.

Li Y, Shen H, Zhu C, Yu Y. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections among ICU admission patients in central China: Prevalence and Prediction Model. Biomed Res Int 2019;2019:1–10.

Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. J Infect Dis 2017;215(suppl_1):S28–36.

Martin A, Fahrbach K, Zhao Q, Lodise T. Association between carbapenem resistance and mortality among adult, hospitalized patients with serious infections due to Enterobacteriaceae: results of a systematic literature review and meta-analysis. Open Forum Infect Dis 2018;5(7):ofy150.

Meatherall BL, Gregson D, Ross T, Pitout JDD, Laupland KB. Incidence, risk factors, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. Am J Med 2009;122(9):866–73.

Micozzi A, Gentile G, Minotti C, Cartoni C, Capria S, Ballarò D, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in high-risk haematological patients: factors favouring spread, risk factors and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias. BMC Infect Dis 2017;17(1):203.

Nicoletti AG, Marcondes MFM, Martins WMBS, Almeida LGP, Nicolás MF, Vasconcelos ATR, et al. Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2015;59(9):5159–64.

Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2012;18(9):1503–7.

Pagano L, Caira M, Trecarichi EM, Spanu T, Di Blasi R, Sica S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and hematologic malignancies. Emerg Infect Dis 2014;20(7):1235–6.

Pan H, Lou Y, Zeng L, Wang L, Zhang J, Yu W, et al. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics and risk factors. Microb Drug Resist 2019;25(2):287–96.

Papadimitriou-Olivgeris M, Fligou F, Bartzavali C, Zotou A, Spyropoulou A, Koutsileou K, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in critically ill patients: risk factors and predictors of mortality. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017;36(7):1125–31.

Paramythiotou E, Routsi C. Association between infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria and mortality in critically ill patients. World J Crit Care Med 2016;5(2):111.

Quan H, Li B, Couris CM, Fushimi K, Graham P, Hider P, et al. Updating and validating the Charlson comorbidity index and score for risk adjustment in hospital discharge abstracts using data from 6 countries. Am J Epidemiol 2011;173(6):676–82.

Rodrigues ACS, Santos IC de O, Campos CC, Rezende IN, Ferreira YM, Chaves CEV, et al. Non-clonal occurrence of *pmrB* mutations associated with polymyxin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2019;114(0):e180555.

Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Clin Microbiol Rev 2019;32(3).

Russo TA, Shon AS, Beanan JM, Olson R, MacDonald U, Pomakov AO, et al. Hypervirulent *K. pneumoniae* secretes more and more active iron-acquisition

molecules than “classical” K. pneumoniae thereby enhancing its virulence. Spellberg B, organizador. PLoS One 2011;6(10):e26734.

Sabino S, Soares S, Ramos F, Moretti M, Zavascki AP, Rigatto MH. A cohort study of the impact of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections on mortality of patients presenting with sepsis. Bradford PA, organizador. mSphere 2019;4(2).

Santos WM dos, Secoli SR. Economic burden of inpatients infected with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. Einstein (São Paulo).;17(4):eGS4444.

Scavuzzi AML, Firmo EF, Oliveira ÉM de, Lopes AC de S. Emergence of *bla*$_{NDM-1}$ associated with the *aac(6')-Ib-cr*, *acrB*, *cps,* and *mrkD* genes in a clinical isolate of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* from Recife-PE, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2019;52(0):e20180352.

Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. Lancet Infect Dis 2018;18(3):318–27.

Tascini C, Lipsky BA, Iacopi E, Ripoli A, Sbrana F, Coppelli A, et al. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* rectal colonization is a risk factor for mortality in patients with diabetic foot infections. Clin Microbiol Infect 2015;21(8):790.e1-790.e3.

Tenover FC, Arbeit RD, Goering R V, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33(9):2233–9.

Tolentino FM, Bueno MFC, Franscisco GR, Barcelos DD de P, Lobo SM, Tomaz FMMB, et al. Endemicity of the high-risk clone *Klebsiella pneumoniae* ST340 coproducing QnrB, CTX-M-15, and KPC-2 in a Brazilian Hospital. Microb Drug Resist 2019;25(4):528–37.

Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, Arend LN, Dias CH, Leite TM, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. Brazilian J Infect Dis 2012;16(5):416–9.

