



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Médicas – CCM  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical  
Departamento de Medicina Tropical

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**

**Infecção de corrente sanguínea em pacientes oncológicos com patógenos bacterianos e fúngicos multirresistentes, genes de resistência, mortalidade, tempo e custo hospitalar**

Recife,  
2022

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**

**Infecção de corrente sanguínea em pacientes oncológicos com patógenos bacterianos e fúngicos multirresistentes, genes de resistência, mortalidade, tempo e custo hospitalar**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical. Área de concentração: Medicina Tropical. Linha de pesquisa: Resistência/Virulência Bacteriana e Fúngica.

**Orientador:** Dr. Paulo Sérgio Ramos de Araújo

**Coorientador(a):** Dr<sup>a</sup> Vera Magalhães

Recife,  
2022

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

S676i Soares, Cynthia Regina Pedrosa  
Infecção de corrente sanguínea em pacientes oncológicos com patógenos bacterianos e fúngicos multirresistentes, genes de resistência, mortalidade, tempo e custo hospitalar/ Cynthia Regina Pedrosa Soares. – 2022.  
179 f.; il.

Orientador: Paulo Sérgio Ramos de Araújo.  
Coorientadora: Vera Magalhães da Silveira.  
Tese (doutorado ) – Universidade Federal de Pernambuco.  
Centro de Ciências Médicas. Programa de pós-graduação em Medicina Tropical. Recife, 2022.  
Inclui referências, apêndice e anexos.

1. Bacteriemia. 2. Genes MDR. 3. Fatores de risco. 4. Neoplasias  
I. Araújo, Paulo Sérgio Ramos de (orientador). II. Silveira, Vera Magalhães da (coorientadora). III. Título.

616.9792 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 - 243)



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Médicas – CCM  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical - PPGMT  
Departamento de Medicina Tropical

---

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**

**Infecção de corrente sanguínea em pacientes oncológicos com patógenos bacterianos e fúngicos multirresistentes, genes de resistência, mortalidade, tempo e custo hospitalar**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical. Área de concentração: Medicina Tropical. Linha de pesquisa: Resistência/Virulência Bacteriana e Fúngica.

Aprovada em 09/06/2022

Banca Examinadora

---

Dr. Paulo Sérgio Ramos de Araújo  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Dr<sup>a</sup>. Célia Maria Machado Barbosa de Castro  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Dr<sup>a</sup>. Virgínia Maria Barros de Lorena  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Dr<sup>a</sup>. Isabella Macário Ferro Cavalcanti  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Dr. Evônio de Barros Campelo Júnior  
Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradeço à Deus, por ser meu guia, meu redentor, por dar-me tranquilidade, sabedoria e forças para seguir em frente.

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais, meu irmão e minha tia que sempre me incentivam na minha vida profissional, nas minhas escolhas, me apoiando com todo carinho e amor.

Agradeço ao meu querido esposo Geyson, por sempre estar ao meu lado, sempre me apoiando e auxiliando nos momentos difíceis, de cansaço que foram muitos... pela compreensão, por seu auxílio na tese principalmente nas áreas em que tenho mais dificuldades como informática, por exemplo... Pelas suas palavras de encorajamento e de dedicação sempre, pelo seu amor, carinho, confiança e companheirismo.

Agradeço ao meu querido orientador Dr. Paulo Sérgio, que além de grande profissional, como médico, pesquisador, cientista, é um grande amigo. Valorizo muitíssimo a oportunidade de ter sido orientada por você, competente em tudo o que faz. Agradeço pela oportunidade, pelos ensinamentos, pelas discussões, pela caminhada, por conduzir com excelência esse projeto, e, sobretudo pela amizade que temos e grande admiração que tenho por você.

Agradeço à minha querida co-orientadora Dr<sup>a</sup>. Vera Magalhães pelo conhecimento compartilhado, pelo incentivo e pela sabedoria com a qual conduz suas aulas, sempre com muita humildade e paixão pelo que faz. Seu exemplo vai ficar na minha memória. Agradeço a oportunidade de trabalharmos juntas, pelos momentos de conselhos e aprendizados.

Agradeço aos colaboradores Dr<sup>a</sup> Nilma Leal e Dr. Danilo Xavier por suas excelentes contribuições e suporte no laboratório de Microbiologia do IAM. Pessoas das quais admiro muito e me espelho. Admiro muito o jeito meigo e educado sempre disposto a ajudar da Dr<sup>a</sup> Nilma. Sua simplicidade e dedicação são qualidades que quero carregar em minha bagagem. Além disso, não posso deixar de levar a perseverança e determinação do Dr. Danilo.

Agradeço à amiga Elza por sua ajuda, seus conselhos, suas risadas, seu exemplo de determinação que inspira qualquer um. Você é incrível!

Agradeço ao meu amigo Jorge por sua grande ajuda e por seu carisma e sua excelente dedicação em tudo que faz.

Agradeço a todos os colegas da turma de Pós-Graduação em Medicina Tropical pela amizade e companheirismo nessa jornada, por vários momentos de descontração, risadas e aprendizados.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco por todos os recursos, ferramentas e suporte científico empregado no desenvolvimento desse projeto.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Medicina Tropical da UFPE pelo apoio em todos esses anos. Ao secretário Walter Galdino e técnico Neemias por toda ajuda e atenção prestada.

Agradeço ao Hospital do Câncer de Pernambuco, referência em acolhimento, pelo apoio ao projeto e a nossa equipe, em especial á Maria Candida Nascimento. Aos funcionários do SAME por toda ajuda prestada, pelos inúmeros prontuários que foram separados com tanta dedicação. Em especial à Ismar e Ademir pelo carisma e simpatia, sempre dispostos a ajudar.

A todos que contribuíram para realização deste trabalho, direta ou indiretamente, meu sincero agradecimento.

Esse trabalho foi realizado através do Edital PPSUS-2017, auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo Programa de Pesquisa para SUS.

*Meu filho, se você aceitar as minhas palavras  
e guardar no coração os meus mandamentos;  
Se der ouvidos à sabedoria e  
inclinar o coração para o discernimento;  
Se clamar por entendimento e  
por discernimento gritar bem alto;  
Se procurar a sabedoria como se procura a prata  
e buscá-la como quem busca um tesouro  
entenderá o que é temer o Senhor e  
achará o conhecimento de Deus.  
Pois o Senhor é quem dá sabedoria;  
de sua boca procedem o conhecimento e o discernimento  
(Provérbios 2.1:6 / Bíblia NVI, 900 a. C, 856 p)*

## RESUMO

Infecções de corrente sanguínea (ICS) são uma das complicações mais frequentes em pacientes com câncer. Nesta população, a frequência de bacilos Gram-negativos (BGN) produtores de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases vêm aumentando nos últimos anos e vêm sendo considerada uma grave ameaça ao êxito do tratamento antimicrobiano. Assim, o objetivo do estudo foi descrever os fatores relacionados à ICS, frequência de bactérias e fungos isolados, detecção de genes de resistência, mortalidade, e tempo e custo de internamento hospitalar em pacientes assistidos em hospital de referência para tratamento de câncer no Estado de Pernambuco. Dados clínicos e epidemiológicos foram coletados dos pacientes portadores de malignidades, tais como, dados biológicos, sociodemográficos, laboratoriais e taxa de mortalidade e custo hospitalar. Hemoculturas positivas de pacientes com ICS foram coletadas e submetidas à identificação fenotípica dos microrganismos e posteriormente a confirmação através de testes automatizados. As amostras foram estudadas para detecção de genes de resistência a  $\beta$ -lactamases *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub> e as oxicilinas *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>OXA-58</sub> e polimixina *mcr* em bacilos Gram-negativos e de genes *mecA*, *vanA* e *vanB* em cocos Gram-positivos. Nos isolados que foram resgatados fungos, testes de identificação e suscetibilidade foram realizados. Hemoculturas positivas de quarenta e cinco pacientes foram recuperadas, no período de 2018 a 2020, sendo a maioria dos indivíduos mulheres, com média de idade de 49 anos e apresentando tumores sólidos. A taxa de mortalidade geral, de mortalidade em 30 dias e de letalidade foram 53,3%, 28,8% e 22,2% respectivamente. O tempo médio de hospitalização foi de 34 dias (1-80 dias), com custo médio hospitalar foi de US\$ 21.297,28. De 45 pacientes incluídos na amostra, foram obtidos 55 isolados microbianos recuperados de hemoculturas. Dos isolados obtidos, 38 eram Gram-negativas, 13 Gram-positivas e quatro espécies de leveduras. *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram os BGN mais frequentes e entre estas espécies, os genes mais encontrados foram *bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>SIM</sub>. Os genes *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> e *bla*<sub>KPC</sub> foram encontrados na maioria dos BGN, já *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>CTX</sub> foram os genes mais comuns entre os ESBL. Foi documentado a ocorrência de infecções polimicrobianas em cinco casos, incluindo as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus coagulase negativo* (SCoN) e *Candida* spp. Os genes *mecA* e *vanA* foram encontrados em isolados de *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus faecium*, respectivamente. Espécies de *Candida* spp. apresentaram alta resistência à voriconazol e fluconazol. Na análise univariada, ICS esteve associada às variáveis: inserção de dispositivos invasivos,

comorbidades, quimioterapia, maior tempo de terapia antimicrobiana empírica e, registro de intervenção cirúrgica. Após análise multivariada a condição de apresentar comorbidade permaneceu no modelo, como fator de risco para ICS em pacientes portadores de câncer ( $p=0,002$ ). Pode-se concluir que indivíduos internados para tratamento de câncer e apresentando comorbidades tiveram maior risco de apresentar ICS causadas por BGN multidroga resistentes (MDR) que por sua vez traz impacto negativo nas taxas de mortalidade e, que medidas de identificação e contenção de disseminação através de precauções de contato são importantes, haja vista que a velocidade de emergência destes patógenos vêm apresentando alta disseminação de resistência a carbapenemases e ESBL identificadas limitando as opções do arsenal terapêutico.

**Palavras-chave:** Bacteremia; Genes MDR; Fatores de risco; Neoplasias.

## ABSTRACT

Bloodstream infections (BSIs) are one of the most frequent complications in cancer patients. In this population, the frequency of gram-negative bacilli (GNB) producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and carbapenemases has increased in recent years and has been considered a serious threat to the success of antimicrobial treatment. Thus, the objective of the study was to describe the factors related to BSI, frequency of isolated bacteria and fungi, detection of resistance genes, mortality, and time and cost of hospital stay in patients assisted at a referral hospital for cancer treatment in the State of Pernambuco. Clinical and epidemiological data were collected from patients with malignancies, such as biological, sociodemographic, laboratory data, mortality rate and hospital cost. Positive blood cultures from patients with ICS were collected and submitted to phenotypic identification of microorganisms and later confirmed by automated tests. The samples were studied for the detection of  $\beta$ -lactamases resistance genes *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> and *bla*<sub>SIM</sub> and the oxacylinases *bla*<sub>OXA-48</sub> and *bla*<sub>OXA-58</sub> and polymyxin *mcr* in Gram-negative bacilli and *mecA*, *vanA* and *vanB* genes in Gram-positive cocci. In isolates that were rescued fungi, identification and susceptibility tests were performed. Positive blood cultures from forty-five patients were recovered from 2018 to 2020, with most individuals being women, with a mean age of 49 years and presenting solid tumors. The overall mortality, 30-day mortality and case fatality rates were 53.3%, 28.8% and 22.2% respectively. The mean hospitalization time was 34 days (1-80 days), with a mean hospital cost of US\$ 21,297.28. From 45 patients included in the sample, 55 microbial isolates recovered from blood cultures were obtained. Of the isolates obtained, 38 were Gram-negative, 13 were Gram-positive and four were yeast species. *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were the most frequent BGN and among these species, the most frequently found genes were *bla*<sub>OXA-48</sub> and *bla*<sub>SIM</sub>. The *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> and *bla*<sub>KPC</sub> genes were found in most BGN, while *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>CTX</sub> were the most common genes among ESBLs. Polymicrobial infections were documented in five cases, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, coagulase negative *Staphylococcus* (CoNS) and *Candida* spp. The *mecA* and *vanA* genes were found in *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus faecium*, respectively. *Candida* spp. showed high resistance to voriconazole and fluconazole. In the univariate analysis, ICS was associated with the variables: insertion of invasive devices, comorbidities, chemotherapy, longer duration of empirical antimicrobial therapy, and surgical intervention record. After multivariate analysis, the condition of having comorbidity remained in the model as a risk factor for BSI in cancer

patients ( $p=0.002$ ). It can be concluded that individuals hospitalized for cancer treatment and presenting comorbidities had a higher risk of presenting BSI caused by multidrug resistant (MDR) BGN, which in turn has a negative impact on mortality rates, and that measures of identification and containment of dissemination through of contact precautions are important, given that the speed of emergence of these pathogens has shown a high spread of resistance to carbapenemases and ESBL identified, limiting the options of the therapeutic arsenal.

**Keywords:** Bacteremia; MDR genes; Risk factors; neoplasms.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Tese

---

- Figura 1 -** Linha do tempo da frequência de agentes bacterianos implicados na etiologia de infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer entre 1960 e 2021. 25
- Figura 2 -** Lista dos patógenos prioritários resistentes aos antimicrobianos da OMS. 28
- Figura 3 -** Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos. 30
- Figura 4 -** Algoritmo das coletas das amostras de sangue de pacientes oncológicos do HCP até a realização dos testes de diagnóstico para infecção. 58

### Artigo 1

---

- Figura 1 -** Fluxograma do recrutamento de pacientes portadores de neoplasias sólidas e hematológicas apresentando infecção de corrente sanguínea em hospital de referência. 70
- Figura 2 -** Microrganismos isolados de pacientes portadores de neoplasias malignas com infecção de corrente sanguínea. 75

### Artigo 2

---

- Figura 1 -** Percentual de patógenos isolados de corrente sanguínea de pacientes com câncer. 97

### Artigo 3

---

- Figura 1 -** Eletroforese em gel de agarose 1% corada com Brometo de etídio para visualização das bandas dos amplicons. 118

## LISTA DE TABELAS

### Tese

---

<b>Tabela 1 -</b>	Classificação das $\beta$ -lactamases de acordo com Ambler (1989) e Bush-Jacoby (2010).	33
-------------------	---	----

### Artigo 1

---

<b>Tabela 1 -</b>	Características clínicas e laboratoriais de portadores de neoplasias malignas apresentando infecção de corrente sanguínea em hospital de referência.	74
<b>Tabela 2 -</b>	Características clínicas e fatores associados à infecção de corrente sanguínea em portadores de neoplasias malignas.	77
<b>Tabela 3 -</b>	Análise de regressão logística do fator de risco para bacteremia MDR em portadores de neoplasias malignas com infecção de corrente sanguínea.	78

### Artigo 2

---

<b>Tabela 1 -</b>	Sequência de iniciadores dos genes de resistência a carbapenemases com as respectivas temperaturas de anelamento e tamanho de amplicons.	94
<b>Tabela 2 -</b>	Perfil de resistência antimicrobiana em organismos isolados de infecção na corrente sanguínea de pacientes com câncer através de teste automatizado.	98
<b>Tabela 3 -</b>	Perfil de resistência frente aos isolados bacterianos em pacientes com câncer.	114
<b>Tabela 4 -</b>	Deteção de genes de resistência em isolados de corrente sanguínea de pacientes com câncer.	113
<b>Tabela 5 -</b>	Teste de suscetibilidade antifúngico para <i>Candida</i> spp. em isolados obtidos de pacientes com câncer.	100

### Artigo 3

---

<b>Tabela 1 -</b>	Perfil antimicrobiano de <i>E. faecium</i> isolado de bacteremia de paciente com câncer.	117
-------------------	--	-----

### Artigo 4

---

<b>Tabela 1 -</b>	Identificação bacteriana e distribuição dos genes de resistência isolados de paciente com linfoma mieloide aguda.	127
<b>Tabela 2 -</b>	Concentração Inibitória Mínima (CIM) de isolados bacterianos de infecção na corrente sanguínea de paciente com linfoma mieloide agudo.	139

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Colletion
AMI	Amicacina
AMP	Ampicilina
ATM	Aztreonam
BHI	Caldo Brain Heart Infusion
bla	gene codificador debetalactamase
BrCast	Brazilian Committee for Sensitivity Test
CAZ	Ceftazidima
CCIH	Comissões de Controle de Infecção Hospitalar
CFO	Cefoxitina
CFZ	Cefazolina
CIAC	Centro Integrado de Análises Clínicas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIP	Ciprofloxacina
COM	Cefepime
CRO	Ceftriaxona
CRX	Cefuroxima
CTX	Cefotaxima
CVC	Cateter Venoso Central
dEPC	Dicarbonato de dietila
DGHO	German Society of Hematology and Oncology
DNA	Ácido desoxiribonucleioco
dNTP	Desoxinucleotídeo tri-fosfato

EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ERT	Ertapenem
ESBL	“Extended Spectrum Betalactamase” ( $\beta$ -lactamases de espectro estendido)
FIOCRUZ	Fundação Osvaldo Cruz
GEN	Gentamicina
GES	Guiana Extended Spectrum
GIM	German imipenemase
GP	Gram-positivo
GN	Gram-negativo
HCP	Hospital do Câncer de Pernambuco
IAM	Instituto Aggeu Magalhães
IAMP	Infecção de Acesso Vascular Periférico
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IDSA	Sociedade Americana de Doenças Infecciosas
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IMP	Imipenemase
IPCS	Infecções primárias da corrente sanguínea
IRAs	Infecções relacionadas a assistência à saúde
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LB	Luria Bertani
LLA	Leucemia linfocítica aguda
LLC	Leucemia linfocítica crônica
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crônica
MASCC	Associação Multinacional de Suporte de Cuidados em Câncer

MBL	Metallo- $\beta$ -lactamase
MDR	Multidroga resistente
MEM	Meropenem
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
NDM	New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase
NF	Neutropenia Febril
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxacilinase
Pb	Pares de base
PBP	Penicillin Binding Protein
PBP2a	Penicillin Binding Protein 2 altered
PCR	Reação em cadeia de Polimerase
PIT	Piperaciclina/tazobactam
PMB	Polimixina B
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
SCCmec	Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SCoN	<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo
SHV-1	Sulfidril variável 1
SHV-2	Sulfidril variável 2
SIM	Seul imipenemase
SMZ-TMP	Sulfametoxazol-trimetoprim
SPM	São Paulo metallo- $\beta$ -lactamase
SNC	Sistema Nervoso Central
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEM-1	Temoniera 1
TEM-2	Temoniera 2
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VIM	Verona Imipenemase
VRE	<i>Enterococcus</i> Resistente à Vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Vancomicina
16S rDNA	Gene codificador do 16S rRNA
16S rRNA	Subunidade menor do RNA ribossomal

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C Grau Celsius

€ Euros

µg micrograma

µL microlitro

µmol micromol

mg/L miligrama por litro

R\$ Reais

U\$ Dolar

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Etiologia de infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3</b>	<b>Resistência antimicrobiana dos patógenos</b> .....	<b>28</b>
<b>2.4</b>	<b>Mecanismo de Resistência</b> .....	<b>29</b>
2.4.1	Alteração da permeabilidade celular ao antimicrobiano .....	30
2.4.2	Remoção do antimicrobiano por bombas de efluxo .....	31
2.4.3	Alteração do sítio de ação do antimicrobiano .....	31
2.4.4	Modificação ou inativação enzimática do agente antimicrobiano.....	31
2.4.5	Mecanismo de Resistência antimicrobiana a polimixinas .....	34
<b>2.5</b>	<b>Genes de resistência aos antimicrobianos (mecA, vanA e vanB) em de corrente sanguínea</b> .....	<b>35</b>
<b>2.6</b>	<b>Genes <math>\beta</math>-Lactamases de Espectro Ampliado (ESBLs) em infecção de corrente sanguínea</b> .....	<b>36</b>
<b>2.7</b>	<b>Genes de resistência à carbapenêmicos e a polimixinas em infecção de corrente sanguínea</b> .....	<b>37</b>
<b>2.8</b>	<b>Infecção fúngica de corrente sanguínea de pacientes com câncer</b> .....	<b>40</b>
<b>2.9</b>	<b>Abordagem diagnóstica de infecções em corrente sanguínea de pacientes com câncer</b> .....	<b>41</b>
<b>2.10</b>	<b>Abordagem antibiótico-terapêutica em infecções bacterianas em pacientes com câncer</b> .....	<b>44</b>
<b>2.11</b>	<b>Abordagem antimicótico-terapêutico em infecções fúngicas em pacientes com câncer</b> .....	<b>46</b>
<b>2.12</b>	<b>Tempo e o custo de hospitalização e do tratamento em pacientes com câncer</b> ....	<b>46</b>
<b>2.13</b>	<b>Mortalidade em pacientes com câncer</b> .....	<b>48</b>
<b>3</b>	<b>HIPOTESE</b> .....	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>51</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>52</b>
<b>5.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>52</b>
<b>5.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>53</b>

<b>6.1</b>	<b>Desenho do estudo</b> .....	53
<b>6.2</b>	<b>População do estudo</b> .....	53
<b>6.3</b>	<b>Local do estudo</b> .....	53
<b>6.4</b>	<b>Período do Estudo</b> .....	54
<b>6.5</b>	<b>Critérios de Inclusão e Exclusão</b> .....	54
6.5.1	Critérios de inclusão .....	54
6.5.2	Critérios de exclusão .....	54
<b>6.6</b>	<b>Amostragem</b> .....	54
<b>6.7</b>	<b>Definição e categorização das variáveis dependentes e independentes</b> .....	55
<b>6.8</b>	<b>Métodos de coleta e Processamento dos dados</b> .....	57
6.8.1	Coleta de isolados bacterianos e fúngicos .....	57
6.8.2	Identificação fenotípica dos patógenos .....	59
6.8.3	Identificação bacteriana e Teste de suscetibilidade Antimicrobiana (TSA).....	59
6.8.4	Perfil de suscetibilidade antimicrobiana .....	59
6.8.5	Extração de DNA bacteriano .....	60
6.8.6	Detecção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-negativos.....	60
6.8.7	Detecção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-positivos.....	61
6.8.8	Eletroforese em Gel de Agarose .....	62
6.8.9	Identificação bacteriana e Teste de suscetibilidade Antimicrobiana (TSA).....	62
6.8.10	Extração de DNA fúngico .....	62
6.8.11	Identificação molecular das leveduras .....	63
<b>6.9</b>	<b>Análise de sequenciamento</b> .....	63
<b>6.10</b>	<b>Análise de tempo e custos de hospitalização</b> .....	64
<b>6.11</b>	<b>Análise da mortalidade e letalidade</b> .....	64
<b>6.12</b>	<b>Análise e processamento dos dados</b> .....	64
<b>6.13</b>	<b>Aspectos Éticos</b> .....	65
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	66
7.1	Artigo 1 – Características clínicas, epidemiológicas e fatores de risco associados à infecção de corrente sanguínea por bactérias multirresistentes em pacientes oncológicos .....	67
7.2	Artigo 2 - Elevada ocorrência de carapenemases em entorobacteriales isolados de infecção de corrente sanguínea de pacientes com câncer .....	89

7.3	Artigo 3 - Tratamento com daptomicina em infecção da corrente sanguínea por <i>Enterococcus</i> resistente a vancomicina em paciente com câncer de cólon: desfecho óbito .....	115
7.4	Artigo 4 - Coexistência de <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub> , <i>bla</i> <sub>SIM</sub> e <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> em isolados de infecção polimicrobiana da corrente sanguínea de uma paciente com leucemia mieloide aguda .....	123
8	<b>CONCLUSÕES</b> .....	134
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	135
	<b>APÊNDICE A - FICHA DE COLETA DE DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DOS PACIENTES COM MALIGNIDADES</b> .....	159
	<b>ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPE E DO HCP</b> .....	155
	<b>ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> ..	161
	<b>ANEXO C - ARTIGO PUBLICADO – TRATAMENTO COM DAPTOMICINA EM INFECÇÃO DA CORRENTE SANGUÍNEA POR <i>ENTEROCOCCUS</i> RESISTENTE A VANCOMICINA EM PACIENTE COM CÂNCER DE CÓLON: DESFECHO ÓBITO</b> .....	162
	<b>ANEXO D - ARTIGO PUBLICADO – COEXISTÊNCIA DE <i>bla</i><sub>TEM</sub>, <i>bla</i><sub>CTX</sub>, <i>bla</i><sub>KPC</sub>, <i>bla</i><sub>NDM</sub>, <i>bla</i><sub>SIM</sub> E <i>bla</i><sub>OXA-48</sub> EM ISOLADOS DE INFECÇÃO POLIMICROBIANA DA CORRENTE SANGUÍNEA DE UMA PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA</b> .....	171
	<b>ANEXO E - DOCUMENTAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS</b> .....	179

## 1 INTRODUÇÃO

Infecção de corrente sanguínea (ICS) é uma preocupante complicação, potencialmente fatal em pacientes com câncer em tratamento quimioterápico, e que pode ocorrer em paralelo a infecções de outros sítios (Mert et al., 2019). O uso de dispositivos intravasculares, concomitância de comorbidades e tempo hospitalar prolongado, têm sido apontados como os principais fatores relacionados para ICS nesta população (Lubwama et al., 2019).

Diante da gravidade das doenças neoplásicas de base, especialmente naqueles que cursam neutropenia febril (NF) pós quimioterapia, terapia antimicrobiana empírica de amplo espectro deve ser iniciada imediatamente, precedidas de coletas de 2 a 3 pares de hemoculturas. Mortalidade por ICS tem sido associada a atraso no diagnóstico e no manejo inadequado e retardado da terapêutica empírica (Islas-Muñoz et al., 2018). A terapêutica empírica inicial pode ser ajustada posteriormente após reconhecimento do isolado, cujo diagnóstico de infecções é normalmente difícil e demorado pela hemocultura (Peker et al., 2018). A sensibilidade desta técnica depende do crescimento bacteriano, sendo considerada baixa, podendo demandar alguns dias até sua finalização. Portanto, o diagnóstico molecular através da detecção de genes de resistência pode influenciar na agilidade e precisão, podendo influenciar positivamente na terapêutica destes pacientes, devido a elevada sensibilidade e especificidade (Idelevich et al., 2015) possibilitando uma readequação da terapia antimicrobiana de forma que possa também reduzir falhas terapêuticas.

Períodos prolongados de internamento hospitalar tem sido associado a episódios mais graves de NF, especialmente por bactérias multidroga resistentes (MDR) (Lyman et al., 2014). E o custo hospitalar em pacientes com câncer, sobretudo durante episódios de neutropenia febril são altos (Catic et al., 2016). A taxa de mortalidade em pacientes com câncer com infecção da corrente sanguínea geralmente é alta devido aos fatores associados, dentre eles, sepse e choque séptico são as principais causas de mortalidade durante a neutropenia induzida por quimioterapia para doenças malignas (Kochanek et al., 2019), principalmente em pacientes com leucemias e aqueles cursando neutopenia (Lalaoui et al., 2020).

Pontanto, diante do exposto, o objetivo do estudo foi descrever os fatores relacionados à infecção de corrente sanguínea, frequência dos agentes etiológicos, detecção de genes de resistência, mortalidade, tempo e custo de internamento hospitalar em pacientes com câncer assistidos em hospital de referência do Estado de Pernambuco.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer

Infecções da corrente sanguínea são causas importantes de morbidade e mortalidade entre pacientes com câncer. Procedimentos cirúrgicos, quimioterapia antineoplásica e uso de cateter venosos estão entre os principais fatores de risco, sendo *Escherichia coli* o BGN mais frequente em ICS em pacientes com câncer (Sierra et al., 2020).

ICS têm sido reportadas como uma das principais causas de complicações que podem comprometer a vida de pacientes com câncer, devido aos atrasos na quimioterapia, maior permanência no hospital, tratamento inadequado, maior taxa de mortalidade e aumento dos custos de saúde (Islas-Muñoz et al., 2018).

Embora ICS seja importante causa de morbimortalidade em pacientes com câncer, vale ressaltar que pacientes que apresentam neoplasias hematológicas, estão no grupo de alto risco para complicações causadas por infecções bacterianas da corrente sanguínea (Mert et al., 2019).

O uso de cateter central de inserção periférica para quimioterapia, antibioticoterapia e o número de lúmens do cateter foram associados a um risco aumentado de ICS em pacientes com câncer (Lee et al., 2020). Em contrapartida, uma meta-análise verificou que acesso venoso totalmente implantáveis pode reduzir significativamente ( $P < 0,00001$ ) o risco de ICS associada a cateter central (CLABSI) em comparação com acesso venoso central de inserção percutânea em pessoas com câncer (Jiang et al., 2020).

ICS causada por Enterobacteriales tem também sido associada à mortalidade em pacientes com câncer que receberam quimioterapia (Ceken et al., 2018). Além disso, a toxicidade associada à quimioterapia contribui para os riscos de infecção associados à leucemia linfoblástica aguda. Particularmente, doses mais altas de regimes de quimioterapia baseados em antraciclinas e antimetabólitos são frequentemente administradas por períodos mais longos. Os esteróides são também de grande importância no tratamento de doenças linfoproliferativas, e têm efeitos cumulativos pleiotrópicos imunossupressores e catabólicos. Portanto, os riscos relacionados à infecção nessa população com leucemia podem ser maiores em relação a outras neoplasias de alto risco. Com isso, estratégias preventivas são importantes para minimizar a ocorrência de infecções durante a neutropenia febril em pacientes com câncer. Uma vez que, os pacientes de maior risco incluem os que já receberam vários regimes de quimioterapia ou uso de corticosteróides, e que apresente disfunção renal (Di blasi et al., 2018).

## 2.2 Etiologia de infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer

A etiologia das bactérias em ICS em pacientes neutropênicos febris com câncer nas últimas décadas tem mostrado uma leve inclinação de Gram-negativa para Gram-positiva. Este fato deve-se provavelmente ao uso de cateteres, condições ambientais e a administração de antibióticos específicos, principalmente na profilaxia com antibióticos. Existem vários inquéritos epidemiológicos em que mostram a predominância de organismos Gram-positivos sobre os Gram-negativos como causa de infecções em pacientes com neutropenia febril (Klastersky et al., 2007; Aslan et al., 2012; Guerrero-Del-Cueto et al., 2018).

A proporção de infecções causadas por micro-organismos Gram-positivos tem sido relatada em torno de 75%-80% em alguns casos de câncer. Muitos episódios são causados por um único micro-organismo (monomicrobiano) e outros podem ser causados por mais de um (polimicrobianos). A distribuição da etiologia bacteriana da infecção varia de acordo com a região geográfica. Organismos Gram-positivos eram mais frequentes em infecções bacterianas, porém, infecções por outros sítios podem geralmente ser causadas por bacilos Gram-negativos ou por polimicrobianos, especialmente se a infecção invadir os tecidos profundos (Nesher et al., 2014).

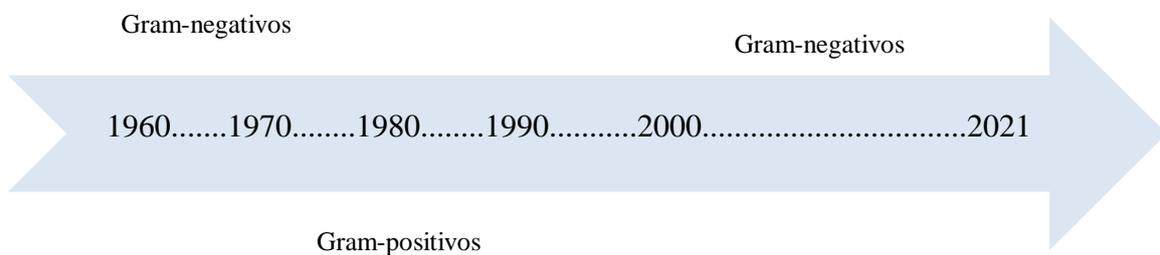
No entanto, os bacilos Gram-negativos estão se tornando a principal causa de ICS em pacientes com tumores sólidos, e a taxa de multirresistência está sendo cada vez mais reconhecida (Gudiol et al., 2016). Embora, bactérias Gram-positivas ainda sejam frequentes em ICS em pacientes com câncer, um estudo recente do México investigou a ocorrência de estreptococos do grupo viridans isolados de hemoculturas. Os principais fatores de risco foram quimioterapia com antagonista da pirimidina e a presença de neutropenia. ICS foi associada a cateter central. O choque séptico e mortalidade geral ocorreram em 20,9% e 18,6% respectivamente nos pacientes (Guerrero-Del-Cueto et al., 2018).

As infecções causadas por micro-organismos Gram-positivos predominavam sobre as infecções causadas em pacientes com câncer cursando neutropenia febril. No entanto essa epidemiologia vem mudando ao longo do tempo, entre as razões estão o uso universal de cateter venoso central, o uso de antimicrobiano profilático primariamente contra os bacilos entéricos Gram-negativos e o uso frequente de quimioterapia. Entre as décadas de 1960 a 1970 predominavam os bacilos Gram-negativos (BGN), e a partir da década de 1980, passaram a predominar os cocos Gram-positivos (CGP) (Calvo-Lon et al., 2018; Diekema et al., 2019). Entretanto, pode-se observar que os BGN vêm predominando novamente como os principais

agentes de ICS em pacientes com câncer nas duas últimas décadas no cenário global (Bhat et al., 2021; Ghosh et al., 2021) (Figura 1).

Os sítios de infecções mais frequentes onde predominam patógenos Gram-negativos são o pulmão, o trato intestinal e trato urinário (Yadegarynia et al., 2003 e Sandoval et al., 2012). Aproximadamente 60%-80% das infecções polimicrobianas possuem alguma espécie de Gram-negativo e cerca de 30%-35% são causadas exclusivamente por múltiplas espécies de Gram-negativos (Klustersky et al., 2007). Bastonetes Gram-negativos multirresistentes (MDR) representam uma ameaça crescente para pacientes com câncer (Carena et al., 2019).

Figura 1 - Linha do tempo da frequência de agentes bacterianos implicados na etiologia de infecção de corrente sanguínea em pacientes com câncer entre 1960 e 2021.



Fonte: Autor, 2021.

Infecções causadas por bactérias Gram-negativas são mais frequentes por patógenos entéricos. O uso de antimicrobianos profilático em pacientes neutropênicos de alto risco leva a um declínio nessa frequência de infecções. No entanto, esta prática também leva à resistência entre *Escherichia coli* e outras espécies bacterianas Gram-negativas. O aumento da taxa de morbidade e mortalidade tem sido geralmente associado à infecções causadas por bactérias Gram-negativas quando comparadas a infecções causadas por bactérias Gram-positivos. Alguns estudos têm mostrado que *E. coli*, *Klebsiella spp*; e *P. aeruginosa* permanecem os três patógenos de maior taxa de infecções (40%-60%) (Klustersky et al., 2007; Cattaneo et al., 2012).

*Enterococcus* são os patógenos mais frequentes no trato intestinal e podem ser tratados facilmente com terapia prolongada com agentes de amplo espectro, com os carbapenêmicos. *Enterococcus* são frequentemente isolados de infecções polimicrobiana, podendo causar infecções no trato urinário e na região pélvica intra-abdominal. O aumento do uso de vancomicina especialmente em pacientes com NF foi parcialmente responsável pela emergência de *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) (Liss et al., 2012).

Outras enterobactérias como, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. e *Serratia* spp. são menos comuns em infecções relacionadas à NF. A frequência de infecções causadas por BGN não fermentadores como *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *Stenotrophomonas maltophilia* é cerca de 40%. *Pseudomonas aeruginosa* é o patógeno mais importante e mais frequente em 15%-20% das infecções (Cattaneo et al., 2012). *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos foi documentado como causa significativa de ICS adquiridas em hospitais em pacientes com neoplasias hematológicas (Shargian-Alon et al., 2019).

Dentre os patógenos Gram-positivos o *Staphylococcus* coagulase negativo (SCoN) são os mais frequentemente isolados em infecções de pacientes com neutropenia, sendo as espécies *Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis* e *S. haemolyticus* as espécies mais comuns. Estes organismos são poucos virulentos e raramente causam infecções com risco de vida, mesmo em pacientes com neutropenia febril (Mermel et al., 2009).

Entre os patógenos bacterianos Gram-positivos que são bastante frequentes em pacientes com NF, incluindo *S. aureus*, SCoN, e *Enterococcus* spp. estão envolvidos em mais de 50% de todas as infecções bacterianas da corrente sanguínea sendo as espécies mais virulentas e mais associadas com morbidade e mortalidade (Dunbar et al., 2022).

A maioria destes organismos desenvolvem resistência à agentes antimicrobianos usando múltiplos mecanismos sendo difíceis de tratar e erradicar. O uso prolongado de fluoroquinolonas ou carbapem tem sido identificado como fator de risco para o desenvolvimento de resistência (Ohmagari et al., 2005).

Um estudo realizado no Chile demonstrou que a incidência de infecções bacterianas durante episódios de neutropenia febril foi maior em leucemia aguda do que em linfoma com 31,4%, predominando os cocos Gram-positivos (Rabagliati et al., 2014).

Outro estudo realizado em vários centros hematológicos da Itália verificou que a incidência de infecções bacterianas foi de 23,2%. Dentre as infecções documentadas estão pneumonias primárias, infecção do trato genitourinário e trato gastrointestinal com

predominância de bactérias Gram-negativas. Em relação a infecções fúngicas foram observados 17 (4,3%), dentre os mais comuns estão *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. (Di Blasi et al., 2018).

Na Turquia, 66 (23%) casos de infecção bacteriana ocorreram durante 282 episódios febris e 24 (8%) episódios de fungemia foram registrados. As bactérias Gram-negativas foram predominantes (74%), incluindo as bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenem estão *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens*. Os isolados de *Candida parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. albicans* foram resistentes ao voriconazol e ao fluconazol (Gedik et al., 2014).

Na Austrália infecções por bactéria Gram-negativas são mais comuns. A taxa de resistência aos antibióticos empíricos de primeira linha entre os isolados patogênicos foi de 11,6%. Houve uma tendência a maiores taxas de resistência entre os pacientes internados submetidos à quimioterapia de indução em comparação com os pacientes que se apresentaram no departamento de emergência (Conn et al., 2017). Na China, bactérias Gram-negativas foram mais frequentes (68,64%), sendo a *Escherichia* a mais comum (23%). Todas as cepas isoladas no estudo foram resistentes a ceftazidima e dentre as Gram-negativas apenas *Pseudomonas* e *Stenotrophomonas* foram resistentes à imipenem e meropenem (Zhai et al., 2015).

Um estudo realizado na Índia demonstrou que ao analisar 268 pacientes com NF, 61,53% dos isolados foram gram-negativos, entre os isolados mais comuns podemos destacar *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (Mandal et al., 2015).

*E. coli* foi o patógeno mais frequentemente isolado (38,68%), seguido de *Klebsiella* spp. (14,15%) e espécies de *Acinetobacter* (11,32%) no Irã em pacientes com câncer cursando neutropenia febril (Vahedian-Ardakani et al., 2019).

No sul do Brasil, BGN foram predominantes, sendo a *Escherichia coli* a espécie mais comum, envolvendo BGN MDR associados com o tempo prolongado de permanência hospitalar em pacientes com câncer cursando neutropenia febril (Regis e Goldani, 2014).

De acordo com Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY) *S. aureus* e *E. coli* são os patógenos predominantes de ICS no mundo ao longo dos últimos 20 anos. Mostrando que os genes de resistência entre os patógenos Gram-positivos (MRSA, VRE ou DRE (*Enterococcus* resistência à daptomicina) eram estáveis ou diminuindo, enquanto a prevalência de multirresistência em BGN aumenta continuamente (Diekema et al., 2019).

### 2.3 Resistência antimicrobiana dos patógenos

O surgimento de bactérias MDR é um importante problema de saúde em todo o mundo. As infecções causadas por essas bactérias são um fenômeno preocupante em pacientes hematológicos (Cattaneo et al., 2018), pois pacientes com ICS, particularmente aqueles pacientes com bactérias MDR, têm um risco maior de mortalidade (Islas-Muñoz et al., 2018).

Nos últimos anos, algumas das bactérias resistentes a antibióticos, conhecidas como patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), foram consideradas responsáveis por infecções graves. A Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou a primeira lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes aos antibióticos – um catálogo de 12 famílias de bactérias que representam a maior ameaça para a saúde humana que necessitam com urgência de novos antibióticos (Figura 2).

Figura 2 - Lista dos patógenos prioritários resistentes aos antimicrobianos da OMS.

 <p><i>Acinetobacter baumannii</i>, carbapenem-resistant</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i>, carbapenem-resistant</p> <p><i>Enterobacteriaceae</i>*, carbapenem-resistant, 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin-resistant</p>	<p><b>Priority 1: CRITICAL</b></p>
<p><i>Enterococcus faecium</i>, vancomycin-resistant</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i>, methicillin-resistant, vancomycin intermediate and resistant</p> <p><i>Helicobacter pylori</i>, clarithromycin-resistant</p> <p><i>Campylobacter</i>, fluoroquinolone-resistant</p> <p><i>Salmonella</i> spp., fluoroquinolone-resistant</p> <p><i>Neisseria gonorrhoeae</i>, 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant</p>	<p><b>Priority 2: HIGH</b></p>
<p><i>Streptococcus pneumoniae</i>, penicillin non susceptible</p> <p><i>Haemophilus influenzae</i>, ampicillin-resistant</p> <p><i>Shigella</i> spp., fluoroquinolone-resistant</p>	<p><b>Priority 3: MEDIUM</b></p>

Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acessado em 27 de setembro, 2019.

Os patógenos ESKAPE foram significativamente associados a maiores taxas de morbimortalidade em pacientes com câncer em Cairo, Egito (El-Mahallawy et al., 2016).

Um estudo em Sichuan na China mostrou que sexo masculino, patógenos múltiplos, história de exposição a inibidores enzimáticos e agranulocitose foram fatores de risco independentes de ICS por patógenos ESKAPE. A infecção peritoneal e a infecção fúngica combinada foram fatores de risco independentes para morte relacionada à ICS ESKAPE (Xu et al., 2020). Os fatores de risco independentemente associados à bacteremia por ESKAPE foram comorbidades e antibioticoterapia prévia (Bodro et al., 2014).

Um estudo multicêntrico observacional caracterizou 25,7% de infecções causadas por bactérias MDR em pacientes hematológicos (Cattaneo et al., 2018). Na Argentina, a multidroga resistência foi maior em pacientes com câncer hematológico (18%) em relação aos pacientes com tumor sólido (15%) (Sierra et al., 2020).

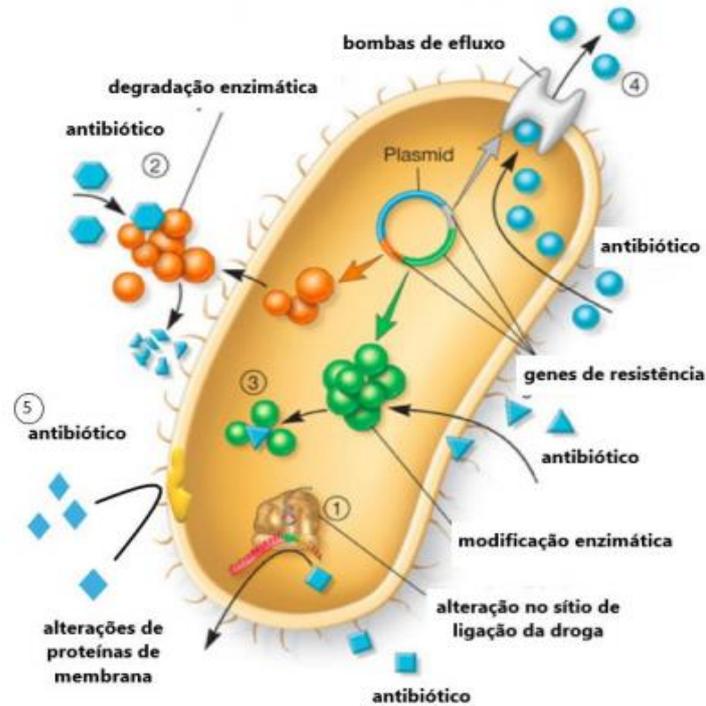
Diferenças na etiologia e nas fontes de bacteremia ocorrem entre pacientes com câncer mais velhos ( $\geq 70$  anos) e mais jovens com bacteremia. Pacientes mais velhos apresentam infecção mais frequente devido a organismos MDR e apresentaram maior taxa de mortalidade geral (Antonio et al., 2019).

Vale ressaltar que a proporção de bacteremias produtoras de ESBL aumentou significativamente com uma proporção de 34,47% para 54,7% em um período de 2010 a 2018 em três hospitais importantes na província de Hunan, China (Liang et al., 2020).

## **2.4 Mecanismo de resistência**

A resistência aos antimicrobianos pode ocorrer por diferentes mecanismos, tais como: alteração da permeabilidade celular ao antimicrobiano; expulsão do antimicrobiano por bombas de efluxo; alteração do sítio de ação do antimicrobiano e inativação enzimática do agente antimicrobiano (Figura 3). Esses mecanismos podem coexistir em uma mesma cepa bacteriana, tornando-a resistente a diferentes classes de antimicrobianos, gerando um perfil de multirresistência.

Figura 3 - Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos



Fonte: <https://br.pinterest.com/pin/microbiology-notes-on-instagram-antibiotic-resistance-mechanisms-bacteria-can-resist-the-action-of--775041417111214914/> Acessado em: 07 de dezembro de 2020. Adaptado.

#### 2.4.1 Alteração da permeabilidade celular ao antimicrobiano

A permeabilidade da membrana celular é essencial para que o antimicrobiano tenha acesso ao seu sítio de ação. Alterações nessa permeabilidade podem levar a uma diminuição da concentração do antimicrobiano dentro da célula bacteriana. A membrana externa das bactérias Gram-negativas é a primeira linha de defesa contra compostos tóxicos, tais como os antimicrobianos. Devido a permeabilidade limitada da membrana externa, que é uma característica inata, os bacilos Gram-negativos são intrinsecamente resistentes a vários antimicrobianos como penicilina, eritromicina, clindamicina e vancomicina. A entrada de muitos antimicrobianos na célula bacteriana, como por exemplo, os  $\beta$ -lactâmicos, é controlada pelas porinas, que são proteínas de membrana externa capazes de formar canais constituídos de água no seu interior, o que permite a difusão passiva de solutos hidrofílicos através da membrana externa. Assim, algumas bactérias podem desenvolver resistência adquirida a determinados antimicrobianos por meio de mutações nos genes codificadores ou reguladores de determinadas porinas, levando a redução dos níveis de expressão ou alteração da estrutura dessas proteínas, o que limita a entrada do antimicrobiano (Brasil, 2020).

#### 2.4.2 Remoção do antimicrobiano por bombas de efluxo

Os sistemas de efluxo atuam na remoção de compostos tóxicos de dentro da célula bacteriana. Os sistemas de efluxo podem estar presentes em micobactérias, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo mais relevante neste último grupo de bactérias. Os sistemas de efluxo são formados por transportadores protéicos que funcionam através de consumo de energia. Em Gram-positivos são constituídos por um único polipeptídeo localizado na membrana citoplasmática. Já em Gram-negativos, a maioria dos sistemas é composto por três proteínas, uma inserida na membrana citoplasmática, outra na membrana externa e uma proteína de ligação no espaço periplasmático (Brasil, 2020).

#### 2.4.3 Alteração do sítio de ação do antimicrobiano

Cada antimicrobiano possui um alvo específico na célula bacteriana para realizar a sua ação e essa interação (antimicrobiano/sítio de ação). Assim, alterações nos sítios de ação fazem com que a bactéria se torne resistente ao antimicrobiano. Essas alterações podem ocorrer por (i) mutações em genes que codificam as proteínas-alvo, levando a ausência, alteração da estrutura ou da expressão do sítio de ação; ou (ii) por aquisição de genes que codificam alguma proteção ao sítio de ação.

A resistência a oxacilina em *Staphylococcus* spp. é um exemplo desse tipo de mecanismo de resistência. O gene *mecA* codifica uma nova transpeptidase, denominada PBP2a (“Penicillin-Binding Protein” 2a) ou PBP2’, que possui baixa afinidade pelos  $\beta$ -lactâmicos. Esta PBP é suficiente para manter a integridade da parede celular durante o crescimento bacteriano, enquanto as outras PBPs constitutivas são inativadas pelos  $\beta$ -lactâmico. Outro exemplo de alteração no sítio de ligação ocorre na resistência às polimixinas. Por mutações em genes cromossômicos ou aquisição de genes plasmidiais (*mcr*), a porção do lipídeo A do lipopolissacarídeo das bactérias Gram-negativas sofre uma redução nas cargas negativas, diminuindo ou impedindo a ligação das polimixinas, que são antimicrobianos catiônicos, ao seu alvo (Brasil, 2020).

#### 2.4.4 Modificação ou inativação enzimática do agente antimicrobiano

A modificação/inativação enzimática do antimicrobiano é o principal mecanismo de resistência em bacilos Gram-negativos. Têm sido descritas milhares de enzimas que podem

degradar ou modificar antimicrobianos de diferentes classes. Existem três estratégias químicas que as enzimas utilizam para promover a inativação do antimicrobiano: transferência de grupos químicos (que ocorre em diferentes classes de fármacos), mecanismos de oxidação (que ocorre com as tetraciclinas) e hidrólise (que ocorre principalmente com os  $\beta$ -lactâmicos)

As  $\beta$ -lactamases são as enzimas de maior importância clínica. Constituem um grupo diverso de enzimas e estão amplamente distribuídas entre bactérias Gram-positivas e negativas, sendo o mais importante mecanismo de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos em bactérias Gram-negativas. O mecanismo de ação dessas enzimas é a hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico, presente no núcleo estrutural de todos os  $\beta$ -lactâmicos. Os genes codificadores de  $\beta$ -lactamases podem possuir localização cromossômica ou plasmidial e muitas vezes estão associados a outros elementos genéticos móveis, como integrons, transposons e sequências de inserção. A localização desses genes nesses elementos com mobilidade facilita sua disseminação.

Diferentes tipos de  $\beta$ -lactamases já foram descritos e inúmeras tentativas de estabelecer um sistema de classificação foram propostas. Atualmente, têm sido consideradas duas classificações: A classificação de Ambler (1980), com base na estrutura molecular e na sequência de aminoácidos, resultando em quatro grandes classes (A, B, C e D); e a classificação de Bush & Jacoby (2010) que é baseada na atividade enzimática relacionando substrato preferencial e características estruturais (Tabela 1).

As  $\beta$ -lactamases de classe A possuem serina no sítio de ação e são chamadas de serino- $\beta$ -lactamases. Englobam as penicilinases, a maioria das  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (“Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases” - ESBLs) e as serino-carbapenemases, como a KPC (“*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase”).

As ESBLs são capazes de hidrolisar todas as penicilinas, as cefalosporinas incluindo as de terceira e quarta geração e monobactâmicos. A grande maioria das  $\beta$ -lactamases desse grupo é susceptível a ação de inibidores de  $\beta$ -lactamases, tais como o ácido clavulânico, o sulbactam ou o tazobactam. Atualmente, existem mais de 500 diferentes ESBLs descritas, sendo a maioria derivada das enzimas CTX-M, TEM e SHV, principalmente em *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e outras espécies de *Enterobacterales*.

As carbapenemases de classe A são divididas em quatro representantes principais: GES, SME, IMI/NMC e KPC. As enzimas da classe C também são denominadas de AmpC  $\beta$ -lactamase. Algumas espécies de bactérias possuem intrinsecamente genes que codificam AmpC que são induzíveis na presença de beta-lactâmicos. As principais enterobactérias que possuem AmpC induzível incluem *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* e *Providencia* spp., conhecidos “CESP”. E outras bactérias como *Morganella morganii*,

*Yersinia* sp, *Aeromonas* sp e *Pseudomonas aeruginosa* também podem apresentar AmpC induzível conhecida pela sigla “MYSPACE”.

E as  $\beta$ -lactamases de classe B são chamadas de metalo-  $\beta$ -lactamases (MBLs). São caracterizadas por apresentarem um ou dois átomos de zinco em seu sítio de ação, o que faz com que sejam inibidas por quelantes como o EDTA ou compostos derivados do ácido tiolico. Essas  $\beta$ -lactamases são capazes de hidrolisar todos os  $\beta$ -lactâmicos, com exceção dos monobactâmicos, possuindo uma alta atividade contra os carbapenêmicos além de serem resistentes aos inibidores de  $\beta$ -lactamases, como sulbactam e clavulanato. Como todas as  $\beta$ -lactamases, as MBLs podem ser codificadas por genes localizados no cromossomo bacteriano ou transferidos através de elementos genéticos móveis. As famílias mais comuns de MBLs relatadas em isolados clínicos incluem as subclasses VIM, IMP, GIM, SIM, NDM e SPM. As  $\beta$ -lactamases de classe D ou oxacilinases (OXA) possuem uma serina em seu sítio de ação. Dentre elas, há enzimas com perfil de penicilinases, que hidrolisam penicilinas e cloxacilina (ex.: OXA-1), perfil de ESBLs, que hidrolisam cefalosporinas de amplo espectro (ex. OXA-15) e também com perfil de carbapenemases (ex.: OXA-23 e OXA-48) (Brasil, 2020).

Tabela 1 - Classificação das  $\beta$ -lactamases de acordo com Ambler (1989) e Bush-Jacoby (2010).

Classificação de Ambler (1980)	Classificação de Bush, Jacoby e Medeiros (1995)	Classificação de Bush e Jacoby (2010)	Características hidrolíticas	Inibição			Principais enzimas representantes
				Ác. clavulânico	Tazobactam	EDTA	
A	2 <sup>a</sup>	2a	Penicilinas	Sim	Sim	Não	PC1
A	2b	2b	Penicilinas, cefalodrina, cefazolina e cefalotina	Sim	Sim	Não	SHV-1, TEM-1,-2 e -90
A	2be	2be	Penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos	Sim	Sim	Não	PER-1, CTX-M-15
A	2br	2br	Penicilinas, cefalodrina, cefazolina e cefalotina	Fraca	SI	Não	TEM-30, SHV-10 e 26
A	NI	2ber	Penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos	Fraca	Fraca	SI	TEM-50, 68 e 89
A	2c	2c	Carbencilina	Sim	SI	Não	CARB-3, PSE-1
A	2e	2e	Cefalosporinas	Sim	Sim	Não	CepA
A	2f	2f	Carbapenêmicos, cefalosporinas, penicilinas e cefamicinas	Fraca	Fraca	Não	IMI-1, KPC-2 e 3, GES-2, SME-1 e BKC-1
B	3	3a	Todos os $\beta$ -lactâmicos	Não	Não	Sim	IMP-1, NDM-1, VIM-1

B	3	3b	Carbapenêmicos	Não	Não	Sim	CphA, Sfh-1
C	1	1	Cefalosporinas e cefamicinas	Não	Não	Não	AmpC, CMY-2
C	NI	1e	Penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas e monobactâmicos	Não	Não	SI	CMY-37, GC1
D	NI	2ce	Carbencilina, cefepime e cefpiroma	Sim	Sim	SI	RTG-4
D	2d	2d	Cloxacilina ou oxacilina	Variável	SI	Não	OXA-1 e OXA-10
D	NI	2de	Penicilinas e cefalosporinas	Variável	SI	SI	OXA-11 e OXA-15
D	NI	2df	Carbapenêmicos e cloxacilina ou oxacilina	Variável	SI	SI	OXA-23 e OXA-48
ND	4	NI	Não sequenciadas. Não agrupáveis.				

Fonte: Adaptado de Bush, Jacoby e Medeiros (1995), Bush e Jacoby (2010). Legenda: ND - não determinado; NI - não incluído; SI – sem informação.

#### 2.4.5 Mecanismo de Resistência antimicrobiana a Polimixinas

Os antibióticos polimixinas estão sendo usados cada vez mais como opções terapêuticas de última linha contra uma série de bactérias Gram-negativas resistentes a múltiplas drogas. Algumas espécies, como *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis* e *Burkholderia* spp. são intrinsecamente resistentes à ação das polimixinas. A maioria dos mecanismos de resistência à polimixina identificados em bactérias Gram-negativas envolve alterações na estrutura do lipopolissacarídeo (LPS), uma vez que as polimixinas inicialmente interagem com o componente lipídico A carregado negativamente do LPS.

O mecanismo se deve a adição controlada de resíduos carregados positivamente, como 4-amino- L-arabinose, fosfoetanolamina e / ou galactosamina para LPS resulta em uma carga negativa reduzida na superfície bacteriana e, portanto, interação reduzida entre a polimixina e o LPS. Além disso, outros mecanismos de resistência à polimixina não dependentes de LPS também foram identificados em bactérias. Estes incluem produção aumentada de polissacarídeo capsular aniônico em *Klebsiella pneumoniae*, expressão de sistemas de efluxo como MtrCDE em *N. meningitidis* e expressão alterada de proteínas da membrana externa em um pequeno número de espécies (Moffatt et al., 2019).

## 2.5 Genes de resistência aos antimicrobianos (*mecA*, *vanA* e *vanB*) em infecção de corrente sanguínea

Os micro-organismos Gram-positivos mais prevalentes em ICS têm sido *S. aureus* e SCoN (Calvo-Lon et al., 2018; Diekema et al., 2019; Ryu et al., 2020).

Espécies estafilocócicas são a principal causa de ICS em todo o mundo, e até 60% de todas as infecções estafilocócicas são resistentes à meticilina. *Staphylococcus aureus* é o patógeno mais comum encontrado em hemoculturas positivas, com alta prevalência de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). A alta prevalência de MRSA combinada com o tempo prolongado para a identificação do agente etiológico e informações de resistência desse agente a antibióticos leva os médicos a usarem a terapia empírica com agentes como a vancomicina em casos de suspeita de infecções estafilocócicas (Denys et al., 2017).

O mecanismo de resistência dos *Staphylococcus* spp. aos  $\beta$ -lactâmicos está associado tanto à produção da enzima  $\beta$ -lactamase que hidrolisa o antibiótico, quanto à expressão da proteína de ligação à penicilina alterada, PBP2a (PBP, penicillin binding protein) (Hackbarth et al., 1989). A codificação da PBP está relacionada à aquisição do gene *mecA*. Este gene faz parte de um elemento genético móvel encontrado em todos os isolados de *S. aureus* e SCoN resistentes a meticilina. O gene *mecA* faz parte de um elemento genômico chamado cassette estafilocócico do cromossomo mec (“staphylococcal cassette chromosome mec” - SCCmec), integrado ao cromossomo de *S. aureus* (Katayama et al., 2000).

A resistência à vancomicina ocorre através de uma modificação genética no gene bacteriano pelo dipeptídeo Alanina (D-ala D-ala) uma modificação do aminoácido terminal D-alanina por D-lactato reduzindo assim a afinidade do antibiótico. O gene *vanA* confere resistência à vancomicina e teicoplanina. Existem atualmente sete fenótipos descrito do gene resistente à vancomicina, *vanA* e *vanB* são os mais prevalentes no mundo apresentando alto grau de resistência. Podendo ser encontrado em plasmídeos ou no cromossomo bacteriano e ser transferidos entre espécies enterocócicas (Cetinkaya et al., 2000). *Enterococcus* Resistente à Vancomicina (VRE) são causas de grande preocupação, com a disseminação de VRE em ambiente hospitalar, com isso aumenta a necessidade de buscar novos antibióticos para tratamento de infecções por bactérias multirresistentes (Silveira et al., 2008).

## 2.6 Genes $\beta$ -Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) em infecção de corrente sanguínea

As  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL) são enzimas capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta gerações e o monobactâmico aztreonam, mas não as cefamicinas e os carbapenems. Entretanto, são inibidas por inibidores de  $\beta$ -lactamases como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam. As espécies mais comumente relacionadas como produtoras de ESBLs são *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (Lubwama et al., 2019; Liang et al., 2020; Abbasi Montazeri et al., 2020; Paul et al., 2020). A maioria das ESBLs evoluiu a partir de mutações genéticas em  $\beta$ -lactamases clássicas (TEM-1, TEM-2 e SHV-1), originando principalmente variedades de ESBLs dos tipos TEM e SHV. Contudo, uma nova família de ESBLs, a CTX-M, emergiu nos últimos anos, principalmente em *Escherichia coli*, e tem se tornado uma das mais prevalentes famílias dessas enzimas em muitos países. A presença de ESBLs nos ambientes hospitalares e suas consequências nas estratégias de tratamento com antimicrobianos constitui um importante agravante para pacientes hospitalizados (Lubwama et al., 2019; Liang et al., 2020).

A primeira  $\beta$ -lactamase codificada por elemento genético móvel foi identificada na *Escherichia coli*, isolada de um paciente que designou a enzima TEM-1. A localização em plasmídeos e transposons de TEM-1 possibilitou sua disseminação por transferência horizontal, além de outras espécies de *Enterobacteriaceae* em *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae*. Da mesma forma, SHV-1 tornou-se mundialmente disseminada (Silva e Lincopan, 2012).

Devido à prevalência e à disseminação das  $\beta$ -lactamases, as cefalosporinas de terceira geração foram introduzidas na prática médica na década de 1980, tendo estrutura molecular resistente à ação das enzimas descritas até então. Porém, a pressão seletiva exercida pelo uso intensivo dessas novas drogas ocasionou a emergência de cefalosporinases com espectro de atividade estendido, de modo que, em 1983, houve a primeira descrição de uma ESBL, denominada SHV-2, por diferir-se de apenas um aminoácido da enzima SHV-1 (Silva e Lincopan, 2012).

Na América Latina, a primeira descrição de ESBL ocorreu no Chile, sendo reportada a presença de SHV-5 em *K. pneumoniae*. Embora as ESBLs, TEM, SHV, CTX-M, estejam disseminadas em diferentes estados do Brasil, as enzimas dos grupos CTX-M são as mais prevalentes em território brasileiro (Silva e Lincopan, 2012). Os genes codificadores de ESBLs

dos tipos TEM, SHV e CTX-M foram detectados em *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. no Hospital Universitário de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul (Oliveira et al., 2009).

Existem nove famílias estruturais distintas de  $\beta$ -lactamase: TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, TLA, BES e OXA, que são classificadas com base em comparações de sequências de aminoácidos. A maioria das ESBLs identificadas em isolados clínicos são derivadas dos tipos TEM e SHV, produtos dos genes de *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, respectivamente. É importante destacar que estas enzimas são codificadas por genes localizados em plasmídeos, e por isso têm grande poder de disseminação para outras espécies de bactérias (Bradford, 2001; Bush, 2001; Li et al., 2015). A primeira  $\beta$ -lactamase mediada por plasmídeo em Gram-negativos TEM-1, foi descrita no início dos anos 1960, encontrada originalmente em uma única cepa de *E. coli* isolada de hemocultura. Desde então, várias outras que parecem ser mutantes dos genes clássicos TEM têm sido reportadas espalhando-se por todo o mundo, estando presente em outras espécies da família Enterobacteriaceae, em *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae* (Bradford, 2001; Oduro-Mensah et al., 2016).