Wang Z, Qin R-R, Huang L, Sun L-Y. Risk Factors for Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and Mortality of *Klebsiella pneumoniae* Infection. Chin Med J (Engl). 2018;131(1):56.

Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2017;16(1):18.

Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. Clin Microbiol Infect 2011;17(12):1798–803.

Zhang J, Wang J, Chen L, Yassin AK, Kelly P, Butaye P, et al. Housefly (*Musca domestica*) and blow fly (*Protophormia terraenovae*) as vectors of bacteria

carrying colistin resistance genes. Dozois CM, organizador. Appl Environ Microbiol 2018;84(1):e01736-17.

Zheng X, Wang J, Xu W, Xu J, Hu J. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. Antimicrob Resist Infect Control 2017;6(1):102.

Table 1 - Clinical and demographic aspects of 28 *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in relation to sensitivity to carbapenems.

Variables	CSKP[a] 18 (64.3)	CRKP[b] 10 (35.7)	p-value
Male	14 (77.8)	6 (60.0)	0.400[c]
Age (years), median (P25-P75)	50.5 (31.8-66.2)	58.5 (33.2-73.8)	0.362[d]
Hospitalization Unit			
Ward	17 (94.4)	6 (60.0)	**0.041[c]**
Intensive Care Unit	1 (5.6)	4 (40.0)	
Comorbidities			
Neoplasms	9 (50.0)	6 (60.0)	0.705[c]
Solid tumors	7 (38.9)	2 (20.0)	0.098[c]
Hematologic neoplasms	1 (5.6)	4 (40.0)	**0.041[c]**
Renal Replacement Therapy	3 (16.7)	7 (70.0)	**0.011**[c]
Chronic ulcers	2 (11.1)	6 (60.0)	**0.011[c]**
Charlson Comorbidity Index (CCI)[d], mean±SD[e]	4.9 ± 2.6	7.0 ± 2.5	0.057[f]
Risk factors for microbial resistance (previous 90 days)			
Previous hospitalization	14 (77.8)	9 (90.0)	0.626[c]
Intensive care unit stay	3 (16.7)	9 (90.0)	**<0.0001[c]**
Use of antibiotics	11 (61.1)	10 (100.0)	0.125[c]
Ciprofloxacin	3 (16.7)	2 (20.0)	1.000[c]
Ceftriaxone	4 (22.2)	4 (40.0)	0.400[c]
Amikacin	1 (5.6)	5 (50.0)	**0.01**[c]
Sulfamethoxazole-trimethoprim	1 (5.6)	5 (50.0)	**0.023**[c]
Piperacillin-tazobactam	3 (16.7)	5 (50.0)	0.091[c]
Meropenem	1 (5.6)	9 (90.0)	**<0.0001**[c]
Polymyxin	1 (5.6)	4 (40.0)	**0.041**[c]
Glycopeptides[g]	2 (11.1)	7 (70.0)	**0.003**[c]
Antifungal[h]	1 (5.6)	7 (70.0)	**0.001**[c]
Invasive devices at the time of bacteremia			
Central venous catheter	11 (61.1)	10 (100.0)	0.057[c]
Indwelling bladder catheter	5 (27.8)	2 (20.0)	0.678[c]
Mechanical ventilator	1 (5.6)	4 (40.0)	**0.047[c]**
Surgical procedure	1 (5.6)	1 (10.0)	1.000[c]
Bacteremia Classification (CDC[i], 2019)	12 (66.7)	9 (90.0)	0.231[c]
Primary bloodstream infection	6 (33.3)	1 (10.0)	0.072[j]
Secondary abdominal infection	1 (5.6)	0 (0.0)	
Surgical Site Infection	0 (0.0)	1 (10.0)	
Urinary tract infection	4 (22.2)	0 (0.0)	
Ventilator-associated pneumonia	1 (5.6)	0 (0.0)	
Time between admission and bacteremia[d]	31.0 ± 40.2	42.1 ± 35.3	0.472[f]
Time between bacteremia and death[d]	13.2 ± 14.6	18.8 ± 21.0	0.638[f]
Total time of in-hospital stay[d] (in days, mean ± SD[e])	46.1 ± 39.1	71.2 ± 44.7	0.134[f]
Appropriate antibiotic therapy	13 (72.2)	4 (40.0)	0.114[c]
Hypermucoviscosity phenotype	6 (33.3)	1 (10.0)	0.364[c]
Clinical outcome			
Survivors	13 (72.2)	5 (50.0)	0.634[c]
In-hospital death	5 (27.8)	5 (50.0)	0.412[c]
Death on 14th day	3 (16.7)	3 (30.0)	0.634[c]
Death on 30th day	4 (22.2)	4 (40.0)	0.400[c]
Death on 60th day	5 (27.8)	5 (50.0)	0.412[c]
Death attributed to *K. pneumoniae*	3 (16.7)	3 (30.0)	1.000[c]