O SHV é um dos genótipos mais comuns de ESBL. O gene *bla*<sub>SHV-1</sub>, que codifica a enzima SHV-1, foi identificado pela primeira vez em uma cepa de *E. coli* nos anos 1970. SHV-1 pode hidrolisar penicilina e cefalosporinas, mas não antibióticos de espectro expandido, como cefalosporinas e monobactâmico. As mutações pontuais no gene *bla*<sub>SHV-1</sub> resultaram em novas variantes de  $\beta$ -lactamase, sendo descritas 189 variantes alélicas de SHV (Bourouis; Moussa; Belhadj, 2015; Liakopoulos; Mevius; Ceccarelli, 2016). Essas enzimas se disseminam facilmente por entre os patógenos, sendo identificadas em importantes espécies da família Enterobacteriaceae, se tornando de ocorrência mundial, descritas inclusive no Brasil (Tolentino, 2009).

## **2.7 Genes de resistência à carbapenêmicos e a polimixinas em infecção de corrente sanguínea**

### **Carbapenêmicos**

Os carbapenêmicos são frequentemente usados quando a bacteremia por BGN é detectada, especialmente em pacientes neutropênicos (Shin et al., 2020). As metalo- $\beta$ -lactamases (MBL) são carbapenemases que apresentam potente atividade contra carbapenêmicos.

Doze tipos diferentes de MBLs (VIM, IMP, SPM, GIM, NDM, DIM, AIM, SIM, KHM, SMB, TMB e FIM) foram identificados até o momento (Jabalamei et al., 2018). Embora essas enzimas sejam mais frequentemente isoladas em espécies de bactérias Gram-negativas não-fermentadoras, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, cada vez mais estas enzimas têm sido reportadas em membros da família *Enterobacteriaceae*, incluindo *K. pneumoniae* (Morfin-Otero et al., 2009).

A primeira MBL relatada foi a IMP-1 identificada em isolados de *S. marcescens* no Japão em 1991, apresentando fenótipo de resistência a imipenem e cefalosporinas (Osano et al., 1994).

*Enterobacteriaceae* patogênica, incluindo *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, são as principais causas de infecções multidroga resistentes (MDR) em hospitais em todo o mundo. Recentemente, foi comprovado que esses patógenos adquiriram resistência a carbapenêmicos. Entre as *Enterobacteriaceae*, a resistência a  $\beta$ -lactâmicos, incluindo resistência a carbapenêmicos, é causada principalmente pela degradação enzimática pelas  $\beta$ -lactamases. Duas subclasses de carbapenemase são especialmente problemáticas: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) e New Delhi metalo- $\beta$ -lactamase-1 (NDM-1). A NDM-1 foi descrita pela primeira vez em 2008, embora estudos retrospectivos tenham identificado a NDM-1 a partir de 2006 (Castanheira et al., 2011) e são abundantes em amostras de água de Nova Delhi (Walsh et al., 2011). A maioria dos pacientes dos quais a NDM-1 é isolada tem uma ligação epidemiológica com o subcontinente indiano, mas a NDM-1 também se tornou endêmica recentemente nos Bálcãs e no Oriente Médio (Dortet et al., 2014). A caracterização genômica de NDM-1 e KPC mostraram alta similaridades nos resultados indicam rápida disseminação da resistência a carbapenêmicos entre cepas investigadas em um estudo realizado com amostras de Paquistão e Estados Unidos (Pesesky et al., 2015).

A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) foi identificado em 2001 (Yigit et al., 2001), tornou-se endêmico em várias áreas do mundo, incluindo os Estados Unidos, Israel, Grécia, América do Sul e China (Munoz-Price et al., 2013). As *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenêmicos são uma preocupação significativa para a saúde pública. Os genes que codificam a KPC contribuíram para a disseminação global da resistência aos carbapenêmicos.

*Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenêmicos são um sério desafio para o manejo clínico e a saúde pública. KPC e NDM representam duas importantes famílias de carbapenemases, que conferem resistência a quase todas as moléculas, incluindo os carbapenêmicos, nas *Enterobacteriaceae*.

Embora isolados que produzem enzimas KPC ou NDM tenham sido relatados em todo o mundo, isolados que produzem as duas enzimas raramente foram detectados na mesma cepa antes. As duas principais carbapenemases em uma única cepa pode ser significativa, pois pode conferir níveis mais altos de resistência a carbapenêmicos (Wu et al., 2015). Os primeiros casos clínicos de New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase em micro-organismos foram descritos em Porto Alegre em um isolado de *Providencia rettgeri* (Rozales et al., 2014) e na Bahia, tendo sido o Brasil o país que confirmou a presença do gene *bla<sub>NDM</sub>* (Barberino et al., 2018).

### **Polimixinas**

Resistência à colistina mediada por mutações cromossômicas e, mais recentemente, por genes *mcr* transportados pelo plasmídeo, está sendo cada vez mais relatados em isolados bacterianos de humanos, animais, fazendas, alimentos e meio ambiente (Osei Sekyere, 2018). Resistência à colistina mediada por cromossomos através das mutações, inserções, resultam na adição de grupos de 4-amino-4-desoxi-L-arabinose (L<sub>Ara</sub>-4N), fosfoethaloamina (PEtN) ou galactosamina aos grupos fosfato aniônicos na posição 4' ou 1' do lipídio A, que é o local de ligação das polimixinas, polipeptídeos que incluem colistina e polimixina B (Esposito et al., 2017). A adição de qualquer uma destas três moléculas ao lipídio A reduz as suas cargas aniônicas e impede a colistina catiónica de se ligar e iniciar a lise e a morte celular. A rápida expansão e disseminação do gene *mcr* através das espécies bacterianas e fronteiras regionais é uma das principais causas de preocupação, ressaltando a urgência de um diagnóstico melhor, mais simples e mais barato, ferramentas que podem detectar rápido e efetivamente resistência à colistina. Entre as ferramentas de diagnósticos atualmente disponíveis destaca-se o ensaio de PCR multiplex, os testes de PCR em Tempo Real Taqman ou SYBR Green que pode ser usado diretamente em culturas ou em atividades biológicas e ambientais, apresentando alta sensibilidade e especificidade (Osei Sekyere, 2018).

O gene codificado em plasmídeo *mcr-1* confere resistência bacteriana ao antibiótico colistina, que é utilizado como uma medicação de último recurso para infecções resistentes a múltiplos medicamentos. De acordo com o SENTRY, 1,9% das *E. coli* isoladas mundialmente são resistentes a colistina, das quais poucas foram positivas para o *mcr-1*. Foram resistentes apenas 19 isolados oriundos de Bélgica, Brasil, Alemanha, Hong Kong, Itália, Malásia, Polônia, Rússia e Espanha (Vasquez et al., 2016).

O mecanismo de resistência à colistina mediada pelo plasmídeo *mcr-1* tornou-se um grande desafio para a saúde pública em todo o mundo. Identificado inicialmente em

Enterobacteriaceae na China (Nang et al., 2019), o *mcr-1* também foi relatado em outros países como na Ásia, África, Europa e América do Norte (Nagn et al., 2019). Na América do Sul, a *E. coli* contendo o gene *mcr-1* está presente na Argentina (Martino et al., 2019) e no Brasil, cujo primeiro relato do plasmídeo IncX4 disseminado mundialmente portando o gene *mcr-1* em uma *Escherichia coli* resistente a colistina ST101 isolada de uma infecção humana no Brasil se deu em São Paulo (Fernandes et al., 2016).

Devido ao rápido aumento de resistência aos carbapenêmicos em bactérias gram-negativas, ressurgiu a importância de antibióticos de polimixina. Uma recente descoberta de resistência à polimixina mediada por plasmídeos (*mcr-1*) em Enterobacteriaceae resistentes a carbapenêmicos atua como um indicador importante de que a doutrina dos antibióticos está sob séria ameaça. A avaliação de uma combinação tripla de polimixina B, aztreonam e amicacina foi capaz de erradicar o gene *mcr-1* em *E. coli*, o primeiro isolado relatado nos Estados Unidos a produzir *mcr-1* e NDM, tanto em bactérias com baixas como em altas concentrações de antibióticos. Este achado sustenta a idéia de que a polimixina B ainda pode ser um componente importante do tratamento em combinação com outros antimicrobianos para organismos portadores de microrganismos cujas concentrações inibitórias mínima (MICs) de polimixina estão tipicamente ao redor do limite de suscetibilidade (Bulman et al., 2017).

## 2.8 Infecção fúngica de corrente sanguínea de pacientes com câncer

As infecções fúngicas invasivas são complicações comuns com risco de vida e uma das principais causas de morbidade, particularmente em pacientes com doenças malignas. *Candida* spp. é o fungo isolado mais comum na corrente sanguínea (Alves et al., 2018). Além disso, a *Candida parapsilosis* representa uma grande ameaça para pacientes com câncer, apresentando nutrição parenteral, neutropenia, recebimento de quimioterapia e uso prévio de antifúngico como fatores de risco (Sun et al., 2020).

Um estudo retrospectivo em um centro de oncologia mostrou que *C. glabrata* foi a espécie mais frequentemente isolada, seguida por *C. albicans* e *C. parapsilosis* em pacientes com tumor sólido, mostrando-se sensíveis ao fluconazol (58%), todas as *Candida* spp. e 90,0% das cepas foram sensíveis à anidulafungina (Szymankiewicz, Nowikiewicz, 2020).

Um estudo russo em pacientes com câncer hematológico ao longo de 12 anos (2006-2017), revelou que a candidemia causada por *C. albicans* prevaleceu em pacientes da faixa etária mais avançada (mediana 56,5 anos) e em pacientes com linfoma (61,5%). O isolamento de *C. não - albicans* da hemocultura foi mais comum em pacientes com leucemia aguda (51%).

Neste estudo ainda mostrou que a sobrevivência geral em pacientes com candidemia causada por *C. albicans* e *C. não - albicans* em 30 dias foi de 61,2% e 61,5%, respectivamente (Klyasova et al., 2019).

Na Itália, fungemia foi documentada em 81% em pacientes com malignidades hematológicas, cuja taxa de mortalidade foi de 70%, associado ao choque séptico, já a remoção do cateter venoso central (CVC) foi associada ao aumento da sobrevivência, considerada protetora (Criscuolo et al., 2019).

Infecções sistêmicas por *Candida* spp. têm sido comum entre pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com tumores sólidos. Pacientes com tumores sólidos eram mais propensos a serem hospitalizados, a ter um escore de Charlson significativamente maior e a serem submetidos a uma remoção do cateter venoso central (CVC) significativamente mais tarde do que aqueles sem tumores sólidos. Além disso, a mortalidade em 30 dias foi significativamente maior em pacientes com tumor sólido (49%) do que em pacientes sem tumor sólido (36%), o choque séptico foi um fator de risco independente para mortalidade em ambos os grupos de pacientes (Orsetti et al., 2019).

Leucemia aguda, presença de cateter venoso central e neutropenia nos 3 dias anteriores à ICS foram considerados fatores de risco significativos para infecções emergentes por fungo (Kim et al., 2018).

As características e os fatores de risco associados à mortalidade durante a candidemia diferem em pacientes com neoplasias hematológicas daqueles com tumores sólidos. Além disso, a chance de infecção por uma determinada espécie de *Candida* tem sido influenciada não apenas pela doença subjacente do paciente, mas também pela hospitalização na UTI e pela pré-exposição a antifúngicos (Lortholary et al., 2017).

## **2.9 Abordagem diagnóstica de infecções em corrente sanguínea de pacientes com câncer**

### ***Diagnóstico em infecção bacteriana***

A avaliação rápida e o tratamento apropriado com antibióticos de amplo espectro são considerados obrigatórios para pacientes oncológicos principalmente durante episódios de neutropenia febril. Diagnóstico de infecção da corrente sanguínea causadas por bactérias e leveduras de rotina com métodos tradicionais de identificação e suscetibilidade requer, acima de tudo, tempo (She et al., 2019).

A hemocultura ainda é o método padrão de diagnóstico microbiológico de ICS. No entanto, esta técnica apresenta algumas limitações, como baixa sensibilidade, longo tempo para

detecção, falha na identificação de microrganismos e patógenos intracelulares obrigatórios ou de crescimento lento, além de bactérias ou leveduras e atraso substancial ou mesmo falha na detecção de microrganismos envolvidos em BSIs quando o paciente já recebeu antimicrobianos (Peker et al., 2018). O diagnóstico baseado em cultura é lento, cujo tratamento antimicrobiano empírico de amplo espectro precisa ser iniciado imediatamente. Portanto, a rápida detecção e identificação do(s) patógeno(s) é necessária para otimizar o efeito terapêutico da terapia antimicrobiana e para desescalar a terapia iniciada para limitar os danos colaterais, como toxicidade, efeitos colaterais e seleção de resistência antimicrobiana. Além disso, o longo tempo de resposta também pode resultar em diagnóstico clínico específico tardio, maior tempo de internação, maior taxa de complicações e, portanto, aumentar os custos médicos (Peker et al., 2018).

Em contraste, procedimentos moleculares baseados em DNA podem oferecer diagnóstico mais rápido e confiável.

Um estudo realizado na Alemanha verificou o impacto da Multiplex-PCR no sucesso do tratamento antimicrobiano em neutropenia febril, e apontam que o tempo de diagnóstico e a mudança da terapia antimicrobiana foram feitas em aproximadamente 21h para o grupo do estudo. Portanto, o uso da PCR acelerou o diagnóstico para mudanças na terapia antimicrobiana em pacientes com NF (Idelevich et al., 2015).

A amplificação de genes microbianos por PCR convencional ou PCR em tempo real usando corantes ou sondas fluorescentes atuam como diagnóstico rápido permitindo a identificação de micro-organismos dentro de algumas horas, podendo ser realizada por meio de algoritmos de PCR, *microarrays* de oligonucleotídeos específicos, sequenciamento metagenômico de próxima geração (mNGS) e PCR digital de gotículas (ddPCR) mostraram grande potencial na detecção de patógenos para pacientes com suspeita de ICS (Hu et al., 2021).

O emprego da amplificação de genes rRNA que codificam sequências de DNA do fragmento amplificado tem sido bastante valioso para identificação do micro-organismo. Em bactérias, existem três genes que compõem a funcionalidade rRNA, 5S, 16S e 23S. O gene 16S rRNA tem sido mais comumente empregado para fins de identificação, devido ao fato de estar altamente conservado e com um número de cópias moderado, dependendo do gênero. Os genes 16S rRNA são encontrados em todas as bactérias e acumulam mutações a uma taxa lenta e constante ao longo do tempo (Johnson et al., 2019).

O ensaio de PCR em tempo real multiplex baseado em TaqMan é um método eficaz para a detecção de infecção microbiana e tem uma alta qualidade de reprodução. Tem sido amplamente utilizado na pesquisa de expressão gênica e detecção microbiana. A sequência do

gene 16S rDNA é composta por regiões conservadas e variáveis. As regiões conservadas são altamente conservadas em todas as bactérias, diferentes bactérias podem ser distinguidas pela análise de 16S rDNA usando primers especiais (Liu et al., 2018).

A sensibilidade da PCR em tempo real multiplex baseada em TaqMan pode atingir de 96% em uma concentração de  $1 \times 10^2$  UFC/mL, e 100% em uma concentração  $>1 \times 10^3$  UFC/mL (Liu et al., 2018).

O ensaio de PCR em tempo real multiplex baseado em TaqMan com alta sensibilidade, especificidade e ampla faixa de detecção é um método rápido e preciso na detecção de patógenos bacterianos da sepse e deve ter um uso promissor no diagnóstico de sepse (Liu et al., 2018). A utilização da PCR em tempo real como diagnóstico de bacteremia em pacientes pediátricos oncológicos foi aplicado para diferenciação entre gram-positivo e gram-negativo por *TaqMan* multiplex PCR em tempo real e a detecção de genes de resistência por *SYBR Green* monoplex PCR em tempo real (Quiles et al., 2015).

Outros métodos moleculares como MicroScan que consiste em reações em cadeia de polimerase quantitativas paralelas visam 40 microrganismos, três determinantes de resistência a antibióticos, é executado em uma plataforma totalmente automatizada que realiza extração de ácido nucleico e preparação de placas, podendo atingir uma especificidade de (95,1 a 98,2%) e sensibilidade (76,7 a 85,1) (Grosso et al., 2021). No entanto, eleva o custo, limitando o uso na rotina clínica para o diagnóstico de infecções.

### ***Diagnóstico em infecção fúngica***

As infecções fúngicas invasivas (IFI) são uma causa primária de morbidade e mortalidade em pacientes com neoplasias hematológicas, desta forma um diagnóstico precoce e o início da terapia antifúngica apropriada são essenciais para o resultado clínico (Ruhnke et al., 2018). A cultura e o exame microscópico continuam sendo o "padrão ouro", mas apresentam baixas sensibilidades (Lass-Flörl, 2017).

Devido ao aumento de IFI novas ferramentas diagnósticas rápidas e precisas são necessárias para reduzir a morbimortalidade. Os últimos avanços no diagnóstico de candidíase invasiva compreendem a hibridização in situ fluorescente com ácido nucleico peptídico (PNA-FISH), MALDI-TOF direto ou teste de ácido nucleico multiplex. Apesar destes testes serem robustos, dependem de hemoculturas positivas. O T2Candida usa PCR acoplado ao T2Magnetic para detecção de ressonância diretamente no sangue total, permitindo a detecção de 1-3 UFC /

mL de *Candida* em cerca de quatro horas. Apesar de ser um teste de detecção rápido, o custo ainda é muito alto (Ibáñez-Martínez et al., 2017).

Dentre as técnicas mais utilizadas para diagnóstico de infecção fúngica estão, técnicas de cultivo, que apresentam resultados confiáveis, testes de identificação mais rápida até o nível de espécie, com a espectrometria de massa de tempo de voo de dessecção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS), um método mais preciso e rápido (em comparação com testes bioquímicos) para identificação de rotina. Testes de sensibilidade antifúngica devem ser realizados e os isolados clínicos com suspeita de apresentar resistência devem ser testados com uma metodologia de referência e / ou teste de sensibilidade molecular (Ruhnke et al., 2018).

A detecção de (1 → 3) β-D-glucano (BG) tem o potencial de identificar infecções fúngicas invasivas causadas por *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Acremonium* spp. e *Pneumocystis jirovecii* e micose endêmica. No entanto, as concentrações de BG são geralmente baixas ou ausentes em pacientes com infecções criptocócicas, e BG geralmente está ausente em pacientes com mucormicose, uma vez que esses fungos não produzem BG. A sensibilidade pode variar de 55-100%, especificidade de 87% -93% (Ruhnke et al., 2018).

O uso de 1,3-beta-D-glucana (BDG) pode ajudar a estabelecer o diagnóstico em um estágio inicial da doença e monitorar o tratamento (Nucci et al., 2019).

A detecção de fungos em amostras de tecido por métodos moleculares mostra-se útil (Fleischhacker et al., 2012). A utilidade da PCR parece ainda maior usando um espaçador transcrito interno (ITS-1) PCR panfúngico direcionado à região. O sequenciamento fúngico direcionado para o diagnóstico independente de cultura apresenta alta especificidade e sensibilidade (> 95%) (Trubiano et al., 2016).

## **2.10 Abordagem antibiótico-terapêutica em infecções bacterianas em pacientes com câncer**

A profilaxia antibacteriana com fluoroquinolonas tem sido comumente usada em pacientes com câncer cursando neutropenia. O uso de fluoroquinolonas tem sido associado à redução da ICS por Gram-negativos e melhora da sobrevida entre os pacientes com leucemia aguda (Kern et al., 2018). Além de não ter implicação sobre a mortalidade, ao contrário tem sido associada com menor taxa de infecções da corrente sanguínea e episódios de febre durante neutropenia (Mikulska et al., 2018).

Como a maioria das infecções durante NF são predominantemente causadas por Gram-negativos, as cefalosporinas de terceira geração, os carbapenêmicos ou às cefalosporinas com inibidores da anidrase têm sido recomendados como a escolha inicial ideal para a terapia empírica. A aplicação precoce de antibióticos e as medidas de prevenção de infecção bem como bons cuidados clínicos são capazes de melhorar os resultados do tratamento antibiótico empírico em pacientes com malignidades hematológicas (Zhai et al., 2015).

O uso de sulfametoxazol-trimetoprim (SMZ-TMP) tem sido recomendado para prevenir infecções por *Pneumocystis jiroveci*, *Listeria*, *Legionella*. E o uso de alemtuzumab pode ser estendido como profilaxia para *Nocardia* e outras bactérias encapsuladas (Hugles et al., 2002). No entanto, a profilaxia deve ser realizada com cautela de modo a evitar a resistência antimicrobiana.

As infecções bacterianas por Gram-negativas que ocorrem durante episódios neutropênicos febris em pacientes onco-hematológicos devem ser tratadas inicialmente com anti pseudomonal não baseado em carbapenêmico levando em consideração a administração antimicrobiana. Entretanto, vale salientar que, alguns pacientes com resistência à carbapens tratados tanto com colistina como monoterapia quanto a administração de colistina combinada com rifampicina ou até mesmo colistina combinada com sulbactam-cefoperazona levaram uma taxa de mortalidade de 50% (Gedik et al., 2014).

Embora regimes antibióticos rápidos e precisos de primeira linha possam garantir melhores resultados em pacientes com NF, o aumento da incidência de resistências a antibióticos e mudanças na epidemiologia dos patógenos requerem melhores estratégias de tratamento em pacientes com NF, especialmente para a abordagem empírica inicial. Enquanto a monoterapia se tornou o regime padrão na abordagem empírica, ainda não está claro se a terapia combinada deve ser usada para prevenir o desenvolvimento de resistência múltiplas drogas (MDR) (Zhai et al., 2015).

A monoterapia empírica de cefalosporinas de terceira geração e carbapenêmicos ou a combinação de terapia foram relatados como bastante promissores. A diretriz de medicamentos antibióticos para pacientes com NF recomendou sulbactam / cefoprazona, piperacilina / tazobactam, cefepima, ceftazidima ou carbapenem incluindo meropenem imipenem como a primeira escolha para o inicial tratamento. No entanto, muitos médicos preferem escolher um regime de combinação para pacientes com NF comparável com um risco baixo baseado na disponibilidade, custos, facilidade de administração antibiograma (Zhai et al., 2015).

A terapia empírica antimicrobiana é sempre usada em pacientes com NF, mesmo sem evidências microbiológicas. Embora, estudos mostrem que a suspensão de antibióticos em

pacientes com LMA neutropênica tratados para um primeiro episódio de NF e em febre de origem desconhecida é segura e resulta em economia significativa de antibióticos (Van de Wyngaert et al., 2019; Le Clech et al., 2018).

É importante enfatizar que o ideal seria tratar a infecção sabendo a espécie do patógeno, e desta forma minimizar falhas terapêuticas e resistência bacteriana.

### **2.11 Abordagem antimicótico-terapêutico em infecções fúngicas em pacientes com câncer**

O tratamento com complexo lipídico da anfotericina B, a anfotericina B convencional, a anfotericina B lipossomal, o itraconazol e o voriconazol tiveram uma taxa significativamente menor de mortalidade relacionada à infecção fúngica quando comparado a nenhum tratamento antifúngico (Chen et al., 2017). A caspofungina parece ser o agente mais eficaz para todas as causas de mortalidade relacionada à infecção fúngica, enquanto a micafungina tende a ser superior para a resposta ao tratamento. Assim como, as equinocandinas parecem ser os agentes mais eficazes para o tratamento empírico de pacientes neutropênicos febris com base na mortalidade e na resposta ao tratamento (Chen et al., 2017). O tratamento com equinocandina tem sido associado a aumento da sobrevida em comparação com outros antifúngicos entre pacientes com candidemia *C. albicans* (88,9% vs 40%,  $p = 0,02$ ) e entre *C. não - albicans* (77,3% vs 47,8%) (Klyasova et al., 2019).

Antifúngicos não azólicos, incluindo caspofungina e anfotericina B lipossomal devem ser preferencialmente utilizados como antifúngicos empíricos terapêuticos nos eventos de possíveis ou prováveis infecções fúngicas invasivas, com ausência de achados pulmonares devido ao aumento da resistência ao azol (Gedik et al., 2014).

Parcerias entre a indústria, reguladores e médicos são essenciais para acelerar novos diagnósticos e novos agentes antifúngicos trazer novos diagnósticos e opções de tratamento parecer ser urgentemente necessário para a prática clínica.

### **2.12 Tempo e o custo de hospitalização e do tratamento em pacientes com câncer**

O tempo de hospitalização constitui um importante fator de gravidade clínica e consumo de recursos de saúde. O tempo prolongado de hospitalização está geralmente associado a episódios mais graves de NF bem como maiores gastos financeiros. O tempo prolongado de internação pode aumentar o atraso do tratamento do câncer e aumentar o risco de infecções causadas por bactérias multidroga resistentes, uma permanência hospitalar prolongada está

frequentemente associada à exposição e a perda de funcionalidade aos antibióticos (Ballouz et al., 2017), cujo período de internação em pacientes oncológicos pode atingir 310 dias (Feliciano et al., 2020).

Os custos dos cuidados relacionados à neutropenia em um estudo retrospectivo de coorte nos EUA foram de US \$ 12.397 (IC 95% US \$ 10.274 - US \$ 14.574) maior para neutropenia US \$ 14.407 (US \$ 12.367 - US \$ 16.743) *versus* pacientes de comparação US \$ 2.010 (US \$ 1.490 - US \$ 2.553). O custo total médio por paciente foi de \$ 12.335 (desvio padrão [DP] = 14.602; intervalo de confiança de 95% [IC] = 11.803 a 12.851). O custo médio por dia por paciente foi de \$ 325,50 (DP = 246,30, IC 95% = 316,60 a 334,30) (Martins Rozman et al., 2021). O custo médio do tratamento para neutropenia febril em um período de cinco meses na Bosnia e Herzegovina foi de € 30.000 euros ou € 1.0035 euros por episódio/paciente. Os custos mais elevados são alocados para internação hospitalar (40%), enquanto os restantes dos custos são gerados por exames laboratoriais e aplicação de medicamentos. A maioria dos episódios de NF tende a aparecer após o segundo e terceiro ciclo (22% e 26% respectivamente). Total de dias hospitalares consumidos consiste em de 180, com média de 6,7 dias de hospitalização (Catic et al., 2016).

Um estudo realizado no EUA observou que os custos das hospitalizações por neutropenia relacionadas ao câncer são substancialmente altos. Cerca de 91.560 e 16.859 internações por neutropenia relacionadas ao câncer entre adultos e crianças, respectivamente. O custo total de internações por neutropenia relacionada ao câncer chega a US \$ 2,3 bilhões para adultos e US \$ 439 milhões para crianças. As hospitalizações por neutropenia relacionada ao câncer tem sido responsáveis por 5,2% de todas as hospitalizações relacionadas ao câncer e 8,3% de todos os custos de hospitalização relacionados ao câncer (Tai et al., 2017).

Para adultos, o tempo médio de internação por neutropenia relacionada ao câncer equivale a 9,6 dias, com um custo hospitalar médio de US \$ 24.770 por estadia. Para as crianças, esse tempo médio de internação tem sido similar com 8,5 dias, apresentando um custo hospitalar médio de US \$ 26.000 por estadia. Esforços para prevenir e minimizar complicações relacionadas à neutropenia entre pacientes com câncer podem diminuir hospitalizações e custos associados (Tai et al., 2017).

A comparação de itens de custo entre casos e controles de infecções da corrente sanguínea associadas ao cateter central CLABSI e controles não CLABSI mostrou diferenças significativas, para produtos farmacêuticos (2.117 € vs. 1541 €;  $p = 0,001$ ), enfermeiras (7.083 € vs. 6.061 €;  $p = 0,003$ ) e produtos médicos (3.451 € vs. 2.838 €;  $p = 0,02$ ) (Baier et al., 2020).

Entretanto, medidas podem ser eficazes para reduzir os custos hospitalares, e consequentemente o tempo de hospitalização e a taxa de mortalidade. Um estudo implementou em uma clínica hospitalar um mapeamento do processo de práticas para reconhecimento e gestão da sepse, chamado o manejo da sepse em um hospital especializado em câncer. Esse manejo da sepse foi associado a uma melhora significativa nos resultados dos pacientes e redução de custos e a uma melhoria significativa na mortalidade por todas as causas em 30 dias. A implementação do mapeamento resultou em pelo menos uma redução média de \$ A8363 no custo de hospitalização por paciente (Thursky et al., 2018).

### **2.13 Mortalidade em pacientes com câncer**

A taxa de mortalidade em pacientes com câncer com ICS geralmente é alta devido aos fatores associados, dentre eles, sepse e choque séptico são as principais causas de mortalidade durante a neutropenia induzida por quimioterapia para doenças malignas. Há uma taxa significativamente maior de bacteremia, potencialmente resultando em sepse, em pacientes com neutropenia grave e naqueles com neutropenia com duração superior a sete dias. Além disso, leucemia aguda, internação hospitalar prolongada, cirurgia prévia, doença avançada ou pré-tratamento com antibióticos ou quimioterapia têm sido significativamente associados a ICS, sepse e choque séptico em pacientes com neutropenia pacientes oncológicos (Kochanek et al., 2019).

A taxa de mortalidade associada à sepse varia de 2,2% entre pacientes com câncer e 15,2% em pacientes sem câncer nos EUA (Hensley et al., 2019). Diferentemente de um estudo realizado no Líbano em pacientes com câncer que apresentaram mortalidade hospitalar em 28 dias (49,4%) foi maior em relação à pacientes sem câncer (26,1%) (Abou et al., 2017). A taxa de mortalidade geral em 30 dias em ICS causada por *Escherichia coli* em pacientes com câncer constituiu 7,1% (Trecarichi et al., 2019).

Um estudo multicêntrico observacional após um acompanhamento médio de 80 dias, revelou uma taxa de mortalidade de 12,5%, cuja sobrevivência global de três meses foi significativamente menor para pacientes colonizados com bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenemases e VRE em comparação com aqueles colonizados com enterobactérias produtores de ESBL (Cattaneo et al., 2018).

A mortalidade geral em câncer hematológico tem sido superior (40,5%) do que em pacientes com tumor sólido (37,5%), com a maioria dos óbitos ocorrendo nos primeiros 30 dias (Sierra et al., 2020). A mortalidade em 30 dias poderia variar de 22% a 70% quando os pacientes

não recebem um tratamento antimicrobiano adequado (Islas-Muñoz et al., 2018). Um estudo na China aponta que a não remissão de malignidades hematológicas e terapia antibiótica inicial inadequada foram fatores de risco independentes para mortalidade em 30 dias em pacientes infectados com *Escherichia coli* produtoras de ESBL com neoplasias hematológicas nos últimos cinco anos (Zhang et al., 2018).

Portanto, a taxa de mortalidade tem sido alta em pacientes com malignidades hematológicas infectados com Enterobacteriales resistente a carbapenêmicos, principalmente no caso de leucemia mieloide aguda e neutropenia não resolvida, devido ao manejo empírico inadequado e administração retardada de antibióticos direcionados, como tigeciclina, colistina ou novas associações de drogas ativas (Lalaoui et al., 2020).

Não muito diferente da bacteremia, a taxa de mortalidade devido a candidemia em pacientes com câncer mostra-se elevada (48,4%) tanto em um período de 30 dias quanto durante a toda a internação (61,3%) (Szymankiewicz e Nowikiewicz, 2020). O uso extensivo de profilaxia antifúngica reduziu as candidemia, embora ainda estejam associadas a altas taxas de mortalidade (Pagano et al., 2017), assim como, tem sido relatado a mortalidade na China por candidemia (30%) por 30 dias (Li et al., 2017).

### **3 HIPOTESE**

Fatores de risco estão associados à infecção de corrente sanguínea causadas por bactérias multidroga resistentes em portadores de câncer de hospital especializado no estado de Pernambuco

#### 4 JUSTIFICATIVA

ICS é uma complicação séria e pode ser potencialmente fatal em pacientes com câncer em tratamento quimioterápico. Essa gravidade se torna maior em pacientes neutropênicos febris com suspeita de infecção o qual devem ser investigados rapidamente e tratados empiricamente de forma adequada para reduzir os riscos de mortalidade. O diagnóstico de ICS é normalmente difícil e demorado através de hemocultura.

A mortalidade por ICS tem sido associada com atraso no diagnóstico e ao tratamento empírico muitas vezes inadequado e que frequentemente deve ser ajustado posteriormente de acordo com o resultado da hemocultura, a presença de comorbidades, tempo prolongado de internamento têm sido caracterizado fator de risco para infecção da corrente sanguínea de pacientes com câncer. Bactérias multidroga resistentes representam uma ameaça constante para esta população elevando o risco de mortalidade. Micro-organismos MDR são responsáveis pelo aumento da morbimortalidade dos pacientes hospitalizados, ocasionando um grande aumento nos gastos com saúde devido à prescrição de medicamentos mais caros e ao longo período de internação. O fenômeno da multirresistência bacteriana tem atingido os países de forma global e é um dos 10 problemas de saúde pública elencados pela OMS nos últimos anos. De acordo com a OMS, se ações não forem tomadas para combater este grave problema estima-se que até 2050 o problema causará, anualmente, 10 milhões de mortes em todo o mundo, além de um prejuízo econômico de 100 trilhões de dólares (OMS, 2020).

Diante disso é fundamental conhecer a etiologia das ICS, investigar o perfil de resistência antimicrobiana e os possíveis genes de resistência para traçar a terapia empírica de forma correta a fim reduzir a taxa de mortalidade nessa população.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo Geral**

Descrever os fatores relacionados à infecção de corrente sanguínea, frequência dos agentes etiológicos, detecção de genes de resistência, mortalidade, tempo e custo de internamento hospitalar em pacientes oncológicos assistidos em hospital de referência do estado de Pernambuco.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a frequência, a etiologia e o perfil de resistência aos antimicrobianos no desfecho de ICS causada por patógenos MDR em pacientes oncológicos;
- Detectar os genes de resistência bacterianos em isolados de ICS em pacientes oncológicos;
- Avaliar os fatores de riscos associados à infecção na redução dos custos do tratamento, no tempo de hospitalização e na redução da taxa de mortalidade dos pacientes oncológicos;
- Comparar o grau de concordância entre os resultados de isolados bacterianos resgatados de ICS através de automação com os resultados de análise genotípica através de PCR, relacionando aos fatores tempo de hospitalização e morte em 30 dias.

## **6 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **6.1 Desenho do estudo**

Foi desenhado um estudo de coorte transversal, prospectivo, no qual todos os pacientes foram acompanhados, após a inclusão, por todo período da internação. Os pacientes oncológicos diagnosticados com ICS foram convidados a participarem do estudo, ao concordarem, todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo II).

### **6.2 População do estudo**

Foram elegíveis a participar do estudo pacientes oncológicos  $\geq 18$  anos com ICS, internados no Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), após concordarem em participar da pesquisa e assinarem o TCLE.

### **6.3 Local do estudo**

O HCP é responsável por cerca de 60% de todo o atendimento de casos de câncer do Estado de Pernambuco. O hospital dispõe de 274 leitos, onde atende pacientes cirúrgicos de diversas especialidades oncológicas além de oncologia clínica e pediátrica, 10 leitos de terapia intensiva, 20 leitos de terapia intensiva para SRAG/COVID e seis leitos de terapia intensiva para pós-operatórios. Há ainda 22 leitos para o serviço de urgência e 32 leitos para a unidade de oncologia para o tratamento clínico de neoplasias hematológicas.

As coletas de amostras de sangue e a coleta de dados clínicos e epidemiológicos foram realizadas simultaneamente nas unidades de internação. Os dados epidemiológicos que não puderam ser recuperados durante a internação, foram resgatados posteriormente através de prontuários consultados do Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME), de acordo com a ficha de coleta de dados (Apêndice I).

As hemoculturas dos pacientes foram encaminhadas ao Centro Integrado de Análises Clínicas (CIAC), laboratório de apoio do HCP, e os isolados recuperados foram encaminhados ao laboratório de Microbiologia do Departamento de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – FIOCRUZ para realização dos testes de diagnóstico molecular para identificação do perfil de resistência antimicrobiana e detecção dos genes de resistência em

isolados bacterianos. E identificação dos patógenos e perfil de suscetibilidade aos isolados fúngicos.

#### **6.4 Período do Estudo**

A coleta das amostras, assim como a coleta de dados clínicos epidemiológicos foram realizados simultaneamente entre setembro de 2018 a setembro de 2020. Os dados clínicos dos pacientes foram estudados durante seu período de internação. Os isolados clínicos foram coletados a partir de hemoculturas positivas. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão arquivados no laboratório do Departamento de Parasitologia do IAM, sob a responsabilidade do pesquisador do estudo pelo período mínimo de cinco anos.

#### **6.5 Critérios de Inclusão e Exclusão**

##### **6.5.1 Critérios de inclusão**

Foram incluídos no estudo os pacientes portadores de malignidades hematológicas e tumores sólidos  $\geq 18$  anos, com bacteremia e/ou fungemia internados nas enfermarias ou Unidades de Terapia Intensiva do Hospital do Câncer de Pernambuco.

##### **6.5.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo os pacientes com resultados de hemoculturas negativos.

#### **6.6 Amostragem**

De acordo com dados retrospectivos observados durante 18 meses no HCP, observou-se um total de 82 casos de infecção bacteriana em pacientes oncológicos que representa uma prevalência de 16%. Desta forma, buscando analisar as ICS nessa população, a amostra foi calculada utilizando um erro amostral de 5%, intervalo de confiança de 95% e prevalência de 16%. Assim, foi estimado um total de 59 indivíduos, número com base em uma população finita que estaria garantindo a representatividade da população a ser estudada.

## 6.7 Definição e categorização das variáveis dependentes e independentes

### Variáveis Dependentes

#### Infecção da corrente sanguínea

ICS foi definida como o isolamento confirmado em laboratório de ao menos uma bactéria Gram-negativa ou Gram-positiva ou fungo de amostras de sangue classificadas da seguinte forma: (A) ICS Associada à Linha Central (CLAICS): Tempo de positividade entre as hemoculturas colhidas do cateter de duas horas ou mais além da hemocultura retirada de punção periférica, com sinais de infecção sistêmica (febre, calafrios e / ou hipotensão) e sem fonte aparente de infecção, exceto para o cateter, e / ou a cultura da ponta do cateter sendo positiva para os mesmos organismos (quando o cateter foi removido) e / ou sinais e sintomas de infecção do local de entrada do cateter com a mesma cepa isolada do sangue. (B) ICS secundária foi diagnosticada quando havia outra fonte de infecção, de modo que o local primário de infecção pode ter semeado a corrente sanguínea secundariamente e (C) ICS primária ocorreu quando nenhuma infecção subjacente foi diagnosticada (Islas-Muñoz et al., 2018).

Infecção persistente foi definida como a presença contínua de bactérias ou fungos na corrente sanguínea 48 horas após a administração do tratamento adequado.

Infecção polimicrobiana: quando dois ou mais microrganismos foram isolados de hemoculturas no mesmo momento da punção venosa.

### Variáveis Independentes

#### Covariáveis

#### **Neutropenia febril:**

Definição: A neutropenia foi definida como uma contagem absoluta de neutrófilos  $< 500$  células / mm<sup>3</sup> ou  $< 1000$  células / mm<sup>3</sup> com uma previsão de declínio para  $< 500$  células / mm<sup>3</sup>.

A febre foi definida de acordo com as diretrizes da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA) como um aumento da temperatura axilar para  $38,3^{\circ}\text{C}$  ou  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  para uma hora ou mais, foi considerada possível sinal de infecção e assim investigado.

#### **Demográficas**

**Sexo:** 1. Masculino 2. Feminino

Definição: sexo biológico

**Idade:** foi categorizada posteriormente por faixa etária.

Definição: data de nascimento de acordo com o momento da inclusão do participante na pesquisa, expressa em anos.

**Raça:** Cor da pele/etnia que o paciente se autodenominou ou através de prontuário.

**Comorbidade:** hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes melitus (DM), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica, demência e vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Definição: foi considerado de acordo com o diagnóstico clínico laboratorial para cada uma das enfermidades citadas, seguindo a CID-10 (Classificação Internacional de Doenças).

**Ciclo de quimioterapia:** Variável quantitativa nominal

Definição: o ciclo de quimioterapia que o paciente havia recebido por ocaso do diagnóstico de ISC.

**Uso prévio de antibiótico:** 1. SIM                    2.NÃO

Definição: se, fez uso de antibiótico (tratamento com antimicrobianos para combater as bactérias).

Variáveis Desfecho

### **Infecção de corrente sanguínea**

- Infecções primárias da corrente sanguínea (IPCS), que são aquelas infecções de consequências sistêmicas graves, bacteremia ou sepse, sem foco primário identificável. Há dificuldade de se determinar o envolvimento do cateter central na ocorrência da IPCS. Com finalidade prática as IPCS serão associadas ao cateter, se este estiver presente ao diagnóstico como descrito adiante.
- A infecção de corrente sanguínea secundária, que é a ocorrência de hemocultura positiva ou sinais clínicos de sepses, na presença de sinais de infecção em outro sítio, não será abordada neste documento. Neste caso, deverá ser notificado o foco primário, por exemplo, pneumonia, infecção do trato urinário ou sítio cirúrgico.

**Tempo de permanência na unidade de internação:** Número de dias desde a admissão na unidade até o último dia de acompanhamento ou óbito ou transferência.

**Custo de hospitalização e custo de tratamento:** Valor em reais do tratamento, diárias exames e hospitalização por paciente.

**Taxa de mortalidade:** Número total de óbitos qualquer causa / total de pacientes no período X 100.

**Taxa de mortalidade em 30 dias:** Número total de óbitos qualquer causa em 30 dias / total de pacientes no período X 100.

**Taxa de letalidade:** Número total de óbitos devido à ICS de pacientes no período X 100.

## **6.8 Métodos de coleta e Processamento dos dados**

### **6.8.1 Coleta de isolados bacterianos e fúngicos**

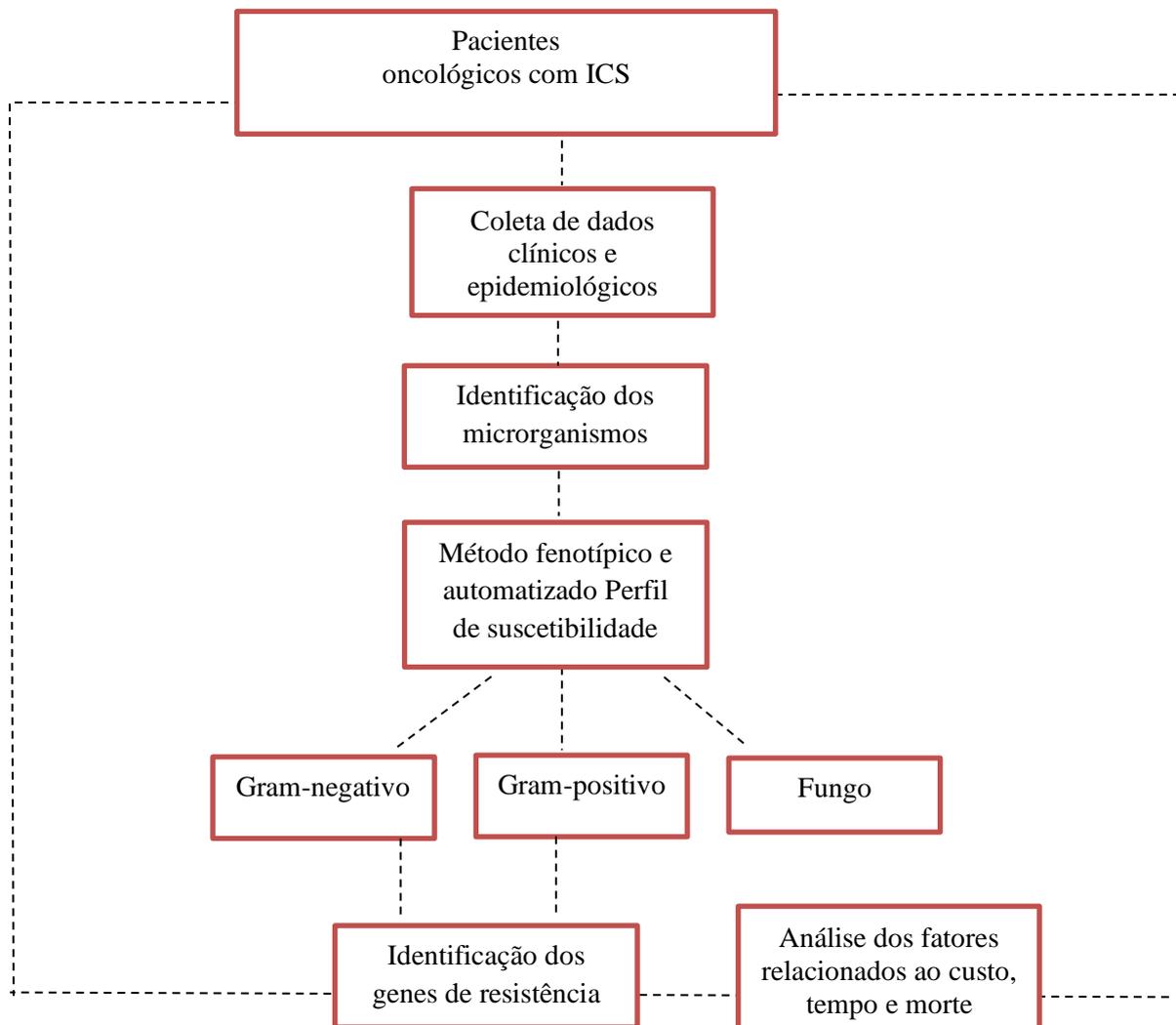
A coleta dos microrganismos foi realizada a partir do isolamento dos patógenos em frascos de hemoculturas positivados pelo BACTEC Plus Aerobic/F®. As coletas de hemoculturas foram realizadas pela equipe de enfermagem seguindo normas preconizadas pelas Comissões de Controle Infecção Hospitalar (CCIH) do HCP em todos os pacientes oncológicos com suspeita clínica de infecção. Foram coletados aproximadamente 10 mL de sangue em dois frascos BACTEC Plus Aerobic/F® e encaminhados ao CIAC para realização dos testes de diagnóstico de hemocultura, onde foram incubadas e identificadas por método bioquímico. Na persistência de febre e/ou neutropenia associada uma coleta adicional de hemocultura foi realizada a critério do médico assistente após 24 horas da primeira coleta.

Após a coleta, os frascos de hemocultura foram processados pelo equipamento Bactec 9240® (Becton Dickinson, Maryland, EUA), um sistema automatizado que realiza a monitorização contínua do crescimento bacteriano. O meio de cultura do frasco possui nutrientes que são metabolizados frente à presença de microrganismos viáveis na amostra. Esta metabolização resulta na produção de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e esta alteração pode ser detectada e interpretada pelo sistema como amostra positiva.

Todas as culturas com crescimento de bactérias ou fungos nas garrafas foram consideradas como culturas positivas e submetidas posteriormente à identificação por métodos microbianos convencionais. Foram consideradas negativas, as hemoculturas que não

positivaram no prazo de até sete dias. Todos os isolados que foram identificados por métodos fenotípicos, em seguida, foram realizados testes de perfil de suscetibilidade antimicrobiana, através do método disco de fusão. E os isolados foram encaminhados também para identificação e perfil de suscetibilidade antimicrobiana pelo sistema automatizado. Os isolados foram encaminhados ao Laboratório de Microbiologia/Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – FIOCRUZ para realização dos testes de detecção dos genes de resistência bacteriana. Pode-se observar o algoritmo da rotina das coletas e dos testes realizados no estudo (Figura 4).

Figura 4 - Algoritmo das coletas das amostras de sangue de pacientes oncológicos do HCP até a realização dos testes de diagnóstico para infecção.



Fonte: autora 2019.

### 6.8.2 Identificação fenotípica dos patógenos

A identificação dos patógenos foi realizada através de teste fenotípicos bioquímicos manuais de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e confirmados pelo sistema automatizado Vitek® seguindo o protocolo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) para interpretação dos resultados. Os métodos fenotípicos convencionais se baseiam na fermentação de glicose, lactose e sacarose, na produção de H<sub>2</sub>S, degradação da uréia, citrato, descarboxilação de lisina, produção de índol e motilidade (Konemam et al., 2008) para bactérias Gram-negativas e métodos fenotípicos que se baseiam na fermentação de carboidratos, catalase e coagulase para as bactérias Gram-positivas. A identificação dos fungos foi realizada a partir de assimilação de carboidratos, base de nitrogênio para leveduras. Os isolados cultivados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) ou Caldo Luria Bertani (LB) foram mantidos em estoque congelado 20% de glicerol.

### 6.8.3 Identificação bacteriana e Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (TSA)

A identificação e o teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) foram realizados por métodos fenotípicos por automação. Os testes para identificação automatizados (Vitek®) baseados na fermentação de carboidratos, seguiram a interpretação do manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), e a interpretação do TSA seguiu o protocolo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) para interpretação dos resultados.

### 6.8.4 Perfil de suscetibilidade antimicrobiana

O perfil de suscetibilidade foi realizado a partir do método disco difusão (Kirby-Baurer) e interpretados de acordo com o manual CLSI e foi confirmado por sistema automatizado Vitek® seguindo as recomendações do BrCAST.

O teste de suscetibilidade antimicrobiano foi determinado por disco difusão, utilizando os seguintes antimicrobianos: amicacina (30µg), ampicilina (10µg), ampicilina/sulbactam (10/10µg), aztreonam (30µg), cefepime (30µg), cefazolina (30µg), cefalotina (30µg), cefoxitina (30µg), ceftazidima (30µg), ceftriaxona (30µg), Cefuroxima (30µg), ciprofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), imipenem (10µg), levofloxacin (5µg), meropenem (10µg), amoxicilina/ácido clavulânico (20/10µg), Piperacilina–Tazobactam (100/10µg), sulfametoxazol/trimetropin (1,25/23,75µg), tetraciclina (30µg), teicoplanina (30µg) e

polimixina B (300U) foram testados para bactérias Gram-negativas. E os antimicrobianos: vancomicina (30µg), clindamicina (2µg), eritromicina (15µg), oxacilina (1µg), teicoplanina (30µg) e linezolida (30µg) foram testados para bactérias Gram-positivas.

#### 6.8.5 Extração de DNA bacteriano

##### **Extração de DNA do pellet da colônia isolada a partir do frasco de hemocultura**

O DNA genômico foi extraído a partir da colônia das espécies isoladas em placas de ágar nutriente e a extração foi realizada utilizando a PROMEGA ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System – 250 (Promega®, São Paulo, Brasil) de acordo com o protocolo do fabricante.

#### 6.8.6 Detecção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-negativos

A amplificação do DNA pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi realizada no equipamento BioRad (System, Applied Biosystems®, CA, utilizando 10 µL (1.25U/reação) TopTaq Master Mix Kit (Qiagen®, EUA) utilizando 10 µM de cada iniciador; 200 µM de cada dNTP (10mM de cada), 1x TopTaq PCR Buffer contendo 15mM MgCl<sub>2</sub>, coralLoad 1x, água ultrapura e 2 µL de DNA. As condições de termociclagem foram diferentes de acordo com os genes de resistência estudados, usando estirpes de referência de organismos, tais como, *A. baumannii* (ATCC 19606), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *K. pneumoniae* (ATCC 13882), *E. coli* (ATCC 25922), *Salmonella enterica* (ATCC 35640) foram adquiridos a partir do laboratório de referência do Departamento de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Um ensaio de PCR convencional foi realizado para detectar três famílias de genes de β-lactamases de espectro estendido (ESBL), a detecção dos genes de resistência *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>* foram realizados em todos os isolados bacterianos Gram-negativos. A PCR para detecção de ESBL foi realizada utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento 60 °C a 1 minuto e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos, para cada um dos genes estudados (Quiles et al., 2015). E a detecção do gene *mcr-1* foi realizada em todos que apresentaram resistência a múltiplas drogas. A investigação do gene *mcr-1* foi realizada utilizando os *primers* descritos

por Lima et al., (2017). As reações de amplificação foram preparadas em um volume de 25 µL por tubo, compreendendo: 1µL de DNA genômico, 1,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 3,5 pmol dos *primers*. A amplificação foi realizada sob as seguintes condições térmicas de ciclagem: 94 °C por 10 minutos seguidos de 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos e 72 °C por 2 minutos, com extensão final de 72 °C por 10 minutos.

E oito famílias de carbapenemases (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub>) foram pesquisados em todos os isolados bacterianos Gram-negativos utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 25 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento ajustado de acordo com cada primer (Menezes et al., 2013; Monteiro, 2012; Nithia et al., 2017; Mendes, 2007) e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos.

As cepas foram também submetidas a PCR para detecção de enzimas da classe D, como a oxacilinase (*bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>OXA-58</sub>), utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 94 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 94 °C a 45 segundos, anelamento 52 °C a 45 segundos e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 6 minutos (Poirel et al., 2004; Amudhan et al., 2011).

#### 6.8.7 Detecção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-positivos

Em todos os isolados Gram-positivos foram submetidos a detecção dos genes de resistência *mecA*, *vanA*, *vanB* utilizando estirpes de referência de organismos, dentre eles, *S. aureus* (ATCC 29213 e 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 6305) *S. epidermidis* (ATCC 12228) *E. faecalis* (ATCC 29212), *E. faecium* (ATCC 19434). Neste estudo foi utilizado o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento 60 °C a 1 minuto e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos (Quiles et al., 2015).

Os produtos de PCR amplificados foram corados com brometo de etídio e visualizados por eletroforese em géis de agarose a 1%, utilizando o sistema de documentação fotográfica System L-Pix EX (Loccus Biotechnology, Brasil).

#### 6.8.8 Eletroforese em Gel de Agarose

Os produtos de amplificação da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (Tris-Borato/EDTA) e voltagem constante de 100 v. Foi utilizado 10 µL do produto de amplificação, 2µL de marcador de peso molecular de 100 Pb (Invitrogen) e 1µL de tampão de corrida de eletroforese Sybr safe®. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta L-Pix EX (Loccus Biotechnology, Brasil).

#### 6.8.9 Identificação por Microdiluição em caldo e Teste de suscetibilidade a antifúngicos (AFST)

Os testes de susceptibilidade antifúngica, *in vitro*, foram realizados segundo os métodos descritos nos documentos M27-A3 e M27-S4 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2012). Para padronização do experimento, foi utilizada a cepa de referência *C. albicans* ATCC 90028. Para o teste, foi utilizado o meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) tamponado com ácido morfolino propano sulfônico, pH 7,0 ± 0,1 (MOPS; 0,165 mol. L<sup>-1</sup>; Sigma-Aldrich). As leveduras foram avaliadas quanto ao perfil de susceptibilidade frente ao fluconazol, Anfotericina B, voriconazol, caspofungina, micafungina e anidulafungina.

As leveduras foram mantidas em Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e incubadas por 24h a 37 °C. Foram preparadas suspensões dos isolados, em solução salina a 0,85%, sendo a concentração do inóculo ajustado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 530 nm, refletindo em 90% da transmitância. Em seguida, a suspensão inicial foi diluída a concentração de 2-5 x 10<sup>3</sup> células/mL em RPMI 1640. Foram utilizadas placas de micro titulação de fundo chato de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços contendo a solução dos fármacos a serem testados, e as placas incubadas a 37°C durante 24-48h. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) foram determinadas com inibição de 100% para anfotericina B e <50% em relação ao poço controle para o fluconazol e voriconazol.

#### 6.8.10 Extração de DNA fúngico

O DNA foi extraído segundo protocolo de Inácio et al., (2016), utilizando do tampão de extração (CTAB 2%, NaCl 1.5 M, 100mM de Tris-HCl, 20mM de EDTA, polivinilpirrolidona 1%) previamente aquecido a 65 °C. A parede celular foi rompida através de agitação mecânica

(velocidade de 5.5 m/s por 30s) em FastPrep® (BIO 101, Farmingdale, New York, USA) e incubada por 10min a 65 °C. O DNA foi recuperado a partir de um tratamento sequencial com base em clorofórmio álcool-isoamílico (24:1), isopropanole etanol 70%. Finalmente, foi adicionado 50µL de água MiliQ autoclavada, sendo a amostra incubada a 37 °C por 20 minutos para eluição do DNA. Os produtos da extração foram montados em parafilme (5 µL do produto da extração, 2 µL GLB e 2 µL GelRed), sendo utilizado o marcador Lambda DNA como padrão. O DNA foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em cuba de eletroforese horizontal, contendo o tampão Tris-Acetato-EDTA (TAE), sendo aplicado uma voltagem de 100v por 20 minutos. Posteriormente, o DNA foi analisado, quanto a qualidade e quantidade, em transiluminador. O material genômico foi mantido a 4 °C até o momento das análises.

#### 6.8.11 Identificação molecular das leveduras

As espécies foram identificadas a partir do sequenciamento parcial do domínio D1/D2 da região LSU (28S) do rDNA utilizando os primers NL1 (5' – GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG - 3') e NL4 (5' – GGTCCGTGTTTCAAGACGG - 3') (Kurtzman; Robnett, 1998). As amostras para sequenciamento tiveram os produtos da PCR purificados (GenJET PCR Purification - Fermentas, UK), sendo o sequenciamento realizado na Plataforma de sequenciamento-LABCEN/CCB (UFPE), segundo protocolos internos do laboratório parceiro.

### 6.9 Análise de sequenciamento

Os amplicons da diferenciação das bactérias foram sequenciados para identificar a espécie causadora de infecção na corrente sanguínea, assim como os amplicons da identificação dos genes foram sequenciados para confirmação dos genes de resistência. Na reação de sequenciamento das amostras de DNA, foi utilizado o kit Big Dye, Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems®, UK). A reação foi realizada com a adição de 1µL (3,2 pmoles/ µL) de cada oligonucleotídeos iniciadores, 0,5 µL de bigDye, 1 µL de tampão (200 mM Tris-HCl e 5 mM MgCl<sub>2</sub> pH 9.0), 10 pmoles de DNA e quantidade suficiente de água para completar 10 µl. As misturas foram incubadas a 95 °C por 5 minutos, e imediatamente incubadas no gelo. Após 35 ciclos [desnaturação (96 °C por 45 segundos), anelamento (50 °C por 30 segundos) e extensão (60 °C por 4 minutos)]. Os DNAs foram precipitados com isopropanol na concentração final de 50% (v/v), por 30 minutos a temperatura ambiente, lavados com etanol a 60% (v/v) e solubilizados em 15 µL de formamida Hi-Di (Applied

Biosystems<sup>®</sup>, UK). No sequenciador automático, modelo ABI Prism 3100 (Applied Biosystems<sup>®</sup>, UK), foi utilizado o polímero POP6 em capilares de 50 cm.

As sequências consenso foram editadas por meio do programa Sequencher 4.7, e, em seguida, submetidas a ferramenta BLAST do GenBank (National Center of Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para busca por sequências similares. As sequências obtidas foram alinhadas com sequências de confiança depositadas no banco de dados e analisadas filogeneticamente com o auxílio do programa MEGA-x.

### **6.10 Análise de tempo de custos de hospitalização**

O tempo de hospitalização foi calculado pelo número de dias que o paciente esteve internado desde a admissão até a alta/óbito ou transferência.

Para a análise dos custos durante a internação, os critérios que correspondiam ao custo de hospitalização foram: valores de custos com diárias, exames, procedimentos cirúrgicos, transfusão de hemocompetentes, uso de cateter venoso central, curativos e nutrição. Os dados sobre custos foram fornecidos pelo departamento financeiro e de controladoria com base nos prontuários dos pacientes. Os custos foram considerados como custos de toda a internação hospitalar (custos agregados da admissão à alta/óbito).

### **6.11 Análise da mortalidade e letalidade**

A taxa de mortalidade geral foi analisada pelo óbito durante o período de internamento do paciente por causas relacionadas ao câncer, neutropenia, e a outras complicações. A taxa de letalidade foi analisada pelo óbito durante o período de internamento do paciente devido à ICS.

### **6.12 Análise e processamento dos dados**

As variáveis discretas foram expressas como números absolutos e percentuais, e as variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão, ou mediana e variação interquartil. A análise das características clínicas e epidemiológicas foram feitas utilizando o teste Qui -quadrado ou exato de Fisher para as variáveis categóricas e teste *t-student* para as variáveis contínuas. Os resultados foram expressos como “odds ratios” (ORs), e os valores de

p com intervalo de confiança de 95% (IC). O nível de significância para todas as análises foi definido como  $p < 0,05$ .

### **6.13 Aspectos Éticos**

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética em Pesquisa envolvendo seres humanos, credenciado ao sistema CEP/CONEP do Centro de Ciências da Saúde CCS/UFPE, CAAE 56729016.4.0000.5208, tendo o HCP como Instituição coparticipante, CEP/HCP, CAAE 16285219.5.0000.5205, condicionada aos cumprimentos dos requisitos da resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se o(a) mesmo(a) a utilizar os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas. O parecer de aprovação encontra-se no anexo I.