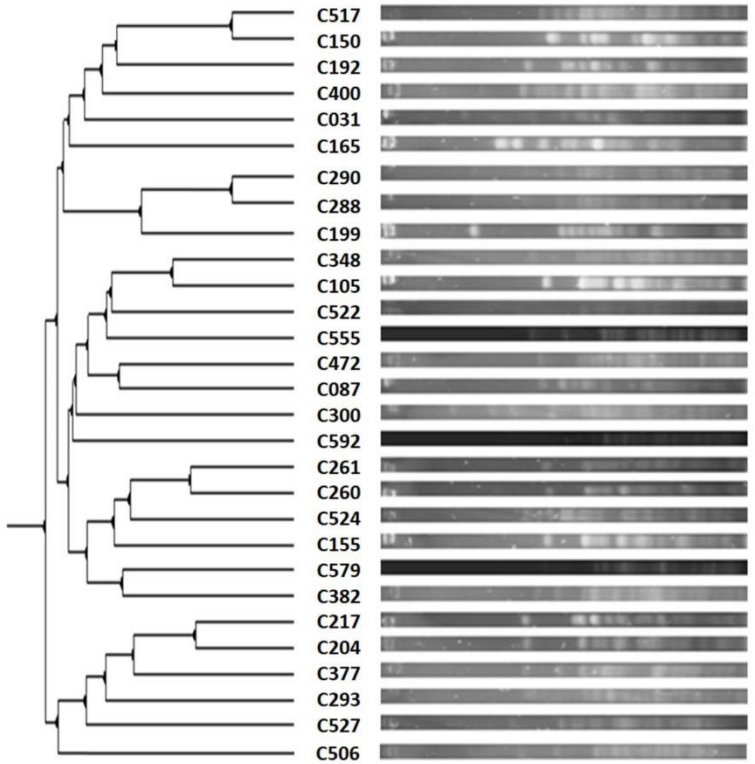
[a]CSKP = carbapenem-sensitive *K. pneumoniae*. [b]CRKP = carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. [c]Fisher's Exact Test. [d]Normal distribution (Shapiro-Wilk Normality Test> 0.05). [e]SD = standard deviation. [f]Mann Whitney Test. [g]Vancomycin or teicoplanin. [h]Fluconazole, micafungin, anidulafungin or amphotericin B. [i]CDC: Centers for Disease Control and Prevention. [j]Chi-Square Test.

Table 2 - Microbial resistance in 28 clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia.

Antimicrobial	Resistant isolates[a] n (%)	MIC[b] (µg/mL)	
		MIC_{50}	MIC_{90}
Ampicillin	26 (92.8)	16.00	32.00
Ampicillin-sulbactam	21 (75.0)	32.00	32.00
Ceftazidime	20 (71.4)	16.00	64.00
Ceftriaxone	20 (71.4)	64.00	64.00
Cefepime	18 (64.3)	2.00	64.00
Piperacillin-tazobactam	18 (64.3)	16.00	128.00
Ciprofloxacin	16 (57.1)	2.00	4.00
Gentamicin	15 (53.6)	1.00	16.00
Ertapenem	10 (35.7)	0.50	8.00
Imipenem	10 (35.7)	0.25	16.00
Meropenem	9 (32.1)	0.25	16.00
Polymyxin	2 (7.1)	0.50	4.00
Amikacin	1 (3.6)	2.00	16.00
Ceftazidime-avibactam[c]	0 (0.0)	0.06	0.50

[a]Isolates with intermediate sensitivity to the antimicrobial tested were considered resistant. [b]MIC = minimum inhibitory concentration. [c]The susceptibility test for ceftzadime-avibactam was performed by ETEST, the others by broth microdilution.

Figure 1 - Dendrogram of the distribution of 28 isolates of *Klebsiella pneumoniae* according to band patterns obtained by PFGE, hypermucoviscous phenotype, resistance genes and sensitivity profile.



	Site	Date	Gender	Age[a]	PFGE[b]	CarbaNP[c]	Hypermucus[d]	bla_{KPC}	bla_{BKC}	Antimicrobial susceptibility testing[e] - MIC[f] (µg/mL)									
										CIP	PMB	FEP	FOX	CRO	TZP	IPM	MEM	ETP	CZA
C517	Blood	Abr/17	Male	01	A	Negative	No	Negative	Negative	2	ND	<1	<1	<1	16	<0.25	<0.25	ND	0.125
C150	Blood	Jun/16	Female	44	A	Negative	No	Negative	Negative	S	ND	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C192	Blood	Set/16	Male	64	A	Negative	No	Negative	Negative	R	S	ND	ND	ND	I	ND	ND	ND	0.19
C400	Blood	Fev/17	Male	37	A	Positive	No	Positive	Negative	>4	<0.5	>128	>64	>64	>128	>16	>16	ND	0.5
C031	Blood	Jan/16	Male	19	A	Negative	Yes	Negative	Negative	0.5	>4	<1	>16	<1	<4	<1	<1	0.25	0.19
C165	Blood	Jun/16	Male	67	A	Positive	No	Positive	Negative	R	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.0125
C290	Blood	Nov/16	Male	49	B	Negative	Yes	Negative	Negative	>4	<0.5	2	ND	>64	16	ND	<0.25	<0.5	0.19
C288	Blood	Nov/16	Male	52	B	Negative	Yes	Negative	Negative	>4	<0.5	2	ND	>64	16	<1	<0.25	ND	0.19
C199	Blood	Set/16	Male	67	B	Negative	No	Negative	Negative	1	0.5	<1	<4	<1	8	<1	0.25	0.5	0.125
C348	Blood	Dez/16	Female	64	C	Positive	No	Positive	Negative	>4	<0.5	>64	>64	>64	>128	1	16	ND	0.19
C105	Blood	Mar/16	Female	49	C	Positive	Yes	Positive	Negative	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C522	Blood	Mar/17	Female	53	C	Positive	No	Positive	Negative	0.5	<0.5	>64	16	>64	>128	>16	>16	ND	0.0125
C555	Blood	Mai/17	Male	84	C	Positive	No	Positive	Negative	2	2	>64	>64	>64	>128	>16	>16	ND	0.19
C472	Blood	Mar/17	Female	22	C	Positive	No	Positive	Negative	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.19
C087	Blood	Mar/16	Female	49	C	Negative	Yes	Negative	Negative	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C300	Blood	Nov/16	Male	66	C	Negative	No	Negative	Negative	<0.5	<0.5	<1	<4	<1	<4	<1	<0.25	ND	0.19
C592	Blood	ND	ND	ND	C	Negative	No	Negative	Negative	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C261	Blood	Out/16	Male	22	D	Positive	No	Positive	Negative	>4	<0.5	>64	ND	>64	>128	1	>16	ND	0.19
C260	Blood	Out/16	Male	73	D	Positive	No	Positive	Negative	1	>16	>64	ND	>64	>128	1	>16	ND	0.19
C524	Blood	Mar/17	Female	02	D	Negative	No	Negative	Negative	2	<0.5	<1	<4	<1	16	<0.25	<0.25	ND	0.125
C155	Blood	Jun/16	Male	76	D	Positive	No	Positive	Negative	S	S	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	0.19
C579	Blood	Mai/17	Male	82	D	Negative	No	Negative	Negative	<0.5	<0.5	<1	<4	<1	<4	<0.25	<0.25	<0.5	0.0125
C382	Blood	Jan/17	Male	31	D	Negative	No	Negative	Negative	R	ND	ND	ND	ND	R	ND	ND	ND	ND
C217	Blood	Out/16	Male	69	E	Negative	No	Negative	Negative	<0.5	ND	<1	ND	<1	<4	ND	<0.25	<0.5	0.19
C204	Blood	Set/16	Male	59	E	Negative	No	Negative	Negative	>4	<0.5	8	8	>64	>128	<1	0.25	<0.5	0.19
C377	Blood	Jan/17	Male	32	E	Negative	Yes	Negative	Negative	>4	<0.5	2	<4	>64	16	<1	<0.25	<0.5	0.094
C293	Blood	Nov/16	Male	ND	E	Negative	Yes	Negative	Negative	>4	<0.5	8	<4	>64	>128	<1	<0.25	ND	0.25
C527	Blood	Abr/17	Male	71	F	Negative	Yes	Negative	Negative	>4	<0.5	8	ND	>64	>128	<0.25	<0.25	ND	0.19
C506	Blood	Mar/17	Female	36	F	Negative	No	Negative	Negative	2	<0.5	<1	<4	<1	ND	<0.25	<0.25	<0.5	0.064