## 7 RESULTADOS

7.1 Artigo 1 – Características clínicas, epidemiológicas e fatores de risco associados à infecção de corrente sanguínea por bactérias multirresistentes em pacientes oncológicos

7.2 Artigo 2 – Elevada ocorrência de carapenemases em entorobacteriales isolados de infecção de corrente sanguínea de pacientes com câncer

7.3 Artigo 3 – Tratamento com daptomicina em infecção da corrente sanguínea por *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com câncer de cólon: desfecho óbito

7.4 Artigo 4 – Coexistência de *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em isolados de infecção polimicrobiana da corrente sanguínea de uma paciente com leucemia mieloide aguda

## 7.1 Artigo 1

### **Características clínicas, epidemiológicas e fatores de risco associados à infecção de corrente sanguínea por bactérias multirresistentes em pacientes oncológicos**

#### **Resumo**

**Introdução:** Infecção de corrente sanguínea por bactérias multidroga resistentes em pacientes com câncer vem aumentando globalmente. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar as características clínicas e epidemiológicas, genes de resistência e os fatores de risco associados à bacteremia multirresistente em pacientes com malignidade hematológica e tumores sólidos. **Método:** Conduzimos um estudo transversal prospectivo em um centro de referência em oncologia de 2019 a 2020, dos quais todos os pacientes com bacteremia foram incluídos. **Resultados:** Quarenta e cinco pacientes, 27 com tumores sólidos (60%) e 18 com câncer hematológico (40%) foram incluídos, sendo leucemia linfóide aguda (44,4%) e câncer de mama (22,2%) os tipos de câncer mais frequentes. A taxa de mortalidade geral foi 53,3%, em 30 dias foi 28,8% e a letalidade por sepse foi 22,2%. As variáveis sociodemográficas, biológicas e laboratoriais foram analisadas quanto a associação de fator de risco à ICS por BGN MDR em pacientes com câncer. Na análise multivariada através de regressão logística, a presença de comorbidades ( $P=0,002$ ) estiveram associadas com ICS causadas por bactéria multidroga resistentes. O tempo médio de hospitalização foi 34 dias com um custo médio de U\$ 21.297,28. Bactérias Gram-negativas (69%) foram as mais frequentes, destacando *Escherichia coli* (25,4%) e *Klebsiella* spp. (20%). O gene ESBL mais comum foi *bla*<sub>TEM</sub>, encontrado em 57,8% das amostras (22/38). A resistência a carbapenemases foi detectada pela presença dos genes *bla*<sub>GES</sub> em 55% (21/38), *bla*<sub>NDM</sub> 39,5% (15/38) e *bla*<sub>KPC</sub> 29% (11/38). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (VRE) abrigavam os genes *mecA* (6/13) correspondendo à 46,15% das amostras e *vanA* (1/13) correspondendo à 7,7%. **Conclusão:** A condição de apresentar uma comorbidade, entre portadores de câncer, aumentou o risco de ICS por bactéria MDR.

**Palavras-chave:** bacteremia; bactérias multirresistente; câncer; fator de risco

#### **Introdução**

Infecção de corrente sanguínea (ICS) em pacientes com câncer é um problema crescente no mundo, sendo importante causa de morbidade e mortalidade (Sierra et al., 2020). Bactérias

multidroga resistentes (MDR) representam elevada ameaça para esta população (Carena et al., 2020), elevando a alto risco de mortalidade (Islas-Muñoz et al., 2018).

ICSs em pacientes portadores de neoplasias hematológicas têm sido mais comuns comparados aos pacientes com tumores sólidos, e essas infecções são causadas frequentemente por bacilos Gram-negativos (BGN) (Amanati et al., 2021). BGN não fermentativos apresentam taxas mais elevadas quando comparados a outros patógenos MDR (Diekima et al., 2019). *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* são as bactérias mais comumente isoladas (Amanati et al., 2021).

A frequência e taxa de mortalidade em ICS de pacientes com malignidades hematológicas têm sido associadas ao regime de quimioterapia, uso de antibiótico nos últimos três meses, tempo de hospitalização e uso de cateter venoso central (Mert et al., 2019). Nesse contexto, ICS tem sido reportado apresentando piores desfechos em pacientes com malignidades hematológicas durante episódios de neutropenia febril (NF) (Kern et al., 2019). Estes indivíduos apresentam maior risco de mortalidade após a quimioterapia, sobretudo em cenários de leucemias agudas (Carmen et al., 2019). Nestes casos, o tempo mais prolongado de internação frequentemente deriva em atraso do tratamento da doença oncológica, aumento do custo hospitalar, assim como maior risco de infecção causada por MDR (Lyman et al., 2014; Montassier et al., 2013).

Neste contexto, nosso objetivo foi avaliar a associação das características clínicas epidemiológicas como fatores de risco para infecção de corrente sanguínea causadas por BGN MDR em portadores de malignidades.

## **Material e Método**

Um estudo transversal prospectivo, com caráter analítico, foi realizado em pacientes com malignidades hematológicas, como leucemias agudas e crônicas, linfomas e mielomas múltiplos e tumores sólidos, admitidos no Hospital de Câncer de Pernambuco (HCP) entre 2019 e 2020. Pacientes com idade  $\geq 18$  anos com ICS apresentando ou não neutropenia febril (NF) foram recrutados após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Pacientes internados que apresentaram hemoculturas positivas com ou sem condição de NF foram elegíveis.

Neutropenia febril foi definida através de dois critérios: (I) uma única aferição de temperatura axilar  $\geq 38$  °C ou  $\geq 37,8$ °C mantida durante um período ao menos 1 hora e (II)

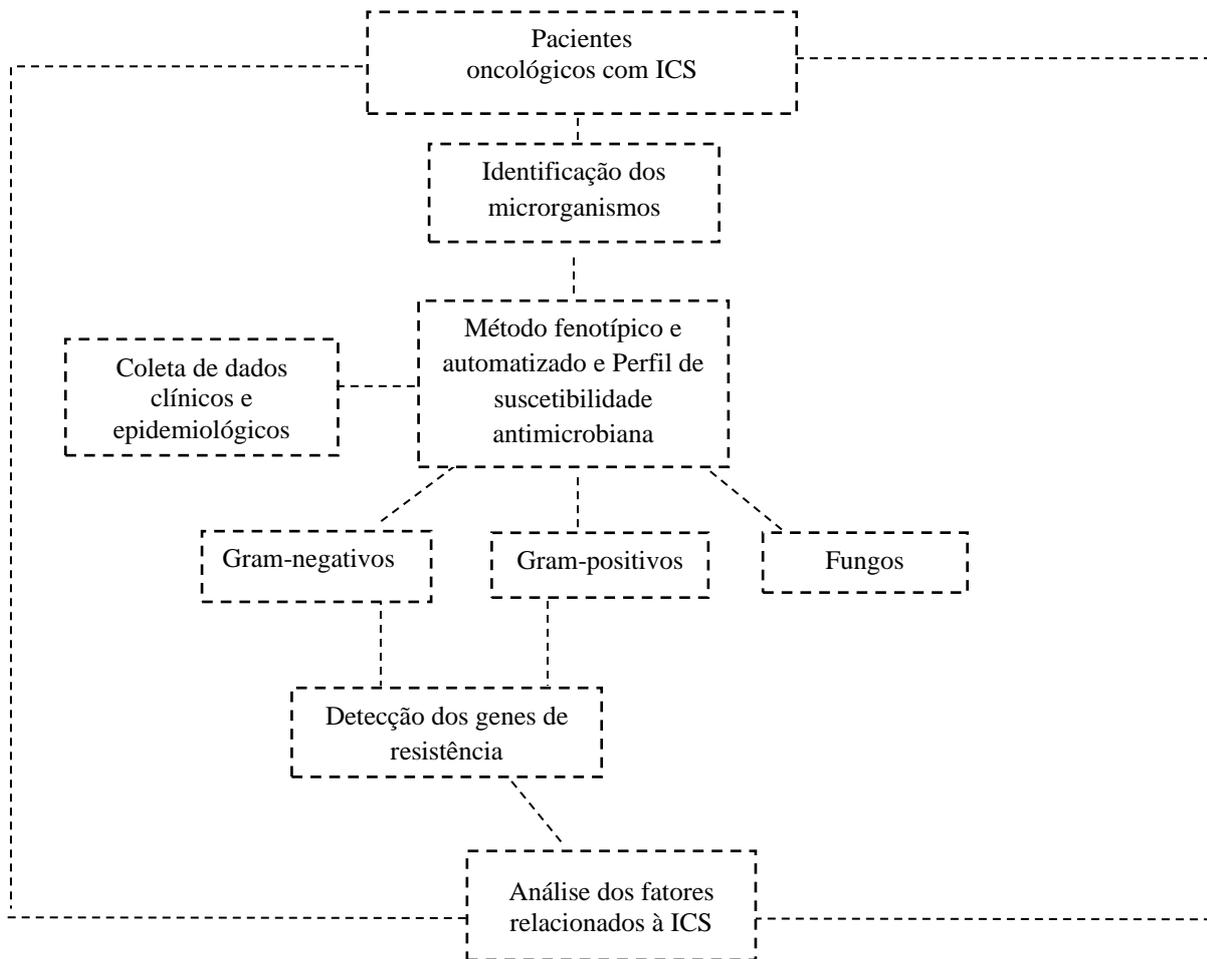
contagem absoluta de neutrófilos  $\leq 500$  células/mm<sup>3</sup> ou uma prospecção de diminuição para 500 células/mm<sup>3</sup> durante as próximas 48 horas.

ICS foi classificada quando ocorreu o isolamento de bactérias e/ou fungos em corrente sanguínea. Infecção polimicrobiana ocorreu quando se identificou dois ou mais microrganismos isolados em hemocultura. A bacteremia causada por patógenos MDR foi definida quando ocorreu o isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina ou BGN resistente a  $\geq 3$  classes de agentes antimicrobianos.

Duas amostras de sangue retiradas de uma veia e/ou cateter venoso central foram inoculadas em frascos 3D BactAlert® (bioMérieuxDiagnostics, Lyon, França). Os microrganismos isolados através de hemoculturas foram identificados por testes bioquímicos e automação. As espécies fúngicas foram identificadas por exame morfológico em placas de ágar Sabouraud dextrose (UnipathLtd., Basingstoke, UK) e identificadas por automação através do VITEK 2®.

Dados clínicos e laboratoriais como idade, sexo, raça, contagem de hemoglobina, leucócitos, neutrófilos e plaquetas, tipo de neoplasia maligna, presença de dispositivo (cateter venoso central (CVC) e periférico (CVP), sonda vesical de demora (SVD), Cateter totalmente implantado (CTI), tubo orotraqueal (TOT), presença de febre, comorbidades, uso de antibiótico profilático, tempo de terapia antimicrobiana empírica, emprego de quimioterápico, ciclo de quimioterapia, tempo de internamento, mortalidade e custo hospitalar foram avaliados a partir de exames clínicos e coleta de dados secundários (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma do recrutamento de pacientes portadores de neoplasias sólidas e hematológicas apresentando infecção de corrente sanguínea em hospital de referência.



### Identificação fenotípica, suscetibilidade antimicrobiana e estudo molecular de resistência

As amostras de sangue foram coletadas de veias periféricas distintas e/ou de cada lúmen do cateter venoso central (CVC). Foram processadas em sistema de cultura de sangue (BacT / Alert; bioMérieux) com até cinco dias de incubação para bactérias e até 14 dias para fungos. A identificação e os Testes de Suscetibilidade Antimicrobiano (AST) foram realizados por testes bioquímicos interpretados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* e através de testes automatizados Vitek™ 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, França) padronizado de acordo com o *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCast)*. Os isolados foram classificados como Sensível (S), Sensível, aumentando exposição (I) ou resistentes (R), de acordo com os pontos de corte do BrCast.

Os isolados bacterianos foram coletados a partir de hemocultura positivas e submetidas à extração de DNA e para detecção dos genes de resistência. A partir das culturas dos isolados, em BHI ágar, o DNA foi extraído utilizando o kit da PROMEGA ReliaPrep™ (Promega®, São Paulo, Brasil) de acordo com o protocolo do fabricante. O DNA foi eluído em 50 µL de água livre de nucleases. Uma alíquota do DNA extraído foi quantificada em NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific), a fim de verificar a eficácia, pureza e rendimento da extração. Em seguida foi analisado através de eletroforese em gel de agarose a 1% e corados com brometo de etídio.

A amplificação do DNA pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi realizada no equipamento BioRad (System, Applied Biosystems®, CA, utilizando 10 µL (1.25 U/reação) TopTaq Master Mix Kit (Qiagen®, EUA) utilizando 10 µM de cada iniciador; 200 µM de cada dNTP (10mM de cada), 1x TopTaq PCR Buffer contendo 15mM MgCl<sub>2</sub>, coralLoad 1x, água ultrapura e 2 µL de DNA. As condições de termociclagem foram diferentes de acordo com os genes de resistência estudados, usando estirpes de referência de tais como, *A. baumannii* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13882, *E. coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Salmonella enterica* ATCC 35640 cedidas pelo Departamento de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ).

Um ensaio de PCR convencional foi realizado em 55 isolados recuperados através de isolados de hemoculturas de 45 pacientes para detectar três famílias de genes β-lactamases de espectro estendido (ESBL) e oito famílias de carbapenemases e três genes de resistência para bactérias Gram-positivas.

Foram realizados detecção dos genes de resistência *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub> por PCR para detecção de ESBL, utilizando protocolo para a amplificação: desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento 60 °C a 1 minuto e extensão 72°C a 1 minuto e uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos (Quiles et al., 2015), para cada um dos genes estudados.

Carbapenemases foram estudadas utilizando protocolo: desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 25 ciclos de desnaturação de 95 °C a 1 minuto, anelamento de 60 °C a 1 minuto para *bla*<sub>KPC</sub> (Menezes et al., 2013), 55 °C a 1 minuto para *bla*<sub>GES</sub> (Monteiro, 2012), 60 °C a 1 minuto para *bla*<sub>NDM</sub> (Nithia et al., 2017), 52 °C a 1 minuto para *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub> e 55 °C a 1 minuto para *bla*<sub>GIM</sub> (Mendes, 2007) e extensão 72 °C a 1 minuto e uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos.

Detecção dos genes de resistência *mecA*, *vanA* e *vanB*, utilizando estirpes de referência de organismos, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 *Streptococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, foram estudados em bactérias Gram-positivas, utilizando protocolo para a amplificação: desnaturação inicial 95  C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95  C a 1 minuto, anelamento 60  C a 1 minuto e extensão 72  C a 1 minuto e uma etapa de extensão final a 72  C a 10 minutos (Quiles et al., 2015).

O material genético dos isolados de *Candida* spp. foi extraído de acordo com o protocolo de In cio et al., (2016). As espécies foram identificadas a partir do sequenciamento parcial do domínio D1/D2 da região LSU (28S) do rDNA (In cio et al., 2016).

As sequências consenso foram editadas por meio do programa Sequencher 4.7 e, em seguida, submetidas a ferramenta BLAST do GenBank (National Center of Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para busca por sequências similares. As sequências obtidas foram alinhadas com sequências de confiança depositadas no banco de dados e analisadas filogeneticamente com o auxílio do programa MEGA-x.

## **Mortalidade**

A taxa de mortalidade foi estabelecida de acordo com o número de óbitos durante o período de internação e até 30 dias após a alta hospitalar. A taxa de letalidade foi calculada a partir de dados da declaração de óbito relacionada à sepse.

## **Custo de tratamento e tempo de hospitalização**

Dados sobre duração da hospitalização bem como tratamento médico foram extraídos e considerados a partir de prontuários de acordo com os dados fornecidos do faturamento do hospital, considerando o custo de medicamentos, exames laboratoriais, radiológicos e cirurgias. Os resultados foram analisados no Software Excel e apresentados a média do custo hospitalar.

## **Análise estatística**

O programa SPSS (IBM SPSS Estatística 24) foi usado para a análise estatística dos dados. Os dados descritivos categóricos foram apresentados como distribuição de frequência e porcentagens (%) e os dados descritivos mensuráveis foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP) e mediana (o maior, o menor valor). As “tabelas cruzadas  $\chi^2$ ” foram usadas para

examinar a relação entre duas variáveis qualitativas. As estatísticas do teste “Mann-Whitney U” (valor da tabela Z) foram usadas para comparar os dois grupos independentes não normalmente distribuídos.  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Chi-square ou Fisher exact test foram utilizados para comparar variáveis categóricas. Variáveis com valor de  $P < 0,05$  na análise univariada foram incluídas na análise multivariada. O modelo de regressão logística foi realizado para fatores de risco associados com bacteremia MDR. Odds Ratios (OR) com 95% de intervalo de confiança (IC 95%) foram calculados. Análise de regressão logística regressiva gradual com um limite de 0,20 foi realizada para determinar se as características relacionadas eram fatores de risco para ICSs causadas por bactérias MDR.

### **Considerações Éticas**

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP) em que o trabalho foi realizado (CAAE: 16285219.5.0000.5205), seguindo a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### **Resultados**

#### **Características gerais**

Durante o período do estudo, dos 45 pacientes recrutados a maioria foi do sexo feminino (60%), com média de idade de 49 anos, com predominância da raça parda 38/45 correspondendo à 84,4% (Tabela 1). A frequência de malignidades hematológicas e tumor sólido foram de 40% e 60% respectivamente. A malignidade hematológica mais frequente foi leucemia linfóide aguda (LLA) (44,4%) e entre os tumores sólidos, câncer de mama (22,2%) foi o mais comum, e ainda, útero (18,5%), ósseo (14,8%), faringe (11,1%), próstata, pênis, bexiga e cólon (14,8%), pâncreas (3,7%), estômago (3,7%), cerebral (3,7%), mediastinal (3,7%) e pele (3,7%). Um paciente apresentou mais de um tipo de tumor sólido. Outro paciente possuía tanto malignidade hematológica quanto tumor sólido durante o internamento, sendo considerado malignidade hematológica para fins de análises estatísticas, uma vez que o tumor sólido havia sido o câncer secundário.

Trinta e sete pacientes (82,2%) haviam recebidos tratamento quimioterápico e 13 (28,8%) apresentaram comorbidades, tais como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPCO) e aids. Durante o estudo 24 pacientes morreram (53,3%), destes óbitos dez foram em decorrência de sepse (22,2%). O

tempo médio de hospitalização foi de 34 dias com intervalo de 1-80 dias. A taxa de mortalidade em 30 dias foi de 28,8% (13/45) apresentando letalidade de 22,2% (10/45). O custo médio hospitalar foi de U\$ 21.297,28 (dólar americano de 2021).

Tabela 1 - Características clínicas e laboratoriais de portadores de neoplasias malignas apresentando infecção de corrente sanguínea em hospital de referência.

Características	Total
<b>Fatores demográficos</b>	
<b>Sexo</b>	
Masculino	18 (40%)
Feminino	27 (60%)
<b>Idade (média)</b>	49 anos (18-77)
<b>Raça</b>	
Branco	5 (11,1%)
Parda	38 (84,4%)
Preta	2 (4,4%)
<b>Fatores biológicos</b>	
<b>Tipo de câncer</b>	
Hematológico	18 (40%)
Sólido	27 (60%)
<b>Fatores hospitalares</b>	
Uso prévio de SMX/TMP	37 (82%)
Fluconazol profilático	6 (13,33%)
Quimioterapia	37 (82%)
Transfusão sanguínea	30 (66,6%)
<b>Uso de dispositivo</b>	
CVC	15 (33,33%)
CVP	9 (20%)
CVC e CTI ou CVC e TOT	21 (46,6%)
<b>Febre</b>	33 (73,3%)
<b>Neutropenia</b>	11 (24,4)
<b>Intervenção cirúrgica recente</b>	22 (48,8%)
<b>Comorbidades</b>	13 (28,8%)
HAS	9 (20%)
DM	5 (11,1%)
DPCO	1 (2,2%)
HIV	1 (2,2%)
DP	1 (2,2%)
<b>Óbito</b>	24 (53,3%)
<b>Óbito 30 dias</b>	13 (28,8%)
<b>Óbito por infecção em DO (seps)</b>	10 (22,22%)

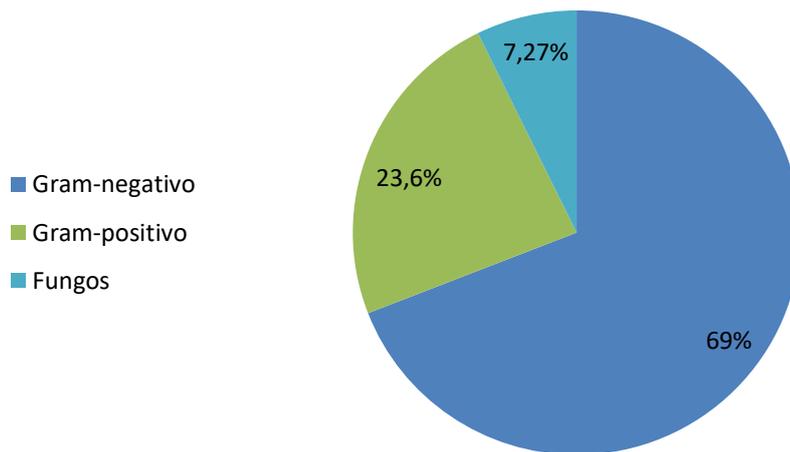
SMX/TMP- Sulfametoxazol-trimetoprima, CVC- Cateter venoso central, CVP- Cateter venoso periférico, CTI- Cateter totalmente implantado, TOT- Tubo orotraqueal, HAS- Hipertensão arterial sistêmica, DM, Diabetes mellitus, DPCO- Doença pulmonar obstrutiva crônica, HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana, DP, Distúrbio Psíquico, DO- Declaração de óbito.

### Patógenos

A distribuição da frequência dos microrganismos evidenciou maior predominância de BGN (n=38) (Figura 2). De 45 amostras de hemoculturas foram isolados 55 micro-organismos. Os BGNs mais frequentes foram: *Escherichia coli* (n=14) (25,4%), *Klebsiella* spp. (n=11) (20%), *Pseudomonas aeruginosa* (n=7) (12,7%), *Acinetobacter baumannii* (n=3) (7,9%), *Serratia marcescens* (n=2) (5,2%) e *Salmonella* spp. (n=1) (2,6%).

As bactérias Gram-positivas (n=13) mais frequentes foram *Staphylococcus aureus* (n=5) (38,5%), *S. epidermidis* (n=3) (23%), *Staphylococcus* coagulase negativo (SCoN) (n=1) (7,7%), *Enterococcus* spp. (n=2) (15,4%), *Staphylococcus warneri* (n=1) (7,7%) e *Streptococcus salivarius* (n=1) (7,7%). Dentre os fungos foram isolados quatro *Candida* spp.

Figura 2 - Microrganismos isolados de pacientes portadores de neoplasias malignas com infecção de corrente sanguínea



### Resistência Antimicrobiana

O perfil antimicrobiano de BGN revelou que 63,15% foram resistentes à ampicilina, 39,4% à cefepima, 29% à cefuroxima, 26,3% à ceftriaxona e a cefalotina, 21% à piperaciclina/tazobactam, 15,7% à ampicilina e 10,5% à sulfametoxazol/trimetoprim, e entre os cocos Gram-positivos (CGP), esse estudo revelou que 46% foram resistentes à meticilina, 38,4% à eritromicina, 30,7% à gentamicina, 23% à sulfametoxazol/trimetoprim e à clindamicina e 7,7% à vancomicina. Quatro *Candida* spp., apresentaram resistência à fluconazol 75% e todas apresentaram resistência à voriconazol (100%).

A comparação entre MDR fenotípico (n = 23, 51,1%) vs. não MDR (n = 22, 49%) e MDR molecular pela presença de genes de resistência (n = 20, 45,5%) vs. não MDR (n = 24, 54,5%). A neutropenia foi mais frequente em bacteremia MDR fenotípica (51%) comparado a bacteremia MDR molecular (45%) (Tabela 2). Três dos patógenos isolados foram resistentes a todas as classes de antibióticos testadas sendo classificado como pandroga resistente (PDR).

A maioria das infecções causadas por bactérias Gram-negativas MDR foram, *Escherichia coli* (7), *Klebsiella pneumoniae* (5), *Pseudomonas aeruginosa* (3), *Acinetobacter*

*baumannii* (2), *Serratia* spp., (1) e *Salmonella* spp., (1). Entre as bactérias Gram-positivas MDR foram, *Staphylococcus aureus* (2), *Staphylococcus epidermidis* (1) e *Enterococcus faecium* (1). Foram detectados *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (2), *Staphylococcus epidermidis* resistente à meticilina (2), *Staphylococcus* coagulase negativo resistente à meticilina (1) e *Enterococcus faecalis* (1) resistente à meticilina (1). E *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (1). A produção de fenotípica de ESBL foi mais frequente em *E. coli* 4/38 (10,52%) e *Klebsiella pneumoniae* 3/38 (7,9%). As frequências dos genes  $\beta$ -lactamases de amplo espectro em isolados BGN foram *bla*<sub>TEM</sub> 58% (22/38), *bla*<sub>CTX-M</sub> 42% (16/38) e *bla*<sub>SHV</sub> 5,2% (2/38). O gene *bla*<sub>TEM</sub> foi encontrado em 10 isolados de *E. coli* (26,3%), 5 isolados de *K. pneumoniae* (13,15%), 2 isolados de *P. aeruginosa* (5,3%) e 2 isolados de *A. baumannii* (5,3%). O gene *bla*<sub>CTX-M</sub> foi encontrado em 7 (42,1%) *K. pneumoniae*, 5 (13,15%) *E. coli* e 2 (5,3%) *P. aeruginosa*. O gene *bla*<sub>SHV</sub> foi observado em 1 isolado de *E. coli* (2,6%) e 1 de *A. baumannii* (2,6%).

Dentre as carbapenemases o gene *bla*<sub>GES</sub> 55,2% (21/38) foi o mais frequente, seguido de *bla*<sub>NDM</sub> 39,5% (15/38), *bla*<sub>KPC</sub> 29% (11/38), *bla*<sub>SPM</sub> 18,4% (7/38), *bla*<sub>VIM</sub> 18,4% (7/38) e *bla*<sub>IMP</sub> 15,8% (6/38). Não foi detectado o gene *bla*<sub>GIM</sub> em nenhum dos isolados. O gene *bla*<sub>GES</sub> foi detectado em 8 isolados de *E. coli* (21%), 8 isolados de *Klebsiella* spp. (21%) e 1 isolado de *P. aeruginosa* (2,6%), *A. baumannii* (2,6%) e *S. marcescens* (2,6%). O gene *bla*<sub>NDM</sub> foi detectado em 7 isolados de *E. coli* (18,4%), 6 isolados de *K. pneumoniae* (15,8%) e 1 isolado em *P. aeruginosa* (2,6%) e *S. marcescens* (2,6%). O gene *bla*<sub>KPC</sub> foi encontrado em 5 isolados de *E. coli* (13,15%), 3 isolados de *K. pneumoniae* (7,9%), 2 isolados de *P. aeruginosa* (5,3%) e 1 isolado de *Serratia marcescens* (2,6%). O gene *bla*<sub>SPM</sub> ocorreu em 3 isolados de *P. aeruginosa* (7,9%), 2 isolados de *K. pneumoniae* (5,3%) e 1 isolado de *S. marcescens* (2,6%) e *A. baumannii* (2,6%). O gene *bla*<sub>VIM</sub> foi encontrado em 5 (13,15%) *E. coli* e em 2 (5,3%) *K. pneumoniae*. O gene *bla*<sub>IMP</sub> foi encontrado em 5 (13,15%) *E. coli* e 1 (2,6%) *K. pneumoniae*.

A presença do gene *mecA* foi detectada em 6/13 (46,15%) isolados CGP, sendo 3/13 (23%) isolados de SCoN (*S. epidermidis*), classificados como (MRCoNS), 2/13 (15,38%) isolados de *Staphylococcus aureus*, classificados como MRSA, e 1/13 (7,7%) isolado de *Enterococcus faecalis*. O gene *vanA* foi detectado em 1/13 (7,7%) isolado de *Enterococcus faecium*, classificado como VRE. Não foi detectado o gene *vanB* em nenhum dos isolados estudados.

## Resultados associados à bacteremia MDR

Na análise dos fatores clínicos associados com bacteremia MDR, consideramos bactéria MDR fenotípico e MDR molecular pela detecção de genes de resistência nos isolados bacterianos. O uso de ao menos um dispositivo (P=0,031), comorbidades (P=0,004), desfecho óbito (P=0,005) e letalidade (P=0,010) foram fatores de risco associados a bacteremia MDR na análise univariada. Câncer hematológico (P=0,017), ciclos de quimioterapia até 3º (P=0,010), tempo de terapia antimicrobiana empírica (P=0,023), intervenção cirúrgica recente (P=0,006) e comorbidades (P=0,040) foram considerados fatores de risco associados a detecção de genes de resistência em bacteremia MDR (Tabela 2).

Na análise de regressão logística, a presença de comorbidades (P=0,002) foi significativamente associado com ICS causadas por bactéria MDR (Tabela 3). Indivíduos que possuem outras comorbidades além da doença de base como o câncer apresenta 9,13 OR (IC 95% - 1,42-58,7) risco de desenvolver infecções de corrente sanguínea. Nenhum dos fatores clínicos foi associado significativamente aos genes de resistência através da análise multivariada.

Tabela 2 - Características clínicas e fatores associados à infecção de corrente sanguínea em portadores de neoplasias malignas.

	Fenotípico (n=45)		Valor de P	Genes de resistência (n=44)		Valor de P
	Não-MDR	MDR		Não-MDR	MDR	
<b>Fatores demográficos</b>						
<b>Sexo</b>						
Masculino	10 (55,6%)	8 (44,4%)	0,465	8 (44,4%)	10 (55,6%)	0,263
Feminino	12 (44,4%)	15 (55,6%)		16 (61,5%)	10 (38,5%)	
<b>Idade</b>						
≥ 60 anos	8 (44,4%)	10 (55,6%)	0,626	12 (44,4%)	15 (55,6%)	0,090
< 60 anos	14 (51,9%)	13 (48,1%)		12 (70,6%)	5 (29,4%)	
<b>Raça</b>						
Branco	1 (25%)	3 (75%)	0,608	3 (75%)	1 (25%)	0,614
Não Branco	21 (51,2%)	20 (48,8%)		21 (52,5%)	19 (47,5%)	
<b>Fatores biológicos</b>						
<b>Tipo de câncer</b>						
Hematológico	12 (60%)	8 (40%)	0,182	7 (35%)	13 (65%)	<b>0,017</b>
Sólido	10 (40%)	15 (60%)		17 (70,8%)	7 (29,2%)	
<b>Fatores hospitalares</b>						
<b>Uso prévio de SMX/TMP</b>						
Sim	14 (50%)	14 (50%)	0,848	13 (46,4%)	15 (53,6%)	0,153
não	8 (47,1%)	9 (52,9%)		11 (64,7%)	5 (31,3%)	
<b>Fluconazol profilático</b>						
Sim	2 (33,3%)	4 (66,7%)	0,665	3 (50%)	3 (950%)	1,000
não	20 (51,3%)	19 (48,7%)		21 (55,3%)	17 (44,7%)	
<b>Quimioterapia</b>						
sim	20 (54,1%)	17 (45%)	0,243	18 (48,6%)	19 (51,4%)	0,106
não	2 (25%)	6 (75%)		6 (85,7%)	1 (14,3%)	

<b>Ciclo de Químio</b>						
Até 3º ciclos	13(56,5%)	10 (43,5%)	0,699	15 (65,2%)	8 (34,8%)	<b>0,010</b>
> 3º ciclos	7 (50%)	7 (50%)		3 (21,4%)	11 (78,6%)	
<b>Transfusão sanguínea</b>						
Sim	16 (53,3%)	14 (46,7%)	0,399	14 (48,3%)	15 (51,7%)	0,246
não	6 (40%)	9 (60%)		10 (66,7%)	5 (33,3%)	
<b>Uso de dispositivo</b>						
1 dispositivo	16 (59,3%)	11 (40,7%)	<b>0,031</b>	18 (66,7%)	9 (33,3%)	0,214
2 dispositivos	6 (42,9%)	8 (57,1%)		4 (30,8%)	9 (69,2%)	
3 dispositivos	0 (0%)	3 (100%)		1 (33,3%)	2 (66,75)	
> 3 dispositivos	0 (0%)	1 (100%)		1 (100%)	0 (0%)	
<b>Dispositivos</b>						
0- CVC, CVC ou CTI	16 (57,1%)	12 (42,9%)	0,093	13 (48,1%)	14 (51,9%)	0,174
1- CVP ou CVC	6 (40%)	9 (60%)		9 (60%)	6 (40%)	
2- CVC e TOT	0 (0%)	2 (100%)		2 (100%)	0 (%)	
<b>Febre</b>						
não	7 (58,3%)	5 (41,7%)	0,445	9 (75%)	3 (25%)	0,095
Sim	15 (45,5%)	18 (54,5%)		15 (46,9%)	17 (53,1%)	
<b>Hemoglobina</b>						
< 10 dL	17 (45,9%)	20 (54,1%)	0,459	19 (52,8%)	17 (47,2%)	0,710
> 10 dL	5 (62,5%)	3 (37,5%)		5 (62,5%)	3 (37,5%)	
<b>Neutrófilos cél/mm<sup>3</sup></b>						
≤ 500	4 ((36,4%)	7 (63,6%)	0,339	5 (45,5%)	6 (54,5%)	0,484
> 500	18 (52,9%)	16 (47,1%)		19 (57,6%)	14 (42,4%)	
<b>Tempo de internamento</b>						
≤ 30 dias	14 (46,7%)	16 (53,3%)	0,673	16 (55,2%)	13 (44,8%)	0,908
> 30 dias	8 (53,3%)	7 (46,7%)		8 (53,3%)	7 (46,7%)	
<b>Tempo de terapia empírica</b>						
≤ 10 dias	13 (48,8%)	16 (55,2%)	0,763	18 (64,3%)	10 (35,7%)	<b>0,023</b>
> 10 dias	6 (53,3%)	6 (46,7%)		3 (25%)	9 (75%)	
<b>Intervenção cirúrgica recente (até 3 meses)</b>						
não	11 (47,8%)	12 (52,2%)	0,884	8 (34,8%)	15 (65,2%)	<b>0,006</b>
sim	11 (50%)	11 (50%)		16 (76,2%)	5 (23,8%)	
<b>Comorbidade</b>						
não	20 (62,5%)	12 (37,5%)	<b>0,004</b>	20 (64,5%)	11 (35,5%)	<b>0,040</b>
sim	2 (15,4%)	11 (84,6%)		4 (30,8%)	9 (69,2%)	
<b>Óbito</b>						
sim	7 (29,2%)	17 (70,8%)	<b>0,005</b>	11 (55%)	9 (45%)	0,956
não	15 (71,4%)	6 (28,6%)		13 (54,2%)	11 (45,8%)	
<b>Óbito por infecção em DO (sepsis)</b>						
não	21 (60%)	14 (40%)	<b>0,010</b>	18 (52,9%)	16 (47,1%)	0,734
Sim	1 (10%)	9 (90%)		6 (60%)	4 (40%)	

SMX/TMP- Sulfametoxazol-trimetoprima, CVC- Cateter venoso central, CVP- Cateter venoso periférico, CTI- Cateter totalmente implantado, TOT- Tubo orotraqueal, DO- Declaração de óbito.

Tabela 3 - Análise de regressão logística do fator de risco para bacteremia MDR em portadores de neoplasias malignas com infecção de corrente sanguínea

	OR	IC (95%)	P (valor)
<b>Tipo de câncer</b>			
Hematológico			
Sólido	1,42	0,26-7,75	0,684

<b>Uso de dispositivo</b>			
1 dispositivo			
> 1dispositivo	2,58	0,51-13,1	0,251
<b>Dispositivos</b>			
0- CVC ou CTI, TOT			
1- CVP	1,74	0,32-9,46	0,521
<b>Comorbidade</b>	9,13	1,42-58,7	<b>0,020</b>
<b>Óbito</b>	2,34	0,42-12,8	0,328
<b>Óbito por sepse (DO)</b>	5,48	0,44-67,0	0,183

IC, intervalo de confiança 95%; OR, Odds ratio; CVC- Cateter venoso central, CVP- Cateter venoso periférico, CTI- Cateter totalmente implantado, TOT- Tubo orotraqueal, DO- Declaração de óbito.

## Discussão

Em portadores de neoplasias sólidas, a infecção de corrente sanguínea ocorreu mais frequentemente por bactérias MDR, quando comparado a população de portadores de neoplasias hematológicas, pois neste grupo de indivíduos, houve maior detecção de genes de resistência. Estes achados foram consistentes em relatórios anteriores (Sierra et al., 2020; Hiak et al., 2021). A taxa de multirresistência foi levemente maior em isolados de tumores sólidos comparado a malignidades hematológicas, conforme relatado (Sierra et al., 2020).

Portadores de neoplasias malignas que apresentem ICS causada por bacteremia MDR durante a hospitalização possuem maior risco de morte, sobretudo na presença de comorbidades.

A amostra do estudo foi composta predominantemente por mulheres com média de idade de 49 anos. Os tumores sólidos foram mais frequentes do que malignidades hematológicas. Alguns fatores clínicos podem estar relacionados ao aumento do risco de ICS em pacientes com malignidades (Rolston, 2017). O uso de cateter (Vashi et al., 2017) e procedimento cirúrgico (Sierra et al., 2020), estão relacionados a ICS em pacientes com tumores sólidos, assim como, quimioterapia, uso de cateter venoso central (Sierra et al., 2020) e internações hospitalares mais longas (Lalaoui et al., 2020) estão associados a ICS em malignidades hematológicas.

Entre as neoplasias malignas sólidas, os tumores de mama, útero e ósseo foram os mais frequentes. O câncer de mama e útero se apresentam com elevada frequência em países emergentes e podem estar relacionados ao maior número de casos na amostra estudada. Procedimentos cirúrgicos como reconstrução e implantes mamários podem estar relacionados à infecção do sítio cirúrgico, assim como dispositivos protéticos em tumores ósseos (Gudiol et al., 2016; Yapici et al., 2016). As principais causas de ICS relacionados ao cateter são a migração dos organismos da pele no local de inserção para o lúmen do cateter e a contaminação

do hub (Vashi et al., 2017). Em outras situações, a maioria das infecções em pacientes com tumores sólidos é causada pela microflora residente do paciente (Gudiol et al., 2016; Yapici et al., 2016).

Ao contrário dos pacientes com neoplasias hematológicas, a maioria dos pacientes com tumores sólidos não recebe profilaxia antimicrobiana após a quimioterapia (Marín et al., 2014), podendo ter implicação em maior número de casos de ICS nesse grupo.

Diabetes mellitus e hipertensão arterial foram as condições médicas mais relacionadas à bacteremia MDR, conforme relatado em outro estudo (Đekić et al., 2020). A taxa de mortalidade geral do período de estudo foi de 53,3%, mortalidade em até 30 dias foi de 28,8%, resultado similar foi encontrado por Sierra et al., (2020) e letalidade por sepse foi de 22,2%. Sepse nesta população vem sendo reportada frequentemente relacionada a elevada mortalidade variando de 15,2% - 51,8% (Nannan Panday et al., 2020; Ghosh et al., 2021; Bou Chebl et al., 2021). Pacientes com câncer apresentam alto risco de incidência de sepse e mortalidade associada (Liu et al., 2021). A taxa de mortalidade tem sido alta em pacientes com malignidades hematológicas infectado com Enterobacteriales resistente a carbapenemases, principalmente em malignidades hematológicas e neutropenia, devido ao manejo empírico inadequado e administração retardada de antibióticos direcionados (Lalaoui et al., 2020).

O tempo médio de hospitalização foi de 34 dias, derivando no custo médio hospitalar de US \$21.297,28. O custo com hospitalizações relacionados a neutropenia costumam ser substancialmente altos (Tai et al., 2017). Os custos hospitalares de pacientes com malignidades hematológicas costumam exceder quando comparados em portadores de tumores sólidos, tendo em vista, maior tempo de hospitalização, acarretando aumento no risco de infecção por bactérias MDR (Lyman et al., 2014). O custo de hospitalização em malignidades hematológicas supera os custos em tumores sólidos, indicando que a sepse é condição de alto custo e alta mortalidade em pacientes com câncer (Tew et al., 2021).

Infecções causadas por bactérias Gram-positivas predominaram em ICS em pacientes oncológicos, entretanto, esse cenário epidemiológico vem se modificando ao longo das décadas, entre as razões podem ser destacadas, o uso universal de cateter venoso central, uso de antimicrobiano profilático e uso frequente de quimioterapia antineoplásica. Entre as décadas de 1960 a 1970 os BGN eram predominantes, e a partir da década de 1980, passaram a predominar CGP (Calvo-Lon et al., 2018; Diekema et al., 2019). Entretanto, pode-se observar que os BGN vêm reemergindo como os principais agentes de ICS nesta população nas duas últimas décadas (Bhat et al., 2021; Ghosh et al., 2021).

Entre os isolados bacterianos resgatados de amostra de hemoculturas, BGN foram os mais frequentes (69%), conforme relatado em estudo recentes (Calvo-Lon et al., 2018; Liang et al., 2020; Paul et al., 2020). BGN estão se tornando a principal causa de ICS em pacientes com tumores sólidos, e a taxa de multirresistência vem ganhando força (Gudiol et al., 2016). Indivíduos mais velhos, apresentam maior taxa de mortalidade quando acometidos por bactérias MDR (Antonio et al., 2019). O surgimento de bactérias MDR é um importante problema de saúde pública global e infecções causadas por bactérias MDR se comportam com desfechos desfavoráveis quando ocorrem em portadores de malignidades hematológicas (Cattaneo et al., 2018; Islas-Muñoz et al., 2018).

*Escherichia. coli*, *Klebsiela* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* foram os três patógenos mais prevalentes no nosso estudo, corroborando com outros relatos (Vahedian-Ardakani et al., 2019, Liang et al., 2020; Paul et al., 2020). Entre os CGP, *Staphylococcus aureus* foram os mais frequentes (Ryu et al., 2020). A resistência aos azólicos também foi observada em *Candida* spp. (Alves et al., 2018), sobretudo entre pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com tumores sólidos (Orsetti et al., 2019).

A frequência de ESBL em isolados da corrente sanguínea foi de 76,3% (29/38), sendo *Escherichia coli* a espécie mais comum, conforme relatado em diversos estudos (Carlesse et al., 2016; Islas-Muñoz et al., 2018; Carvalho et al., 2020). As principais  $\beta$ -lactamases detectadas foram *bla*<sub>TEM</sub> com 58% (22/38) e *bla*<sub>CTX</sub> com 42,1% (16/38). Além disso, foram detectados em 18,4% (7/38) dos isolados coabrigando os genes *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>CTX</sub>, (Zhang et al., 2019; Abbasi Montazeri et al., 2020). A ocorrência de *E. coli* produtora de ESBL vem aumentando significativamente em pacientes com câncer, elevando a taxa de mortalidade (Cornejo-Juárez et al., 2012, Islas-Muñoz et al., 2018).

As carbapenemases mais frequentemente encontrada foram *bla*<sub>GES</sub> (55,2%), *bla*<sub>NDM</sub> (39,5%), *bla*<sub>KPC</sub> (29%), *bla*<sub>SPM</sub> (15,7%) assim como reproduzindo em outros estudos (Firoozeh et al., 2016; Tawfick et al., 2020; Jácome et al., 2016). A resistência aos carbapenem pode estar relacionada a outros mecanismos de resistência como alteração de proteínas da membrana externa, ou nova enzima não identificada (Rizek et al., 2014), assim como a produção de  $\beta$ -lactamases foram responsáveis pela multirresistência nos isolados analisados (Cavalcanti et al., 2015).

Entre os isolados de bactérias Gram-positivas, a frequência do gene *mecA* foi detectada em MRSA (2/5), MRSCoN (3/6) e *Enterococcus faecium* (1) respectivamente, tendo ocorrido concordância de resistência fenotípica a meticilina em todas essas amostras. Um isolados de *Enterococcus faecium* foi detectado abrigoando o gene *vanA*.

Cocos Gram-positivos costumam estar implicados em ICS nesta população e podem estar relacionados ao uso de dispositivos médicos invasivos, mas pode ocorrer de forma secundária agente contaminante de pele e superfícies de mucosas (Carlesse et al., 2016; Monaco et al., 2017; Shrestha et al., 2020). Isolado de *Enterococcus faecium* foi resgatado ICS de um paciente com câncer de cólon. Translocação bacteriana devido ao aumento da permeabilidade da mucosa do cólon lesado pode ter atuado como fator de risco para o evento (Amarnani et al., 2017).

Embora pacientes com neoplasias malignas já tenham risco aumentado para ICS (Anatoliotaki et al., 2004), observamos na análise multivariada que comorbidades foram fatores de risco para ICS-MDR. Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e diabetes mellitus (DM) foram associados à bacteremia MDR. A presença de duas ou mais comorbidades, sobretudo, a condição de diabetes mellitus, têm sido descrito como preditores independentes para bacteremia MDR e aumento no risco de mortalidade (Đekić et al., 2020; Kuderer et al., 2006).

Nossos resultados mostraram elevados níveis de resistência a carbapenemases entre os BGNs isolados em amostra de hemoculturas e comorbidades, especialmente hipertensão e diabetes mellitus estiveram associados à detecção de BGN MDR. A condição de apresentar comorbidades, entre portadores de câncer, aumentou o risco de ICS por bactéria MDR. A taxa de mortalidade em 30 dias e letalidade foram elevadas. Medidas de vigilância hospitalar para detecção de MDR são essenciais para identificação e instituição de precauções de contato.

Tamanho limitado da amostra e possibilidade da inclusão de contaminantes de amostras por MRSCoN, podem ser apontados como potenciais limitações do estudo.

### **Contribuição dos autores**

**CRPS** realizou a redação - preparação do manuscrito, conduziu o processo de pesquisa e investigação, especificamente realizando os experimentos, coleta de dados / evidências. **NCL** e **DEX** forneceram recursos para o estudo, reagentes, materiais, cepas de referência de laboratório para as análises. **GTD** e **MAVCJ** realizaram a curadoria de dados, (incluindo código de software), as análises estatísticas utilizando o programa de software SPSS, concepção de programas de computador. **VM** e **PSRA** realizaram a supervisão e liderança para o planejamento e execução da atividade de pesquisa.

### **Conflito de interesses**

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

### **Suporte financeiro**

Este trabalho recebeu suporte financeiro do Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS) da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), APQ-0563-4.01/17.

### **Aprovação ética**

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP) em que o trabalho foi realizado (CAAE: 16285219.5.0000.5205), seguindo a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### **Consentimento para publicação**

O consentimento para publicação foi obtido da pessoa, ou responsável legal, dos pacientes maiores de 18 anos. Para pessoas falecidas, o consentimento para publicação foi obtido de seus parentes mais próximos. O consentimento foi obtido através da assinatura do Termo de Consentimento livre e Esclarecido (TCLE) seguindo as Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### **Agradecimentos**

Aos Membros da equipe da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) de hospital de referência, em especial à Maria Cândida do Nascimento.

### **Referências**

- 1.Sierra J, Díaz MV, de Jesús García M, Finello M, Suasnabar DF, Richetta L, Toranzo A, Hernández D, Cometto MA, Vázquez SM, Caeiro JP, Saad EJ. Infecciones del torrente sanguíneo en pacientes oncológicos [Bloodstream infections in cancer patients]. Medicina (B Aires). 2020;80(4):329-338.
- 2.Carena AA, Laborde A, Rocchia-Rossi I, Palacios CJ, Jordán R, Valledor A, et al.. Argentine Group for the Study of Bacteraemias in Cancer and Stem Cell Transplant (ROCAS) Stem Cell Transplant (ROCAS). Proposal of a clinical score to stratify the risk of multidrug-resistant gram-negative rods bacteremia in cancer patients. Braz J Infect Dis. 2020;24(1):34-43. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2019.11.001>

3. Islas-Muñoz B, Volkow-Fernández P, Ibanes-Gutiérrez C, Villamar-Ramírez A, Vilar-Compte D, Cornejo-Juárez P. Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *Int J Infect Dis.* 2018;71:59-64. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.03.022>.
4. Amanati A, Sajedianfard S, Khajeh S, Ghasempour S, Mehrangiz S, Nematolahi S, Shahhosein Z. Bloodstream infections in adult patients with malignancy, epidemiology, microbiology, and risk factors associated with mortality and multi-drug resistance. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):636. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06243-z>.
5. Diekema, D. J., Hsueh, P. R., Mendes, R. E., Pfaller, M. A., Rolston, K. V., Sader, H. S., & Jones, R. N. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2019;63(7), e00355-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00355-19>
6. Mert D, Ceken S, Iskender G, Iskender D, Merdin A, Duygu F, Ertek M, Altuntas F. Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *J Infect Dev Ctries.* 2019 Aug 31;13(8):727-735. <https://doi.org/10.3855/jidc.11457>.
7. Kern WV, Roth JA, Bertz H, Götting T, Dettenkofer M, Widmer AF, Theilacker C; Hospital Infection Surveillance System for Patients with Hematologic/Oncologic Malignancies Study Group (ONKO-KISS). Contribution of specific pathogens to bloodstream infection mortality in neutropenic patients with hematologic malignancies: Results from a multicentric surveillance cohort study. *Transpl Infect Dis.* 2019 Dec;21(6):e13186. <https://doi.org/10.1111/tid.13186>.
8. Carmen R, Yom-Tov GB, Van Nieuwenhuysse I, Foubert B, Ofran Y. The role of specialized hospital units in infection and mortality risk reduction among patients with hematological cancers. *PLoS One.* 2019 Mar 20;14(3):e0211694. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211694>.
9. Lyman G.H. Abella, E. Pettengel, R. Risk factors for febrile neutropenia among patients with cancer receiving chemotherapy: A systemic review *Crit Rev Oncol Hematol* 90(3):190-9, 2014.
10. Montassier, E.; Batard, E.; Gastinne, T.; Potel, G.; Cochetière, M. F. Recent Changes in bacteremia in patients with cancer: a systematic review of epidemiology and antibiotic resistance. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis*, 2013;32,841-850.
11. Quiles MG, Menezes LC, Bauab Kde C, Gumpel EK, Rocchetti TT, Palomo FS, Carlesse F, Pignatari AC. Diagnosis of bacteremia in pediatric oncologic patients by in-house real-time PCR. *BMC Infect Dis.* 2015 Jul 23;15:283. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1033-6>.
12. Menezes LC, Rocchetti TT, BauabKde C, Cappellano P, Quiles MG, Carlesse F, de Oliveira JS, Pignatari AC. Diagnosis by real-time polymerase chain reaction of pathogens and antimicrobial resistance genes in bone marrow transplant patients with bloodstream infections. *BMC Infect Dis.* 2013 Apr 5;13:166. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-166>.
13. Monteiro J, Widen RH, Pignatari AC, Kubasek C, Silbert S. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother.* 2012 Apr;67(4):906-9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr563>.

14. Nithia N, Remitha R, Jayasree PR, Faisal M, ManishKumar PR. Analysis of beta-lactamases, blaNDM-1 phylogeny & plasmid replicons in multidrug-resistant *Klebsiella* spp. from a tertiary care centre in south India. *Indian J Med Res.* 2017;146(1):38-45.
15. Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J, Castanheira M, Andrade SS, Gales AC, Pignatari AC, Tufik S. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *J Clin Microbiol.* 2007 Feb;45(2):544-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.01728-06>.
16. Inácio CP, Rocha AP, Barbosa RN, Oliveira NT, Silva JC, De Lima-Neto RG, Macêdo DP, Neves RP. Experimental white piedra: a robust approach to ultrastructural analysis, scanning electron microscopy and etiological discoveries. *Exp Dermatol.* 2016; 25(1): 79-81. <https://doi.org/10.1111/exd.12884>.
17. Hyak JM, Al Mohajer M, Musher DM, Musher BL. Clinical prediction of bacteremia and early antibiotics therapy in patients with solid tumors. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021 Jul 28;1-7. <https://doi.org/10.1017/ice.2021.314>.
18. Rolston KV. Infections in Cancer Patients with Solid Tumors: A Review. *Infect Dis Ther.* 2017 Mar;6(1):69-83. <https://doi.org/10.1007/s40121-017-0146-1>.
19. Vashi PG, Virginkar N, Popiel B, Edwin P, Gupta D. Incidence of and factors associated with catheter-related bloodstream infection in patients with advanced solid tumors on home parenteral nutrition managed using a standardized catheter care protocol. *BMC Infect Dis.* 2017 May 30;17(1):372. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2469-7>.
20. Lalaoui R, Javelle E, Bakour S, Ubeda C, Rolain JM. Infections Due to Carbapenem-Resistant Bacteria in Patients With Hematologic Malignancies. *Front Microbiol.* 2020 Jul 17;11:1422. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01422>.
21. Gudiol C, Aguado JM, Carratalà J. Bloodstream infections in patients with solid tumors. *Virulence.* 2016 Apr 2;7(3):298-308. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1141161>. Epub 2016 Jan 19.
22. Yapici O, Gunseren F, Yapici H, Merdin A, Yaylali ÜÜ, Merdin FA. Evaluation of febrile neutropenic episodes in adult patients with solid tumors. *Mol Clin Oncol.* 2016 Mar;4(3):379-382. <https://doi.org/10.3892/mco.2015.722>.
23. Marín M, Gudiol C, Garcia-Vidal C, Ardanuy C, Carratalà J. Bloodstream infections in patients with solid tumors: epidemiology, antibiotic therapy, and outcomes in 528 episodes in a single cancer center. *Medicine (Baltimore).* 2014 May;93(3):143-9. <https://doi.org/10.1097/MD.000000000000026>.
24. Đekić M, Dugandžija T, Dragovac G, Medić D, Paut Kusturica M. Risk factors and clinical outcomes for intensive care unit patients with mul-tidrug-resistant *Acinetobacter* spp. bacteremia. *Hippokratia.* 2020;24(1):21-26.
25. Nannan Panday RS, Wang S, Schermer EH, Cooksley T, Alam N, Nanayakkara PWB. Septic patients with cancer: Do prehospital antibiotics improve survival? A sub-analysis of the PHANTASi trial. *Neth J Med.* 2020;78(1):3-9.

26. Ghosh S, Chakraborty M, Samanta S, Sinha N, Saha S, Chattopadhyay A, Roy SS, Bhattacharyya M. Analysis of blood stream infections, antibiograms and clinical outcomes in haematological patients with febrile neutropenia: data from a tertiary care haematology institute in India. *Ann Hematol.* 2021 Feb;100(2):395-403. <https://doi.org/10.1007/s00277-020-04324-8>.
27. Bou Chebl R, Safa R, Sabra M, Chami A, Berbari I, Jamali S, Makki M, Tamim H, Abou Dagher G. Sepsis in patients with haematological versus solid cancer: a retrospective cohort study. *BMJ Open.* 2021 Feb 16;11(2):e038349. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-038349>.
28. Liu MA, Bakow BR, Hsu TC, Chen JY, Su KY, Asiedu EK, Hsu WT, Lee CC. Temporal Trends in Sepsis Incidence and Mortality in Patients With Cancer in the US Population. *Am J Crit Care.* 2021 Jul 1;30(4):e71-e79. <https://doi.org/10.4037/ajcc2021632>.
29. Tai Eric, Guy Jr, G. P., Dunbar, A. e Richardson, L. C. Cost of Cancer-Related Neutropenia or Fever Hospitalizations, United States, 2012. *Journal of Oncology Practice.* 2017;13:552-561.
30. Tew M, Dalziel K, Thursky K, Krahn M, Abrahamyan L, Morris AM, Clarke P. Excess cost of care associated with sepsis in cancer patients: Results from a population-based case-control matched cohort. *PLoS One.* 2021 Aug 11;16(8):e0255107. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255107>.
31. Calvo-Lon J, Landaverde Du, Ramos-Esquivel A, Villalobos-Vindas JM. Epidemiology and Outcomes of Bloodstream Infections in Patients With Solid Tumors in a Central American Population at Mexico Hospital, San Jose, Costa Rica. *J Glob Oncol.* 2018;4(4):1-6.
32. Bhat S, Muthunatarajan S, Mulki SS, Archana Bhat K, Kotian KH. Bacterial Infection among Cancer Patients: Analysis of Isolates and Antibiotic Sensitivity Pattern. *Int J Microbiol.* 2021;7;2021:8883700. <https://doi.org/10.1155/2021/8883700>.
33. Liang T, Xu C, Cheng Q, Tang Y, Zeng H, Li X. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Outcomes of Bloodstream Infection due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Hematologic Malignancy: A Retrospective Study from Central South China. *Microb Drug Resist.* 2020;27(6):800-808.
34. Paul M, Bhatia M, Rekha US; Diksha 1, Omar BJ, Gupta P. Microbiological Profile of Blood Stream Infections in Febrile Neutropenic Patients at a Tertiary Care Teaching Hospital in Rishikesh, Uttarakhand. *J Lab Physicians.* 2020;12(2):147-153.
35. Antonio M, Gudiol C, Royo-Cebrecos C, Grillo S, Ardanuy C, Carratalà J. Current etiology, clinical features and outcomes of bacteremia in older patients with solid tumors. *J Geriatr Oncol.* 2019;10(2):246-251. <https://doi.org/10.1016/j.jgo.2018.06.011>.
36. Cattaneo C, Di Blasi R, Skert C, Candoni A, Martino B, Di Renzo N, et al. Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Ann Hematol.* 2018;97(9):1717-1726. <https://doi.org/10.1007/s00277-018-3341-6>.

37. Vahedian-Ardakani HA, Moghimi M, Shayestehpour M, Doosti M, Amid N. Bacterial Spectrum and Antimicrobial Resistance Pattern in Cancer Patients with Febrile Neutropenia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019;25;20(5):1471-1474. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.5.1471>.
38. Ryu BH, Lee SC, Kim M, Eom Y, Jung J, Kim MJ, Sung H, Kim MN, Kim SH, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS, Chong YP. Impact of neutropenia on the clinical outcomes of *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients with hematologic malignancies: a 10-year experience in a tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020 May;39(5):937-943. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03802-w>.
39. Alves J, Palma P, Azevedo D, Rello J. Candidemia in the patient with malignancy, *Hospital Practice*, 2018;46:5, 246-252, <https://doi.org/10.1080/21548331.2018.1508290>
40. Orsetti E, Brescini L, Mazzanti S, Trave F, Morroni G, Pocognoli A, et al. Central venous catheter unrelated candidemia influences the outcome of infection in patients with solid tumors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019 Aug;38(8):1499-1505. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03578-z>.
41. Carlesse F, Cappellano P, Quiles MG, Menezes LC, Petrilli AS, Pignatari AC. Clinical relevance of molecular identification of microorganisms and detection of antimicrobial resistance genes in bloodstream infections of paediatric cancer patients. *BMC Infect Dis.* 2016 Sep 1;16(1):462.
42. Carvalho AS, Lagana D, Catford J, Shaw D, Bak N. Bloodstream infections in neutropenic patients with haematological malignancies. *Infect Dis Health.* 2020;25(1):22-29. <https://doi.org/10.1016/j.idh.2019.08.006>.
43. Zhang Q, Gao HY, Li D, et al. Clinical outcome of bloodstream infection by *Escherichia coli* in cancer patients with / without biofilm formation: a single center retrospective study. *Infect Drug Resist.* 2019; 12: 359–371. <https://doi.org/10.2147/IDR.S192072>
44. Abbasi Montazeri E, Khosravi AD, Saki M, Sirous M, Keikhaei B, Seyed-Mohammadi S. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Causing Bloodstream Infections in Cancer Patients from Southwest of Iran. *Infect Drug Resist.* 2020 May 6;13:1319-1326. <https://doi.org/10.2147/IDR.S254357>.
45. Cornejo-Juárez P, Pérez-Jiménez C, Silva-Sánchez J, Velázquez-Acosta C, González-Lara F, Reyna-Flores F, Sánchez-Pérez A, Volkow-Fernández P. Molecular analysis and risk factors for *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase bloodstream infection in hematological malignancies. *PLoS One.* 2012;7(4):e35780. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035780>.
46. Firoozeh F, Aghaseyed-Hosseini M, Zibaei M, Piroozmand A. Detection of blaKPC and blaGES Carbapenemase Genes in *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Hospitalized Patients in Kashan, Iran. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2016;11(2):183-188. <https://doi.org/10.2174/1574891X11666160813192556>.

47. Tawfik MM, Alshareef WA, Bendary HA, Elmahalawy H, Abdulall AK. The emergence of carbapenemase bla<sub>NDM</sub> genotype among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates from Egyptian cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Jul;39(7):1251-1259. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03839-2>.
48. Jácome PRLA, Alves LR, Jácome-Júnior AT, Silva MJBD, Lima JLDC, Araújo PSR, Lopes ACS, Maciel MAV. Detection of bla<sub>SPM-1</sub>, bla<sub>KPC</sub>, bla<sub>TEM</sub> and bla<sub>CTX-M</sub> genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. from cancer patients with healthcare-associated infections. *J Med Microbiol*. 2016 Jul;65(7):658-665. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000280>.
49. Rizek C, Fu L, Dos Santos LC, Leite G, Ramos J, Rossi F, Guimaraes T, Levin AS, Costa SF. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014 Sep 2;13:43. <https://doi.org/10.1186/s12941-014-0043-3>.
50. Cavalcanti FL, Mirones CR, Paucar ER, Montes LÁ, Leal-Balbino TC, Morais MM, Martínez-Martínez L, Ocampo-Sosa AA. Mutational and acquired carbapenem resistance mechanisms in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015 Dec;110(8):1003-9. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150233>.
51. Monaco M, Pimentel de Araujo F, Cruciani M, Coccia EM, Pantosti A. Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017;409:21-56. doi: 10.1007/82\_2016\_3.
52. Shrestha LB, Bhattarai NR, Rai K, Khanal B. Antibiotic Resistance and *mecA* Gene Characterization of Coagulase-negative Staphylococci Isolated from Clinical Samples in Nepal. *Infect Drug Resist*. 2020 Sep 14;13:3163-3169. <https://doi.org/10.2147/IDR.S274163>.
53. Amarnani R, Rapose A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. *J Infect Public Health*. 2017 Sep-Oct;10(5):681-684. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.09.009>.
54. Anatoliotaki M, Valatas V, Mantadakis E, Apostolakou H, Mavroudis D, Georgoulas V, Rolston KV, Kontoyiannis DP, Galanakis E, Samonis G. Bloodstream infections in patients with solid tumors: associated factors, microbial spectrum and outcome. *Infection*. 2004 Apr;32(2):65-71. <https://doi.org/10.1007/s15010-004-3049-5>.
55. Kuderer, NM, Dale, DC, Crawford, J, Cosler, LE, Lyman, GH. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer*, 2006;106(10),2258-2266.

## 7.2 Artigo 2

### **Elevada ocorrência de carbapenemases em entorobacteriales isolados de infecção de corrente sanguínea de pacientes com câncer**

#### **Resumo**

**Introdução:** Infecções de corrente sanguínea continua sendo uma das principais complicações mais frequentes em pacientes com câncer. Assim, o objetivo do estudo foi descrever a etiologia, epidemiologia fenotípica e molecular dos isolados bacterianos e fúngicos de ICS em pacientes com câncer. **Método:** a identificação e o perfil de resistência foram realizados por método bioquímico automatizado Vitek 2<sup>®</sup>. A presença e genes resistentes a carbapenemases *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, genes oxacilinase *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-58</sub>, e a presença de genes ESBL *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> para Gram-negativos, assim como, *mecA*, *vanA* e *vanB* para Gram-positivos foram investigados em isolados de hemoculturas. **Resultado:** *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram os patógenos mais frequentes. O gene serino-β-lactamase *bla*<sub>OXA-48</sub> foi o mais frequente, seguido das carbapenemases *bla*<sub>SIM</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> e *bla*<sub>KPC</sub>. Em ESBL, *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>CTX</sub> foram os mais comuns. Os genes *mecA* e *vanA* foram encontrados em *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus faecium*, respectivamente. *Candida* spp. apresentaram alta resistência à voriconazol e fluconazol. **Conclusão:** medidas para prevenir e controlar a disseminação dos genes de resistência são essenciais para reduzir os riscos de morbidade e mortalidade.