[a]Age in years. [b]PFGE: pulsed-field gel electrophoresis. [c]CarbaNP: CarbaNP Enterobacteriaceae test. [d]Hypermucus: hypermucoviscuos phenotype. [e]Antimicrobials: CIP: ciprofloxacin; PMB: polymyxin B; FEP: cefepime; FOX: cefoxitin; CRO: ceftriaxone; TZP: piperacillin-tazobactam; IPM: imipenem; MEM: meropenem; ETP: ertapenem; CZA: ceftazidime-avibactam. ND: not determined. [f]MIC: minimum inhibitory concentration.

Figure 2 - Survival curves of patients with *Klebsiella pneumoniae* bacteremia throughout the follow-up (A) and the first 28 days (B).

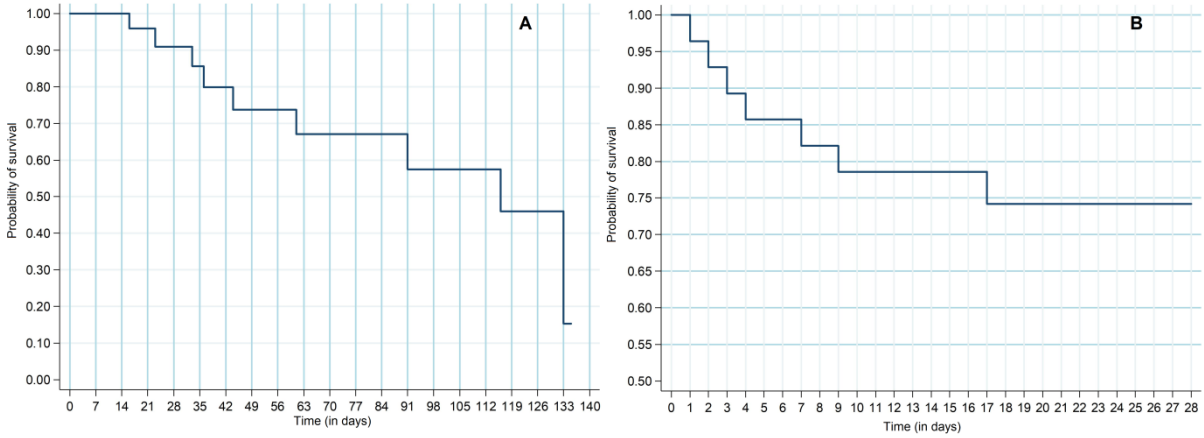
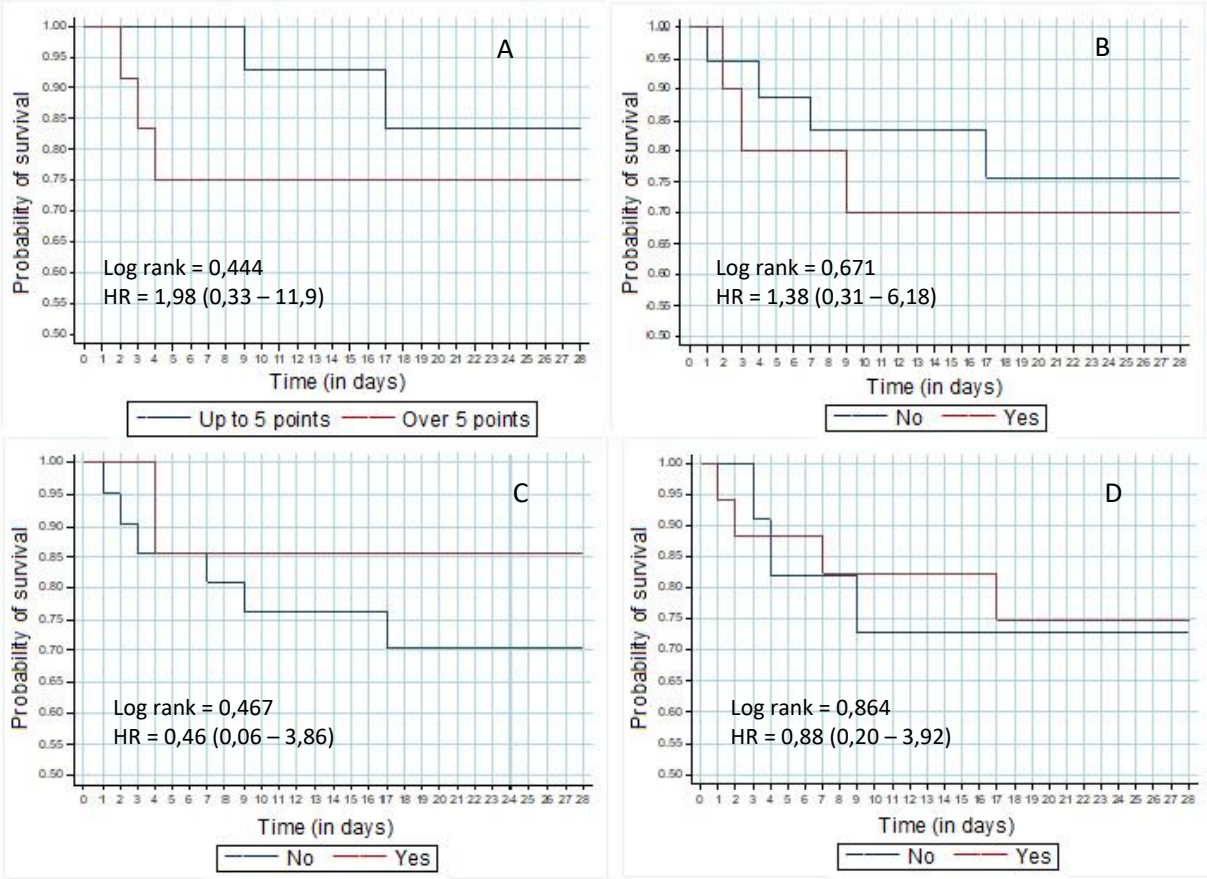


Figure 3 - 28-day survival curves of patients with *Klebsiella pneumoniae* bacteremia according to the Charlson comorbidity index (A), carbapenem resistance (B), hypermucoviscosity phenotype (C) and appropriate antibiotic therapy (D).



HR: hazard ratio.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFPE - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA POR Klebsiella pneumoniae ISOLADOS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE RECIFE/PE

Pesquisador: DANYLO CESAR CORREIA PALMEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 01209118.0.0000.8807

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE PERNAMBUCO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.040.607

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo observacional, descritivo, do tipo série de casos que busca descrever os aspectos clínicos e epidemiológicos, bem como o perfil de sensibilidade, mecanismos de resistência antimicrobiana e genótipos, das infecções de corrente sanguínea por K. pneumoniae isolados de pacientes de um hospital universitário.

O alto grau de resistência aos carbapenêmicos e a elevada letalidade em infecções de corrente sanguínea por K. pneumoniae, poderá ser melhor entendida pelo estudo dos aspectos clínico-epidemiológicos destas infecções e da disseminação de isolados produtores de novas carbapenemases e/ou perda de porinas, codificadas em genótipos.

O projeto é parte integrante da dissertação de mestrado do autor.

Objetivo da Pesquisa:

Descrever os aspectos clínicos e epidemiológicos, bem como o perfil de sensibilidade, mecanismos de resistência antimicrobiana e genótipos, das infecções de corrente sanguínea por K. pneumoniae isolados de pacientes de um hospital universitário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Devidamente pontuados no projeto (pág 63) e na Plataforma Brasil

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo tipo série de casos com amostra selecionada a partir dos resultados de hemoculturas positivas para Klebsiella pneumoniae realizado em prontuários para verificar aspectos clínicos e epidemiológicos dos indivíduos acometidos por infecção por esta bactéria, bem como o perfil de sensibilidade e mecanismos de resistência antimicrobiana e genótipos. É um subprojeto do projeto intitulado "Acervo Microbiológico para Implantação de Programa de Vigilância e Estudo da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos: Estudo genético dos Determinantes de Resistência Antimicrobiana entre Isolados Clínicos Bacterianos" com parecer aprovado pelo CEP CPqAM FIOCRUZ-PE sob o número 1.190.837.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Por se tratar de coleta de informações em prontuário e onde a identificação do indivíduo não será necessária, não será necessária a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Demais documentos pertinentes como cartas de anuência dos setores envolvidos devidamente apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo de valor científico elevado uma vez que será conhecido, pelo menos em parte, o perfil clínico-epidemiológico e de resistência da bactéria Klebsiella pneumoniae em um hospital universitário contribuindo assim, para minimizar os efeitos desse agravo.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/HC/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/HC/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1097539.pdf	08/11/2018 10:26:55		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMestrado.pdf	08/11/2018 10:26:20	DANYLO CESAR CORREIA PALMEIRA	Aceito