**Palavras-chave:** resistência antimicrobiana, genes de resistência, infecção de corrente sanguínea, câncer

#### **Introdução**

Infecções de corrente sanguínea (ICS) são consideradas graves complicações em pacientes com câncer, principalmente durante o tratamento quimioterápico. Infecções por agentes Gram-negativos são mais frequentes nesta população, sobretudo quando no curso de neutropenia febril (Klastersky et al., 2007, Cattaneo et al., 2012, Aslan et al., 2012).

ICS causada por bacilos Gram-negativos (BGN) têm sido documentados em diversos países como Índia (Mandal et al., 2015), Austrália (Conn et al., 2017), Itália (Di Blasi et al., 2018), Turquia (Mert et al., 2019), China (Jiang et al., 2020) e Brasil (Garrido et al., 2019).

A maioria destes organismos desenvolvem resistência à agentes antimicrobianos, reduzindo as opções terapêuticas disponíveis e esta questão tem sido considerada uma das dez ameaças a saúde global (OPAS, 2019). *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* têm sido apontadas como os principais agentes de infecções multidroga resistentes (MDR) em ambientes relacionados à assistência à saúde (Mert et al., 2019, Castanheira et al., 2011). BGN produtores de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL) vêm emergindo e são considerados uma grave ameaça ao tratamento antimicrobiano (Paterson e Bonomo, 2005), além disso, têm sido associadas ao aumento da mortalidade em pacientes com câncer (Ceken et al., 2018; Mitsuboshi et al., 2018; Tohamy et al., 2018; Calvo-Lon et al., 2018; Cattaneo et al., 2018; Nham et al., 2020).

*Klebsiella pneumoneae* carbapenemases (KPC) e New Dely metallo- $\beta$ -lactamases (NDM) representam duas importantes famílias de carbapenemases, que conferem resistência a quase todas as moléculas e têm sido relatados em todo o mundo. Vários países detectaram a ocorrência de BGN, carregando genes *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>OXA-48-like</sub> ou *bla*<sub>VIM</sub>, apresentando alta resistência aos antibióticos (Grundmann et al., 2017).

As infecções fúngicas invasivas são complicações comuns com risco de vida e uma das principais causas de morbidade, particularmente em pacientes com doenças malignas, sendo *Candida* spp. mais comuns na corrente sanguínea (Alves et al., 2018).

Desta forma, o objetivo do estudo foi descrever a etiologia, epidemiologia fenotípica e molecular dos isolados de ICS de pacientes com câncer.

## **Métodos**

### **Coleta e análise de isolados clínicos**

Os isolados clínicos foram obtidos de amostras de hemoculturas de pacientes internados no Hospital do Câncer de Pernambuco, Recife, Brasil, durante o período de 2019 a 2020. Foram incluídos no estudo 45 pacientes com idade  $\geq$  18 anos após o consentimento. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Câncer de Pernambuco, CAEE (16285219.5.0000.5205).

Foram coletadas amostras de sangue em frascos de hemocultura que foram posteriormente incubadas pela Bactec9095® (Becton Dickinson, EUA) com até 5 dias de incubação. A identificação e o Teste de Suscetibilidade Antimicrobiano (AST) dos isolados bacterianos foram realizados por testes bioquímicos através do sistema automatizado, pela plataforma Vitek 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, França) e interpretados de acordo com o manual do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST). A identificação e o teste de suscetibilidade antifúngico (AFST) foram realizados por método bioquímico e microdiluição pela mínima concentração antifúngica, interpretados de acordo o manual Método de Referência para Teste de Suscetibilidade Antifúngica CLSI M27-A3/S4.

### **Definição**

Resistente a múltiplas drogas (MDR) foi definido como um isolado bacteriano, que é resistente a um ou mais antibióticos em três ou mais classes de agentes antimicrobianos.

ICS foi definida como o isolamento do sangue de um (monomicrobiano) ou mais (polimicrobiano) organismos.

### **Identificação por Microdiluição em caldo e Teste de suscetibilidade a antifúngicos (AFST)**

O teste de susceptibilidade antifúngica, *in vitro*, foi realizado segundo os métodos descritos nos documentos M27-A3 e M27-S4 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2012). Para padronização do experimento, foi utilizado a cepa de referência ATCC 90028 (*C. albicans*). Para o teste, foi utilizado o meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) tamponado com ácido morfolino propano sulfônico, pH  $7,0 \pm 0,1$  (MOPS; 0,165 mol. L<sup>-1</sup>; Sigma-Aldrich). As leveduras foram avaliadas quanto ao perfil de susceptibilidade frente ao fluconazol, Anfotericina B, voriconazol, caspofungina, micafungina e anidulafungina.

As leveduras foram mantidas em Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e incubadas por 24h a 37°C. Foram preparadas suspensões dos isolados, em solução salina a 0,85%, sendo a concentração do inóculo ajustado por espectrofotômetro com comprimento de onda a 530nm, refletindo em 90% da transmitância. Em seguida, a suspensão inicial foi diluída a concentração de  $2-5 \cdot 10^3$  células/mL em RPMI 1640. Foram utilizadas placas de micro titulação de fundo chato de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços contendo a solução das drogas a serem testadas, e as placas incubadas a 37°C durante 24-48h. As

Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) foram determinadas com inibição de 100% para anfotericina B e <50% em relação ao poço controle para o fluconazol e voriconazol.

### **Extração do DNA fúngico a partir das culturas**

O DNA foi extraído segundo protocolo de Inácio et al., (2016), utilizando do tampão de extração (CTAB 2%, NaCl 1.5 M, 100mM de Tris-HCl, 20mM de EDTA, polivinilpirrolidona 1%) previamente aquecido a 65 °C. A parede celular foi rompida através de agitação mecânica (velocidade de 5.5 m/s por 30 segundos) em FastPrep® (BIO 101, Farmingdale, New York, USA) e incubada por 10min a 65 °C. O DNA foi recuperado a partir de um tratamento sequencial com base em clorofórmio álcool-isoamílico (24:1), isopropanole etanol (70%). Finalmente, foi adicionado 50µL de água MiliQ autoclavada, sendo a amostra incubada a 37 °C por 20 minutos para eluição do DNA. Os produtos da extração foram montados em parafilme (5µL do produto da extração, 2µL GLB e 2 µL GelRed), sendo utilizado o marcador Lambda DNA como padrão. O DNA foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em cuba de eletroforese horizontal, contendo o tampão Tris-Acetato-EDTA (TAE), sendo aplicado uma voltagem de 100v por 20 minutos. Posteriormente, o DNA foi analisado, quanto a qualidade e quantidade, em transiluminador. O material genômico foi mantido a 4 °C até o momento das análises.

### **Identificação dos isolados de fungos**

As espécies foram identificadas a partir do sequenciamento parcial do domínio D1/D2 da região LSU (28S) do rDNA utilizando os *primers* NL1 (5' – GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG - 3') e NL4 (5' – GGTCCGTGTTTCAAGACGG - 3') (Kurtzman; Robnett, 1998). As amostras para sequenciamento tiveram os produtos da PCR purificados (GenJET PCR Purification, UK), sendo o sequenciamento realizado na Plataforma de sequenciamento-LABCEN/CCB (UFPE), segundo protocolos internos do laboratório parceiro.

### **Identificação e Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (TSA)**

A identificação e o teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) foi realizado por métodos fenotípicos por automação. Os testes para identificação automatizados (Vitek®)

baseados na fermentação de carboidratos, seguiram a interpretação do manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), e a interpretação do TSA seguiu o protocolo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) para interpretação dos resultados.

### **Extração de DNA plasmidial e cromossômico a partir de isolados bacterianos**

Todos os isolados bacterianos foram coletados a partir de hemocultura positivas e submetidas à extração de DNA e detecção dos genes de resistência.

A partir das culturas dos isolados em BHI ágar, o DNA foi extraído utilizando o kit da PROMEGA ReliaPrep™ (Promega®, São Paulo, Brasil) de acordo com o protocolo do fabricante. O DNA foi eluído em 50µL de água livre de nucleases. Uma alíquota do DNA extraído foi quantificada em NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific), a fim de verificar a eficácia, pureza e rendimento da extração. Em seguida foi analisado através de eletroforese em gel de agarose a 1% e corados com brometo de etídio.

### **Deteção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-negativos**

A amplificação do DNA pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi realizada no equipamento BioRad (System, Applied Biosystems®, CA, utilizando 10 µL (1.25 U/reacção) TopTaq Master Mix Kit (Qiagen®, EUA) utilizando 10 µM de cada iniciador; 200 µM de cada dNTP (10mM de cada), 1x TopTaq PCR Buffer contendo 15mM MgCl<sub>2</sub>, coralLoad 1x, água ultrapura e 2 µL de DNA. As condições de termociclagem foram diferentes de acordo com os genes de resistência estudados, usando estirpes de referência de tais como, *A. baumannii* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13882, *E. coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Salmonella enterica* ATCC 35640 foram cedidas pelo Departamento de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Um ensaio de PCR convencional foi realizado para 55 isolados recuperados de 45 pacientes para detectar três famílias de genes ESBL. A detecção dos genes de resistência *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>* foram realizados em todos os isolados bacterianos Gram-negativos. A PCR para detecção de ESBL foi realizada utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento 60 °C a 1 minuto e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos, para cada um dos genes estudados (Quiles et al.,

2015). E a detecção do gene *mcr-1* foi realizada em todos que apresentaram resistência a múltiplas drogas. A investigação do gene *mcr-1* foi realizada utilizando os *primers* descritos por Lima et al., (2017). As reações de amplificação foram preparadas em um volume de 25 µL por tubo, compreendendo: 1µL de DNA genômico, 1,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 3,5 pmol dos *primers*. A amplificação foi realizada sob as seguintes condições térmicas de ciclagem: 94 °C por 10 minutos seguidos de 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos e 72 °C por 2 minutos, com extensão final de 72 °C por 10 minutos.

E oito famílias dos genes carbapenemases, (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub>) foram pesquisados para a detecção de carbapenemases, realizada em todos os isolados bacterianos Gram-negativos, utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 25 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto, anelamento a 1 minuto (de acordo com a temperatura de anelamento para cada gene) e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos (Tabela 1).

As cepas foram também submetidas a PCR para detecção de carbapenemases de classe D, como a oxacilinase (*bla*<sub>OXA-48</sub> e *bla*<sub>OXA-58</sub>), utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 94 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 94 °C a 45 segundos, anelamento 52 °C a 45 segundos e extensão 72 °C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 6 minutos (Tabela 1).

Tabela 1 - Sequência de iniciadores dos genes de resistência a carbapenemases com as respectivas temperaturas de anelamento e tamanho de amplicons.

Carbapenemases	Genes de Carbapenemases	Sequência de Iniciadores (5'-3')	Tamanho de amplicons em pb	Temperatura °C	Referências
Classe A	<i>bla</i> <sub>KPC-F</sub>	ATGTCACTGTATCGCCGTCTAGTTC	800	60°C	Menezes et al, 2013
	<i>bla</i> <sub>KPC-R</sub>	CAATCCCTCGAGCGGAGTC			
	<i>bla</i> <sub>GES-F</sub>	CTATTACTGGCAGGGATCG	594	55°C	Monteiro, 2012
	<i>bla</i> <sub>GES-R</sub>	CCTCTCAATGGTGTGGGT			
	<i>bla</i> <sub>NDM-F</sub>	CGGAATGGCTCATCACGATC	580-605	60°C	Nithia et al, 2017
	<i>bla</i> <sub>NDM-R</sub>	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC			
	<i>bla</i> <sub>IMP-F</sub>	GAATAG(A\G) (A\G)TGGCTTAA(C\T)TCTC	188	52°C	Mendes, 2007
	<i>bla</i> <sub>IMP-R</sub>	CAAAC(C\T)ACTA(G\C)GTTATC			
Classe B	<i>bla</i> <sub>VIM-F</sub>	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	382	52°C	Mendes, 2007
	<i>bla</i> <sub>VIM-R</sub>	AATGCGCAGCACCAGGATAG			

	<i>bla</i> <sub>SPM-F</sub>	CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG	798	52°C	Mendes,
	<i>bla</i> <sub>SPM-R</sub>	CCTTTTCCGCGACCTTGATC			2007
	<i>bla</i> <sub>GIM-F</sub>	TCAATTAGCTCTTGGGCTGAC	72	55°C	Mendes,
	<i>bla</i> <sub>GIM-R</sub>	CGGAACGACCATTGGAATGG			2007
	<i>bla</i> <sub>SIM-F</sub>	GTACAAGGGATTTCGGCATCG	569	55°C	Mendes,
	<i>bla</i> <sub>SIM-R</sub>	TGGCCTGTCCCATGTGAG			2007
<b>Classe D</b>	<i>bla</i> <sub>OXA-48-F</sub>	TTGGTGGCATCGATTATCGG	743	52°C	Poirel et al,
	<i>bla</i> <sub>OXA-48-R</sub>	GAGCACTTCTTTGTGATGGC			2004
	<i>bla</i> <sub>OXA-58-F</sub>	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599	52°C	Amudhan et
	<i>bla</i> <sub>OXA-58-R</sub>	CCCCTCTGCGCTACATAC			al 2011

Ajustado de acordo com a classificação de  $\beta$ -lactamases de Ambler (1980).

### Condições da PCR para identificação do gene *mcr-1*

A investigação do gene *mcr-1* foi realizada utilizando os *primers* descritos por Lima et al., (2017). As reações de amplificação foram preparadas em um volume de 25  $\mu$ L por tubo, compreendendo: 1 $\mu$ L de DNA genômico, 1,0U da enzima *Taq* DNA polimerase (Promega), 2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 3,5 pmol dos *primers*. A amplificação foi realizada sob as seguintes condições térmicas de ciclagem: 94 °C por 10 minutos seguidos de 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos e 72 °C por 2 minutos, com extensão final de 72 °C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose 1% corados com brometo de etídio.

### Detecção de genes de resistência em isolados bacterianos Gram-positivos

Em todos os isolados Gram-positivos foram submetidos a detecção dos genes de resistência *mecA*, *vanA*, *vanB* utilizando estirpes de referência de organismos, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 *S. epidermidis* ATCC 12228, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 19434. Os *primers* *mecA*-F (5'-AAACTAGGTGTTGGTGAAGATATAACC-3') and *mecA*-R (5'-GAAAGGATCTGTACTGGGTTAATCAG-3') com fragmentos de 147 pb, os *primers* *VanA*-F (5'-CATGACGTAATCGGTAAAATC-3') e *VanA*-R (5'-ACCGGGCAGRGTATTGAC-3') com tamanho de fragmento de 732 pb. E os *primers* *VanB*-F (5'-CATGATGTGTCGGTAAAATC-3') e *VanB*-R (5'-ACCGGGCAGRGTATTGAC-3') com tamanho de fragmento de 635 pb. Utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95 °C a 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95 °C a 1 minuto,

anelamento 60 °C a 1 minuto e extensão 72°C a 1 minuto. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C a 10 minutos.

Os produtos de PCR amplificados foram corados com brometo de etídio e visualizados por eletroforese em géis de agarose a 1%, utilizando o sistema de documentação fotográfica System L-Pix EX (LoccusBiotechnology, Brasil).

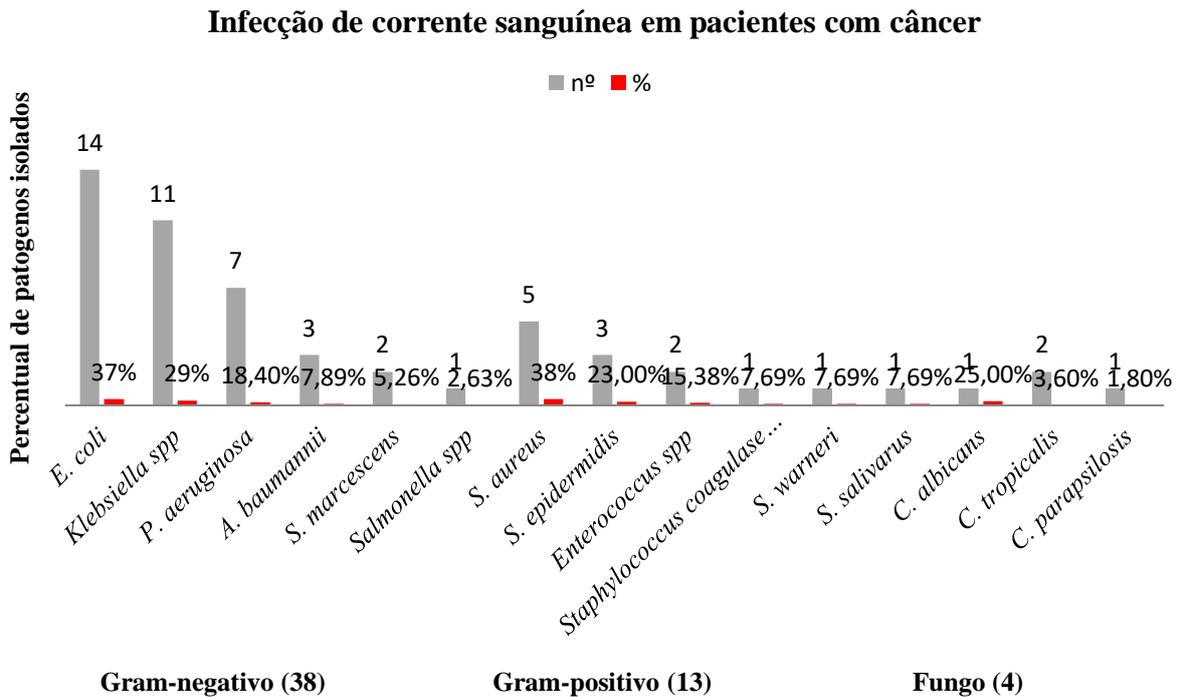
As sequências consenso foram editadas por meio do programa Sequencher 4.7 e, em seguida, submetidas a ferramenta BLAST do GenBank (National Center of Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para busca por sequências similares. As sequências obtidas foram alinhadas com sequências de confiança depositadas no banco de dados e analisadas filogeneticamente com o auxílio do programa MEGA-x.

## **Resultados**

### **Detecção de patógenos na corrente sanguínea**

Foram recuperados 55 isolados clínicos de amostras de hemoculturas de 45 pacientes com câncer, sendo 38 Gram-negativos, 13 Gram-positivos e quatro leveduras. Dos BGN, os mais frequente foram *Escherichia coli* (36,8%) e *Klebsiella pneumoniae* (28,9%). Entre os Gram-positivos, os mais frequentes foram *Staphylococcus aureus* (38,5%) e *Staphylococcus epidermidis* (23%). Quatro pacientes apresentaram infecções por espécies de *Candida* spp. (Figura 1). Foram identificadas infecção de corrente sanguínea polimicrobiana em cinco casos, envolvendo infecção polimicrobiana por BGN, *Candida* spp. e BGN e *Candida* spp. e CGP.

Figura 1 - Percentual de patógenos isolados da corrente sanguínea de pacientes com câncer



### Perfil de suscetibilidade antimicrobiana em isolados bacterianos

Dentre as bactérias gram-negativas, a maioria apresentou resistência à ampicilina (63,15%), cefepime (39,4%), ciprofloxacino (34,2%) e cefuroxima (29%). Foi possível observar elevado percentual de resistência a ampicilina em *Klebsiella spp* 100% (11/11) e *Escherichia coli* 78,6% (11/14) (Tabela 2). Cefalosporina de 4ª geração foi a classe de antibióticos que apresentou maior resistência em *Acinetobacter baumannii* (66%), *Pseudomonas aeruginosa* (42,8%), *Klebsiella spp.* (36,3%) e *Escherichia coli* (28,5%). Assim como, *Serratia marcescens* (100%), *Salmonella spp.* (100%), *Klebsiella spp.* (36,3%) e *Escherichia coli* (28,5%) apresentaram resistência à cefuroxima e cefalosporina de 2ª geração (Tabela 3). Da classe fluoroquinolonas, o percentual de resistência a ciprofloxacino variou de 27,2% para os isolados de *Klebsiella spp.* e 66% em *Acinetobacter baumannii* (Tabela 3). *Escherichia coli* apresentou maior resistência ao ácido nalidíxico da classe quinolonas (42,8%).

De forma geral, ao analisarmos o percentual de sensibilidade dos BGN observamos que 78,9% foram sensíveis a amicacina e ao meropenem, e 76,3% à gentamicina e 68,4% à ertapenem.

Nas bactérias Gram-positivas maior taxa de resistência foi à oxacilina 6/13 correspondendo à 46,1% e à eritromicina 5/13 correspondendo à 38,4%, também se observou alta resistência à penicilina e à gentamicina 4/13 correspondendo à 30,7% (Tabela 2).

A resistência a oxacilina foi observada em *Staphylococcus aureus* 3/5 (60%) *Staphylococcus coagulase negativo* 3/4, sendo este último identificado como *Staphylococcus epidermidis* (75%). Da classe de macrolídeos, a resistência à eritromicina foi observada em *S. epidermidis* 3/3(100%) e *S. aureus* 2/5 (40%). A resistência à penicilina e ao aminoglicosídeo gentamicina foram 2/5 (40%) e 1/3 *S. epidermidis* (33,3%) e 1/1 SCoN (100%) (Tabela 3).

A resistência à clindamicina, sulfametoxazol/trimetoprim e à levofloxacina foram observados em *S. aureus* e *S. epidermidis*. A resistência à amicacina e vancomicina foi observada apenas em *Enterococcus faecium* (Tabela3).

Dos 55 isolados, 28 foram MDR (50,9%), enquanto seis isolados bacterianos foram sensíveis a todos os antibióticos testados (10,9%) e três dos patógenos isolados foi resistente a todas as classes de antibióticos testadas (5,45%).

Tabela 2 - Perfil de resistência antimicrobiana em organismos isolados de infecção na corrente sanguínea de pacientes com câncer através de teste automatizado.

Perfil de resistência frente aos antimicrobianos	(nº)	(%)
<b>Gram-negativos</b>	<b>38</b>	
Ácido nalidíxico	10	26,3%
Ciprofloxacino	13	34,2%
Norfloxacina	7	18,4%
Amoxicilina/clavulanico	3	7,9%
Ampicilina/subactam	4	10,5%
Piperaciclina/tazobactam	8	21%
Cefalotina	10	26,3%
Cefepima	15	39,4%
Ceftriaxona	10	26,3%
Cefuroxima	11	29%
Cefoxitina	1	2,6%
Ceftazidima	5	13%
Amicacina	6	15,7%
Gentamicina	9	23,6%
Meropenem	7	18,4%
Imipenem	4	10,5%
Ertapenem	2	5,2%
Ampicilina	24	63,15%
Tigeciclina	4	10,5%
Sulfametoxazol/trimetoprim	4	10,5%
<b>Gram-positiva</b>	<b>13</b>	
Oxacilina	6	46%
Penicilina	4	30,7%
Eritromicina	5	38,4%
Clindamicina	3	23%

Sulfametoxazol/trimetoprim	3	23%
Gentamicina	4	30,7%
Vancomicina	1	7,7%
Daptomicina	0	
Tigeciclina	0	
Linezolida	0	
Ceftarolina	0	

### Detecção de genes de resistência bacteriana

A detecção de gene  $\beta$ -lactamases de amplo espectro foi observada em 29/38 isolados Gram-negativos (76,3%). O gene *bla*<sub>TEM</sub> foi detectado em 22 isolados, dentre eles 10 *E. coli*, 5 *K. pneumoniae*, 2 *P. aeruginosa* e 2 *A. baumannii*. O gene *bla*<sub>CTX-M</sub> foi detectado em 16 isolados, 7 *K. pneumoniae*, 5 *E. coli* e 2 *P. aeruginosa*. O gene *bla*<sub>SHV</sub> foi detectado em apenas 2 isolados, 1 *E. coli* e 1 *A. baumannii* (Tabela 4).

Foi detectada alta frequência dos genes carbapenemases foi observada em 30/38 isolados (78,9%). O gene mais frequentemente encontrado foi serino-b-lactamase *bla*<sub>oxa-48</sub> 29/38 (76,3,5%), sendo *E. coli* (12), *K. pneumoniae* (8), *P. aeruginosa* (4), *Serratia marcescens* (2), *A. baumannii* (2), e nas espécies de *P. alcaligenes* e *Salmonella* spp (1). Em seguida o gene *bla*<sub>SIM</sub> 27/38 (71%), *E. coli* (10), *K. pneumoniae* (9), *P. aeruginosa* (6), *P. alcaligenes* (1) e *Serratia marcescens* (1). A detecção do gene *bla*<sub>GES</sub> foi de 21/38 (55,2%), *E. coli* (8), *K. pneumoniae* (7), *P. aeruginosa* (3), *A. baumannii* (1), *Serratia marcescens* (1) e *Klebsiella oxytoca* (1). O gene *bla*<sub>NDM</sub> 15/38 (39,4%) foi detectado em *E. coli* (7), *K. pneumoniae* (6), *P. aeruginosa* (1) e *Serratia marcescens* (1). O gene *bla*<sub>KPC</sub> 11/38 (28,9%) foi detectado em *E. coli* (5), *K. pneumoniae* (3), *P. aeruginosa* (2) e *S. marcescens* (1). O gene *bla*<sub>SPM</sub> 7/38 (18,4%) foi encontrado em 7 isolados, *K. pneumoniae* (2), *P. aeruginosa* (2), *Pseudomonas alcaligenes* (1), *A. baumannii* (1) e *Serratia marcescens* (1). O gene *bla*<sub>oxa-58</sub> 10/38 (26,3%) foi detectado em *E. coli* (7), e nas espécies de *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *Serratia marcescens* (1). O gene *bla*<sub>VIM</sub> 7/38(18,4%), *E. coli* (5) e *K. pneumoniae* (2). O gene *bla*<sub>IMP</sub> foi detectado em 6 isolados, sendo *E. coli* (5) e *K. pneumoniae* (1). Podendo o mesmo isolado carregar mais de um gene (tabela 4). O gene *mcr-1* não foi detectado em nenhum dos isolados testados.

Das bactérias Gram-positivas, cinco foram *S. aureus*, três *Staphylococcus* coagulase negativo, deste, (três foram *S. epidermidis*, um *S. warneri* e um *Streptococcus salivarius*, um SCN não identificado), e dois *Enterococcus* spp. A presença do gene *mecA* foi detectada em 6/13 (46,15%) isolados, *Staphylococcus aureus* e SCoN (*S. epidermidis*) e *Enterococcus*

*faecalis*. Apenas um isolado de *Enterococcus faecium* apresentou o gene *vanA* (1/13) (7,7%). Não foi detectado o gene *vanB* em nenhum dos isolados estudados (Tabela 4).

### Detecção de ICS fúngica

Quatro espécies de *Candida* spp. foram encontradas nessa população. A resistência a fluconazol foi observada em 3/4 isolados. Um isolado de *Candida tropicalis* apresentou como sensível dose dependente a caspofungina. Todas as espécies apresentaram resistência à voriconazol (Tabela 5).

Tabela 5 - Teste de suscetibilidade antifúngico para *Candida* spp. em isolados obtidos de pacientes com câncer

PC	Id	Cepas	Tratamento antifúngicos / valores de MIC (µg / mL)					
			AMB	FLZ	VRZ	CPF	MCF	ANF
1	1047	<i>C. tropicalis</i>	0,03	32	16	0,06	0,03	0,03
2	1173	<i>C. albicans</i>	0,125	8	16	0,125	0,03	0,03
3	1345	<i>C. tropicalis</i>	1	32	16	0,5	0,03	0,125
4	539	<i>C. parapsilosis</i>	0,5	0,5	16	0,06	0,06	0,06

PC- Pacientes. Id – nº do código de identificação. AMB – anfotericina B, FLZ – fluconazol, VRZ – voriconazol, CPF – caspofungina, MCF – micafungina, ANF – anidulafungina.

### Discussão

As características fenotípicas e moleculares de 55 isolados clínicos resgatados de hemoculturas de portadores de neoplasias malignas permitiu observar uma maior frequência de BGN (69%) maior que CGP (23,63%), além de 7,2% de leveduras. Os BGNs têm sido implicados como principal causa de ICS em pacientes com câncer (Kara et al., 2015; Gudiol et al., 2016).

Os BGN mais encontrados foram *Escherichia coli* (25,4%), *Klebsiella pneumoniae* (20%) e *Pseudomonas aeruginosa* (12,7%), assim como também foram reportados em estudos recentes (Lubwama et al., 2019; Liang et al., 2020; Abbasi Montazeri et al., 2020; Paul et al., 2020). Evidências têm sugerido o fenômeno da translocação bacteriana, onde enterobactérias atravessam a parede do intestino, migrando para corrente sanguínea, causando bacteremia em pacientes que recebem quimioterapia contra o câncer (Patel et al., 2017; Ota et al., 2020), explicando em parte a maior frequência deste grupo de bactérias na etiologia da infecção da corrente sanguínea.

A epidemiologia da ocorrência de bacteremias em pacientes com câncer tem se modificado ao longo do tempo e tem sido caracterizada por uma mudança no perfil de bactérias Gram-negativas (década de 1960 a 1970) para bactérias Gram-positivas (década de 1980). As

bactérias Gram-negativas vêm predominando como os principais agentes de infecções de corrente sanguínea em pacientes com câncer nas duas últimas décadas no cenário global (Bhat et al., 2021; Ghosh et al., 2021).

De acordo com Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY) *S. aureus* e *E. coli* têm sido apontados como os patógenos predominantes de ICS no mundo nos últimos 20 anos (Diekema et al., 2019). Nosso estudo mostrou maior frequência de SCoN e *S. aureus* entre as bactérias Gram-positivas, corroborando com outros estudos (Calvo-Lon et al., 2018; Mert et al., 2019; Sierra et al., 2020).

A ocorrência de infecções polimicrobianas em três casos estavam associados à neutropenia e a presença de cateter. Em dois casos foram associados à MDR, sendo um caso relacionado à procedimento operatório. Presença de neutropenia, procedimentos invasivos recentes e dispositivos têm sido identificados como fatores de risco para infecção polimicrobiana da corrente sanguínea, destacando que isolados MDR têm sido mais comumente encontrados em infecção polimicrobiana (Royo-Cebrecos et al., 2017; Goldman et al., 2020). Infecções polimicrobianas foram responsáveis por 9% (5/55) desses casos, corroborando com o estudo de ICS em pacientes com câncer na Índia (Agrawal et al., 2019). A ocorrência de genes de resistência a  $\beta$ -lactamases em isolados de infecção polimicrobiana da corrente sanguínea foi relatado de paciente com leucemia mieloide aguda no Brasil, incluindo, *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub> em *P. aeruginosa*, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *E. coli*, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *K. pneumoniae* e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *A. baumannii* (Soares et al., 2021).

BGN apresentaram maior resistência à aminopenicilinas, cefalosporina de quarta geração, fluoroquinolonas, cefalosporinas de segunda e primeira geração e aminoglicosídeos concordando com os resultados de um estudo na Índia realizado com 66 casos de infecção na corrente sanguínea (Bhat et al., 2021). Foi observado aumento da resistência a carbapenêmicos, combinações de inibidores de beta-lactamase beta-lactamase, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e cefalosporinas (incluindo alta resistência a cefepima) (Ghosh et al., 2021).