Outros	CARTARESPOSTA.docx	08/11/2018 10:19:30	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	CurriculoDanylo.pdf	07/11/2018 14:19:29	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	CurriculoHeloisa.pdf	07/11/2018 14:19:03	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	CurriculoClaudia.pdf	07/11/2018 14:18:40	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	CurriculoDanilo.pdf	07/11/2018 14:18:06	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	cartaapresentacao.pdf	16/10/2018 23:58:19	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	Vinculo.pdf	16/10/2018 23:57:53	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	Usodedados.pdf	16/10/2018 23:55:29	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	confidencialidade.pdf	16/10/2018 23:53:35	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Compromisso.pdf	16/10/2018 23:52:18	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	cartadeanuencia.pdf	16/10/2018 11:27:52	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	16/10/2018 11:27:23	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito
Outros	PARECER_CEP_Danilo.pdf	05/10/2018 00:23:05	DANYLO CESAR CORREIA	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RECIFE, 27 de Novembro de 2018

Assinado por:
José Ângelo Rizzo
(Coordenador(a))

ANEXO B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

PRONTUÁRIO:_____ Data: ____ /____ /____ Clínica:_____

Paciente: _____ DN:___ / ___ /____ Idade: _____

Sexo: ☐Masc ☐Fem Admissão: ___ / ___ /___ Alta:___ / ___ /___Óbito:☐Sim☐Não

Naturalidade: _____ Residência:_____ Cor:_____

Estado civil: ☐Solteiro ☐Casado Nível de escolaridade:_____

COMORBIDADES / HÁBITOS DE VIDA		
☐ HAS	☐ Obesidade	☐ Úlceras crônicas
☐ DPOC	☐ Desnutrição	☐ Doença hepática crônica
☐ Tabagismo Atual: ☐Sim ☐Não	☐ Insufic. Renal Crônica TRS: ☐Sim ☐Não	☐ Diabetes Insulina: ☐ Sim☐ Não
☐ Etilismo	☐ Doenças neurológicas:_____	
☐ PVHIV / CD4:	☐ Neoplasia:_____	

Fatores de risco (<90d):☐ Internamento ☐UTI ☐ Cirurgia ☐ ATB_____

Diagnóstico admissão:_____ Início sintomas: ____ /____ /____

Infecção: ☐Comunitária ☐ Hospitalar Topografia:_____

Bacteremia: ☐Primária ☐Secundária ☐Óbito por *K. pneumoniae*

Dispositivos: ☐SVD ☐VM ☐CVC ☐ISC / Sitio:_____ Data:____ /____ /____

Perfil: ☐Multi-S ☐AmpC ☐ESBL ☐CARB-R ☐PMX-R

ATB	S	I	R	NT	MIC
Ampic					
Ampsu					
Amxcl					
Cefal					
Cefur					
Cefox					
Ceftr					
ceftz					
Cefep					

ATB	S	I	R	NT	MIC
piptaz					
ertap					
merop					
imipe					
tigec					
pmx					
aztre					
smxtm					

ATB	S	I	R	NT	MIC
amica					
genta					
tobra					
nalid					
norfl					
cipro					
levof					
nitro					

ATBs prévios: _____

ATB empírico / guiado: _____

Descalonamento: _____