O presente estudo mostrou resistência a meticilina correspondendo à 46,15%, incluindo as espécies *Staphylococcus aureus* (MRSA) e *Staphylococcus* coagulase negativo (MRSCoN), respectivamente. Estudos recentes têm observado resistência à meticilina em *Staphylococcus* spp. variando entre 38,4% a 93% (Carlesse et al., 2016; Mert et al., 2019). Resistência à meticilina tem sido mais frequente em SCoN comparado a *S. aureus* (Fentie et al., 2018; Vahedian-Ardakani et al., 2019). E a ocorrência de *Enterococcus* resistente à vancomicina foi de 7,7%, semelhante a encontrada por Bha et al., (2021). A prevalência de VRE tem se tornado estável ou diminuindo ao longo dos anos (Diekema et al., 2019).

Infecções por MDR são fenômenos preocupantes, particularmente em pacientes com câncer (Cattaneo et al., 2018), devido às baixas opções terapêutica e consequentemente maior risco de mortalidade (Islas-Muñoz et al., 2018). Entre os patógenos isolados a frequência geral de MDR foi 50,9% (28/55). As principais bactérias MDR isoladas foram *E. coli* e *K. pneumoniae*, apresentam resultados concordantes com outros estudos (Fentie et al., 2018; Ghosh et al., 2021).

A detecção de genes de resistência ESBL foi de 76,3%, apresentando dados próximos àqueles encontrados por outros estudos nesta mesma população de pacientes com câncer. México (72,8%) (Islas-Muñoz et al., 2018), Coréia (55,6%) (Kang et al., 2012), Irã (84,9%) (Vahedian-Ardakani et al., 2019) e no Brasil, (71,4%) (Carlesse et al., 2016). Os principais genes detectados foram *bla<sub>TEM</sub>* (58%) e *bla<sub>CTX</sub>* (42,1%), além disso, 18,4% (7/38) coabrigaram os genes *bla<sub>TEM</sub>* e *bla<sub>CTX</sub>*, corroborando com outros estudos (Zhang et al., 2019; Abbasi Montazeri et al., 2020).

Foi detectado alta prevalência de carbapenemases (78,9%) que parece expressar frequência bem mais elevada do que aquelas apresentadas por outros estudos (Islas-Muñoz et al., 2018, Tawfick et al., 2020). Enterobacteriaceae resistentes a carbapenem (CRE) tem sido cada vez mais prevalente em pacientes com câncer e associados à terapia empírica ineficaz (Satlin et al., 2013). O mecanismo de resistência a carbapenêmicos é a hidrólise pelas carbapenemases que são codificadas em plasmídeos e são altamente transmissíveis. A resistência ao carbapenem também pode ser atribuída a mutações ou outras modificações que alteram o nível de produção ou a afinidade de ligação das proteínas de ligação à penicilina (Nordmann, Poirel, 2019). Esse problema reflete no uso de diferentes carbapenêmicos em hospitais além de variar de acordo com a localização geográfica (Nordmann, Poirel, 2019).

A carbapenemase mais frequentemente detectada foi *bla<sub>OXA-48</sub>* (76,3%). Um estudo do Egito com pacientes oncológicos também encontrou alta prevalência de *bla<sub>OXA-48</sub>* (68,88%) (Tawfick et al., 2020). Outro estudo envolvendo vários países da Europa demonstrou que *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram os principais produtores de carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48-like ou VIM) (Grundmann et al., 2017), assim como também no Brasil (Jácome et al., 2016).

A frequência do gene *bla<sub>oxa-48</sub>* foi detectada em 70,83% e 92% nos isolados de *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, respectivamente no Irã (Tarafdard et al., 2020). Outros estudos relataram a ocorrência de genes que codificam subgrupos de carbapenemases OXA, entre eles o gene *bla<sub>OXA-58</sub>* (Woodford et al., 2006; Hou Yang, 2015). A enzima OXA-48 leva à resistência aos carbapenêmicos, limitando as opções terapêuticas, pois os micro-organismos produtores de

OXA-48 e intrinsecamente resistentes à colistina quando infectam pacientes podem ser fatais, causam alta mortalidade (Sah et al., 2019).

Detectamos alta frequência de *bla*<sub>SIM</sub> em enterobacteciales 27/38, correspondendo à 71%. Assim como também foi relatado *bla*<sub>SIM-1</sub> no Egito com frequência de 48% (Hashem et al., 2017). No Brasil foram relatados 66,6% em amostras humanas e de animais (Santos et al., 2020). A presença do genótipo carbapenemase *bla*<sub>NDM</sub> detectado em nosso estudo também tem sido comumente encontrado em ICS em portadores de malignidades (Tawfick et al., 2020), assim como também o gene *bla*<sub>KPC</sub> (Jácome et al., 2016).

Destacamos a presença do gene *bla*<sub>SPM</sub> em isolados de *Pseudomonas* spp., assim como já foi encontrado nos estudos de Poirel et al. (2004) e em *A. baumannii* (Jácome et al., 2016), a qual foi quem descreveu o primeiro relato do gene *bla*<sub>SPM-1</sub> em *Acinetobacter baumannii* no Brasil.

Apesar de MRSA ser frequente em ICS na população hospitalar (Monaco et al., 2017), poucos estudos mencionam a ocorrência de MRSA em ICS de pacientes com câncer (Li et al., 2021). A frequência do gene *mecA*, no qual todos apresentaram resistência fenotípica a meticilina foi de 46,1% (6/13). A prevalência de MRSA em pacientes com câncer em hospitais da Turquia foi de 50%, abrigando o genótipo *mecA* (Atmaca et al., 2014). O gene *vanA* foi detectado em isolado de *Enterococcus faecium* resgatado de corrente sanguínea de um paciente com câncer de cólon, cujo fenômeno da translocação bacteriana através da permeabilidade da mucosa do cólon lesado possa ter atuado como fator de risco para o evento (Amarnani; Rapose, 2017).

Espécies de *Candida* foram encontradas em quatro amostras (7,2%). *Candida* spp. é a levedura mais comumente isolada em ICS (Alves et al., 2018). *Candida tropicalis* foi a espécie mais frequente em nosso estudo, sendo comumente encontrada em pacientes com câncer (Wu et al., 2017). Nosso estudo apresentou duas infecções concomitantes de corrente sanguínea envolvendo fungos e bactérias, sendo um caso de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Candida parapsilosis*. E outro de SCN e *Candida tropicalis*. Uma monoinfecção fúngica foi registrada por *Candida tropicalis*. Infecções de corrente sanguínea envolvendo simultaneamente bactérias e leveduras tem sido documentada (Tang et al., 2014).

Nosso resultado mostrou resistência a voriconazol em todas as *Candidas* spp. A taxa de resistência aos azóis entre *C. tropicalis* tem sido significativa em comparação com as taxas de resistência à micafungina (Guo et al., 2020). O antifúngico caspofungina apresentou suscetibilidade dose dependente em *Candida tropicalis* (1/4). A caspofungina tem sido relatada

apresentando potente atividade contra *Candida* spp. resistentes ao fluconazol (Shekari et al., 2015).

O crescente cenário relacionado ao surgimento de espécies de *Candida* resistentes ao fluconazol e voriconazol é um quadro preocupante. Um estudo na Austrália alerta sobre o surgimento de resistência aos azóis entre *C. tropicalis* (Chapman et al., 2017). Voriconazol tem sido relatado como um agente importante no tratamento de fungos hialinos e eficaz para infecções causadas por espécies de *Candida*, incluindo aquelas que são resistentes ao fluconazol (Malani et al., 2015).

A resistência ao azol pode surgir por meio de vários mecanismos, incluindo superexpressão ou alteração do alvo da droga, regulação positiva dos transportadores da droga ou alterações celulares que reduzem a toxicidade da droga ou permitem a tolerância ao estresse induzido pela droga. A ativação de bombas de efluxo associadas à membrana que modulam a resistência através de transportadores ABC e facilitador principal (MFS), permitindo a resistência a múltiplas drogas (Cowen et al., 2014).

Desta forma, com o surgimento de fungos resistentes a medicamentos, tem sido explorado a combinação de antibióticos com antifúngicos para potencializar o tratamento, como a colistina pôde aumentar a atividade antifúngica do fluconazol (Bibi et al., 2021).

A disseminação mundial de isolados resistentes, aliado as poucas opções terapêuticas disponíveis têm influenciado negativamente o tratamento e prognósticos dos pacientes (Sharafutdinov et al., 2020). Espécies de *Candida albicans*, sobretudo as emergentes, tem influenciado significativamente no curso clínico dos pacientes ao redor do mundo. Atualmente, as diretrizes mais recentes no tratamento das infecções fúngicas tem recomendado o fluconazol como uma opção terapêutica primária no combate dessas infecções. Contudo, tem havido relatos crescentes no aumento da resistência inerente a este medicamento que podem representar uma ameaça global à saúde (Berkow, Lockhart, 2017).

## Conclusão

A resistência antimicrobiana apresenta grande preocupação principalmente devido a disseminação de genes de resistência em população vulnerável às infecções devido ao uso de quimioterapia. Medidas para prevenir e controlar a disseminação dos genes de resistência são essenciais para reduzir os riscos de morbidade e mortalidade.

## Financiamento

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco com o auxílio financeiro do Programa de Pesquisa para o SUS (PPSUS), pelo APQ-0563- 4.01/17 na categoria de pesquisa básica.

### **Conflitos de interesse**

Todos os autores declaram nenhum conflito de interesse.

### **Agradecimentos**

À equipe do Laboratório de Microbiologia por fornecerem gentilmente algumas linhagens de controles utilizadas no desenvolvimento deste trabalho, agradecemos à Maria Cândida Nascimento da Costa pelo seu apoio nas pesquisas e pela assistência técnica.

### **Referências**

1. Klastersky, J.; Ameye, L.; Maertns, J., et al. Bacteraemia in febrile neutropenic cancer patients. *Int J. Antimicrob Agent.* V. 30, p. 51-59, 2007.
2. Cattaneo, C. Antoniazzi, F. Casari, S. et al. *P. aeruginosa* blood-stream infection among hematological patients: an old or new question? *Ann Hematol.* V.91 (8), p. 1299-1304, 2012
3. Aslan, S.; Citak, E. C.; Yis, R.; Degirmenci, S.; Arman, D. Bacterial Spectrum and antimicrobial susceptibility pattern of bloodstream infections in children with febrile neutropenia: experience of single center in southeast of Turkey. *Indian J. Microbiol*, v. 52(2), p. 203-208, 2012.
4. Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS. Dez ameaças à saúde que a OMS combaterá em 2019. Brasília (DF); 2019. Available in <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>
5. Mert D, Ceken S, Iskender G, et al. Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infect Dev Ctries.* 2019;13(8):727-735.
6. Castanheira M, Deshpande Lm, Mathai D, Bell Jm, Jones Rn, Mendes Re. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181- producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006–2007. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:1274–8.
7. Paterson DL, Bonomo RA. Beta-lactamases de espectro estendido: uma atualização clínica. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18 : 657-686.
8. Ceken S, Iskender G, Gedik H, Duygu F, Mert D, Kaya AH, Altuntas F, Ertek M. Risk factors for bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in cancer patients. *J Infect Dev Ctries.* 2018 Apr 30;12(4):265-272. doi: 10.3855/jidc.9720. PMID: 31851636.

9. Mitsuboshi S, Tsuruma N, Watanabe K, Takahashi S, Nakashita M, Ito A, Kobayashi K, Tsugita M. Does Quick Sepsis-Related Organ Failure Assessment Suggest the Use of Initial Empirical Carbapenem Therapy in Bacteremia Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Bacteria?: A Multicenter Case-Control Study. *Jpn J Infect Dis.* 2019 Mar 25;72(2):124-126.
10. Tohamy ST, Aboshanab KM, El-Mahallawy HA, El-Ansary MR, Afifi SS. Prevalence of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from febrile neutropenic cancer patients with bloodstream infections in Egypt and new synergistic antibiotic combinations. *Infect Drug Resist.* 2018 May 25;11:791-803.
11. Calvo-Lon J, Landaverde DU, Ramos-Esquivel A, Villalobos-Vindas JM. Epidemiology and Outcomes of Bloodstream Infections in Patients With Solid Tumors in a Central American Population at Mexico Hospital, San Jose, Costa Rica. *J Glob Oncol.* 2018;4(4):1-6.
12. Cattaneo C, Di Blasi R, Skert C, et al. Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Ann Hematol.* 2018;97(9):1717-1726. doi:10.1007/s00277-018-3341-6
13. Nham E, Huh K, Cho SY, Chung DR, Peck KR, Lee NY, Kang CI. Characteristics and Clinical Outcomes of Extended-Spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia in Cancer Patients. *Infect Chemother.* 2020; 52 (1): 59-69.
14. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(2):153-163.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. (Document M27-S4), Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
17. Inácio CP, Rocha AP, Barbosa RN, Oliveira NT, Silva JC, de Lima-Neto RG, Macêdo DP, Neves RP. Experimental white piedra: a robust approach to ultrastructural analysis, scanning electron microscopy and etiological discoveries. *Exp Dermatol.* 2016; 25(1): 79-81. doi: 10.1111/exd.12884.
18. Kurtzman C.P.; Robnett C.J. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J Clin Microbiol.* 1997; 35: 1216-1223

19. Quiles MG, Menezes LC, Bauab Kde C, Gumpl EK, Rocchetti TT, Palomo FS, Carlesse F, Pignatari AC. Diagnosis of bacteremia in pediatric oncologic patients by in-house real-time PCR. *BMC Infect Dis*. 2015 Jul 23;15:283. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1033-6>.
20. Lima Barbieri N, Nielsen DW, Wannemuehler Y, et al. *mcr-1* identified in Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PLoS One*. 2017;12(3):e0172997.
21. Menezes LC, Rocchetti TT, BauabKde C, Cappellano P, Quiles MG, Carlesse F, de Oliveira JS, Pignatari AC. Diagnosis by real-time polymerase chain reaction of pathogens and antimicrobial resistance genes in bone marrow transplant patients with bloodstream infections. *BMC Infect Dis*. 2013 Apr 5;13:166. doi: 10.1186/1471-2334-13-166.
22. Monteiro J, Widen RH, Pignatari AC, Kubasek C, Silbert S. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Apr;67(4):906-9. doi: 10.1093/jac/dkr563.
23. Nithia N, Remitha R, Jayasree PR, Faisal M, ManishKumar PR. Analysis of beta-lactamases, blaNDM-1 phylogeny & plasmid replicons in multidrug-resistant *Klebsiella* spp. from a tertiary care centre in south India. *Indian J Med Res*. 2017;146(1):38-45.
24. Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J, Castanheira M, Andrade SS, Gales AC, Pignatari AC, Tufik S. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *J Clin Microbiol*. 2007 Feb;45(2):544-7. doi: 10.1128/JCM.01728-06.
25. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jan;48(1):15-22. doi: 10.1128/aac.48.1.15-22.2004.
26. Amudhan, S.M., Sekar, U., Arunagiri, K., Sekar, B. OXA beta-lactamase mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbio*, Índia, 2011,29, n.3, p.269-274.
27. Ambler, R. P. The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, London. 1980, 289, n. 36, p. 321-331.
28. Kara Ö, Zarakolu P, Aşçıoğlu S, Etgül S, Uz B, Büyükaşık Y, Akova M. Epidemiology and emerging resistance in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infect Dis (Lond)*. 2015;47(10):686-93. doi: 10.3109/23744235.2015.1051105.
29. Gudiol C, Aguado JM, Carratalà J. Bloodstream infections in patients with solid tumors. *Virulence*. 2016 Apr 2;7(3):298-308. doi: 10.1080/21505594.2016.1141161. Epub 2016 Jan 19.
30. Lubwama M, Phipps W, Najjuka CF, Kajumbula H, Ddungu H, Kambugu JB, Bwanga F. Bacteremia in febrile cancer patients in Uganda. *BMC Res Notes*. 2019 Jul 30;12(1):464. doi: 10.1186/s13104-019-4520-9. PMID: 31362783; PMCID: PMC6668181.

- 31.Liang T, Xu C, Cheng Q, Tang Y, Zeng H, Li X. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Outcomes of Bloodstream Infection due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Hematologic Malignancy: A Retrospective Study from Central South China. *Microb Drug Resist*. 2020 Nov 24. doi: 10.1089/mdr.2020.0033.
- 32.Abbasi Montazeri E, Khosravi AD, Saki M, Sirous M, Keikhaei B, Seyed-Mohammadi S. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Causing Bloodstream Infections in Cancer Patients from Southwest of Iran. *Infect Drug Resist*. 2020 May 6;13:1319-1326. doi: 10.2147/IDR.S254357.
- 33.Paul M, Bhatia M, Rekha US; Diksha I, Omar BJ, Gupta P. Microbiological Profile of Blood Stream Infections in Febrile Neutropenic Patients at a Tertiary Care Teaching Hospital in Rishikesh, Uttarakhand. *J Lab Physicians*. 2020 Aug;12(2):147-153. doi: 10.1055/s-0040-1716661.
- 34.Patel HG, Tabassum S, Shaikh S. *E. coli* Sepsis: Red Flag for Colon Carcinoma-A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Gastrointest Med*. 2017;2017:2570524. doi: 10.1155/2017/2570524.
- 35.Ota A, Morita S, Matsuoka A, Shimokata T, Maeda O, Mitsuma A, Yagi T, Asahara T, Ando Y. Detection of bacteria in blood circulation in patients receiving cancer chemotherapy. *Int J ClinOncol*. 2020 Jan;25(1):210-215. doi: 10.1007/s10147-019-01521-y.
- 36.Bhat S, Muthunatarajan S, Mulki SS, Archana Bhat K, Kotian KH. Bacterial Infection among Cancer Patients: Analysis of Isolates and Antibiotic Sensitivity Pattern. *Int J Microbiol*. 2021 Jan 7;2021:8883700. doi: 10.1155/2021/8883700.
- 37.Ghosh S, Chakraborty M, Samanta S, Sinha N, Saha S, Chattopadhyay A, et al. Analysis of blood stream infections, antibiograms and clinical outcomes in haematological patients with febrile neutropenia: data from a tertiary care haematology institute in India. *Ann Hematol*. 2021 Feb;100(2):395-403. doi: 10.1007/s00277-020-04324-8.
- 38.Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS, Jones RN. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Jun 24;63(7):e00355-19. doi: 10.1128/AAC.00355-19.
- 39.Sierra J, Díaz MV, de JesúsGarcía M, Finello M, Suasnabar DF, Richetta L, Toranzo A, Hernández D, Cometto MA, Vázquez SM, Caeiro JP, Saad EJ. Infecciones del torrentesanguíneo en pacientes oncológicos [Bloodstream infections in cancer patients]. *Medicina (B Aires)*. 2020;80(4):329-338.
- 40.Royo-Cebrecos C, Gudíol C, Ardanuy C, Pomares H, Calvo M, Carratalà J. A fresh look at polymicrobial bloodstream infection in cancer patients. *PLoS One*. 2017 Oct 24;12(10):e0185768. doi: 10.1371/journal.pone.0185768.

41. Goldman S, Itshaki O, Shochat T, Gafter-Gvili A, Yahav D, Rubinovitch B, Shepshelovich D. Risk Factors and Outcome of Polymicrobial Bacteremia: A Retrospective Cohort Study. *Isr Med Assoc J.* 2020 May;22(5):279-284.
42. Agrawal SK, Gautam H, Choudhary AH, Das BK, Kumar L, Kapil A. Central Line-associated Bloodstream Infections in Cancer Patients: An Experience from a Tertiary Care Cancer Centre. *Indian J Med Microbiol.* 2019 Jul-Sep;37(3):376-380. doi: 10.4103/ijmm.IJMM\_19\_352.
43. Soares, CRP., Magalhães, V., Araújo, PSR. Coexistence of blaTEM, blaCTX, blaKPC, blaNDM, blaSIM e blaOXA-48 in polymicrobial bloodstream isolates from a patient with acute myeloid leukemia. *Research, Society and Development, [S. l.]*, 10,5, e39310514985, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i5.14985.
44. Carlesse F, Cappellano P, Quiles MG, Menezes LC, Petrilli AS, Pignatari AC. Clinical relevance of molecular identification of microorganisms and detection of antimicrobial resistance genes in bloodstream infections of paediatric cancer patients. *BMC Infect Dis.* 2016 Sep 1;16(1):462. doi: 10.1186/s12879-016-1792-8.
45. Fentie A, Wondimeneh Y, Balcha A, Amsalu A, Adankie BT. Bacterial profile, antibiotic resistance pattern and associated factors among cancer patients at University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia. *Infect Drug Resist.* 2018 Nov 8;11:2169-2178. doi: 10.2147/IDR.S183283.
46. Vahedian-Ardakani HA, Moghimi M, Shayestehpour M, Doosti M, Amid N. Bacterial Spectrum and Antimicrobial Resistance Pattern in Cancer Patients with Febrile Neutropenia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019 May 25;20(5):1471-1474. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.5.1471.
47. Islas-Muñoz B, Volkow-Fernández P, Ibanes-Gutiérrez C, Villamar-Ramírez A, Vilar-Compte D, Cornejo-Juárez P. Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *Int J Infect Dis.* 2018 Jun;71:59-64. doi: 10.1016/j.ijid.2018.03.022.
48. Kang CI, Chung DR, Ko KS, Peck KR, Song JH; Korean Network for Study of Infectious Diseases. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol.* 2012 Jan;91(1):115-21. doi: 10.1007/s00277-011-1247-7.
49. Zhang Q, Gao HY, Li D, et al. Clinical outcome of bloodstream infection by *Escherichia coli* in cancer patients with / without biofilm formation: a single center retrospective study. *Infect Drug Resist.* 2019; 12: 359–371. doi: 10.2147 / IDR.S192072
50. Tawfick MM, Alshareef WA, Bendary HA, Elmahalawy H, Abdulall AK. The emergence of carbapenemase bla<sub>NDM</sub> genotype among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates from Egyptian cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020 Jul;39(7):1251-1259. doi: 10.1007/s10096-020-03839-2.

51. Satlin MJ, Calfee DP, Chen L, Fauntleroy KA, Wilson SJ, Jenkins SG, Feldman EJ, Roboz GJ, Shore TB, Helfgott DC, Soave R, Kreiswirth BN, Walsh TJ. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2013 Apr;54(4):799-806. doi: 10.3109/10428194.2012.723210.
52. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis*. 2019 Nov 13;69(Suppl 7):S521-S528. doi: 10.1093/cid/ciz824.
53. Tarafdar F, Jafari B, Azimi T. Evaluating the antimicrobial resistance patterns and molecular frequency of *bla*<sub>oxa-48</sub> and *bla*<sub>GES-2</sub> genes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burn wound infection in Tehran, Iran. *New Microbes New Infect*. 2020 Apr 23;37:100686. doi: 10.1016/j.nmni.2020.100686.
54. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, Amyes SG, Livermore DM. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents*. 2006 Apr;27(4):351-3. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004.
55. Hou C, Yang F. Drug-resistant gene of *bla*OXA-23, *bla*OXA-24, *bla*OXA-51 and *bla*OXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Aug 15;8(8):13859-63.
56. Sah R, Khadka S, Shrestha GS, Acharya S, Aryal D, Shrestha P, Kattel HP, Shah NP, Pokhrel BM, Singh YP, Rijal B, Erdem H. Detection of Pan drug resistance OXA-48 producing *Providencia* in an ICU patient for the first time in Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019 Oct 15;8:155. doi: 10.1186/s13756-019-0608-1.
57. Hashem H, Hanora A, Abdalla S, Shaeky A, Saad A. Dissemination of metallo- $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Egypt: mutation in *bla*VIM-4. *APMIS*. 2017 May;125(5):499-505. doi: 10.1111/apm.12669.
58. Santos AL, Dos Santos AP, Ito CRM, Queiroz PHP, de Almeida JA, de Carvalho Júnior MAB, de Oliveira CZ, Avelino MAG, Wastowski IJ, Gomes GPLA, Souza ACSE, Vasconcelos LSNOL, Santos MO, da Silva CA, Carneiro LC. Profile of Enterobacteria Resistant to Beta-Lactams. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Jul 15;9(7):410. doi: 10.3390/antibiotics9070410.
59. Jácome PRLA, Alves LR, Jácome-Júnior AT, Silva MJBD, Lima JLDC, Araújo PSR, Lopes ACS, Maciel MAV. Detection of *bla*SPM-1, *bla*KPC, *bla*TEM and *bla*CTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. from cancer patients with healthcare-associated infections. *J Med Microbiol*. 2016 Jul;65(7):658-665. doi: 10.1099/jmm.0.000280.
60. Monaco M, Pimentel de Araujo F, Cruciani M, Coccia EM, Pantosti A. Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017;409:21-56. doi: 10.1007/82\_2016\_3.

- 61.Li Z, Zhuang H, Wang G, Wang H, Dong Y. Prevalence, predictors, and mortality of bloodstream infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with malignancy: systemic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2021 Jan 14;21(1):74. doi: 10.1186/s12879-021-05763-y.
- 62.Atmaca O, Zarakolu P, Karahan C, Cakır B, Unal S. Hacettepe Üniversitesi Erişkin ve Onkoloji Hastanelerinde yatan hastalarda haftanın metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* bakteriyemilerinde risk faktörleri (2004-2011), antibiyotik kullanımı ve izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları: Yuvalandırılmış olgu-kontrol çalışması [Risk factors and antibiotic use in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in hospitalized patients at Hacettepe University Adult and Oncology Hospitals (2004-2011) and antimicrobial susceptibilities of the isolates: a nested case-control study]. *Mikrobiyol Bul*. 2014 Oct;48(4):523-37. Turkish. doi: 10.5578/mb.8280.
- 63.Amarnani R, Rapose A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. *J Infect Public Health*. 2017 Sep-Oct;10(5):681-684. doi: 10.1016/j.jiph.2016.09.009.
- 64.Alves J, Palma P, Azevedo D, Rello J. Candidemia in the patient with malignancy. *Hosp Pract (1995)*. 2018 Dec;46(5):246-252. doi: 10.1080/21548331.2018.1508290.
- 65.Wu PF, Liu WL, Hsieh MH, Hii IM, Lee YL, Lin YT, Ho MW, Liu CE, Chen YH, Wang FD. Epidemiology and antifungal susceptibility of candidemia isolates of non-albicans *Candida* species from cancer patients. *Emerg Microbes Infect*. 2017 Oct 11;6(10):e87. doi: 10.1038/emi.2017.74.
- 66.Tang HJ, Liu WL, Lin HL, Lai CC. Epidemiology and prognostic factors of candidemia in cancer patients. *PLoS One*. 2014 Jun 5;9(6):e99103. doi: 10.1371/journal.pone.0099103.
- 67.Guo LN, Yu SY, Xiao M, Yang CX, Bao CM, Yu YH, Ye LY, Yang Y, Zhang G, Liu J, Liang GW, Min R, Zhu Y, Lei H, Liu YL, Liu LJ, Hu YJ, Hsueh PR, Xu YC. Species Distribution and Antifungal Susceptibility of Invasive Candidiasis: A 2016-2017 Multicenter Surveillance Study in Beijing, China. *Infect Drug Resist*. 2020 Jul 20;13:2443-2452. doi: 10.2147/IDR.S255843.
- 68.Shekari Ebrahim Abad H, Zaini F, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Safara M, Mortezaee V. In Vitro Activity of Caspofungin Against Fluconazole-Resistant *Candida* Species Isolated From Clinical Samples in Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2015 Jun 27;8(6):e18353. doi: 10.5812/jjm.18353v2.
- 69.Chapman B, Slavin M, Marriott D, Halliday C, Kidd S, Arthur I, Australian and New Zealand Mycoses Interest Group. Changing epidemiology of candidaemia in Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2017 Apr 1;72(4):1103-1108. doi: 10.1093/jac/dkw422. Erratum in: *J Antimicrob Chemother*. 2017 Apr 1;72(4):1270.

70. Malani AN, Kerr LE, Kauffman CA. Voriconazole: How to Use This Antifungal Agent and What to Expect. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015 Oct;36(5):786-95. doi: 10.1055/s-0035-1562903.
71. Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS. Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Nov 10;5(7):a019752. doi: 10.1101/cshperspect.a019752.
72. Bibi M, Murphy S, Benhamou RI, Rosenberg A, Ulman A, Bicanic T, Fridman M, Berman J. Combining Colistin and Fluconazole Synergistically Increases Fungal Membrane Permeability and Antifungal Cidality. *ACS Infect Dis*. 2021 Jan 20. doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00721.
73. Sharafutdinov, I.S. et al. Increasing Susceptibility of Drug-Resistant *Candida albicans* to Fluconazole and Terbinafine by 2(5H)-Furanone Derivative. *Molecules*. 2020 Feb; 25(3): 642. doi: 10.3390/molecules25030642
74. Berkow E.L., Lockhart S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infect. Drug Resist*. 2017; 10:237–245. doi: 10.2147/IDR.S118892.

Tabela 4 - Detecção de genes de resistência em isolados de infecção de corrente sanguínea de pacientes com câncer.

Id	Patógenos	Genes
HCP334	<i>Escherichia coli</i>	SHV, TEM, KPC, NDM, IMP, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP1243	<i>Escherichia coli</i>	TEM, KPC, NDM, IMP, VIM, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP1121	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX, NDM, SPM, GES, SIM, OXA-48
HCP291	<i>Escherichia coli</i>	TEM, KPC, NDM, IMP, VIM, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP649	<i>Escherichia coli</i>	TEM, KPC, IMP, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP860	<i>Escherichia coli</i>	TEM, KPC, IMP, VIM, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP868	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM, KPC, IMP, VIM, GES, SIM, OXA-48
HCP1058	<i>Escherichia coli</i>	TEM, CTX, NDM, VIM, GES, SIM
HCP1112	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM, CTX, NDM, VIM, SPM, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP1112	<i>Escherichia coli</i>	TEM, CTX, NDM, VIM, GES, SIM, OXA-48, OXA-58
HCP539	<i>Candida parapsilosis</i>	
HCP1118	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CTX, KPC, NDM, SPM
HCP1173	<i>Candida albicans</i>	
HCP1405	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX, NDM, GES, SIM, OXA-48
HCP478	<i>Escherichia coli</i>	TEM, OXA-48
HCP1047	<i>Candida tropicalis</i>	
HCP1060	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	mecA
HCP1401	<i>Serratia marcescens</i>	CTX, NDM, GES, SIM, OXA-48
HCP1257	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM, CTX, GES, SIM, OXA-48
HCP1253	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	SPM, SIM, OXA-48
HCP1191	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	mecA
HCP1177	<i>Staphylococcus aureus</i>	
HCP1175	<i>Candida tropicalis</i>	
HCP1345	<i>Candida tropicalis</i>	
HCP888	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM, CTX, NDM, GES, SIM, OXA-48
HCP07	<i>Escherichia coli</i>	SIM, OXA-48
HCP61	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SIM, OXA-48
HCP72	<i>Escherichia coli</i>	TEM, CTX, NDM, SIM, OXA-48
HCP1251	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CTX, SPM, GES, SIM, OXA-48
HCP921	<i>Klebsiella oxytoca</i>	GES
HCP796	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
HCP127	<i>Staphylococcus warneri</i>	
HCP111	<i>Staphylococcus aureus</i>	
HCP1168	<i>Acinetobacter baumannii</i>	SHV, TEM, SPM, GES
HCP333	<i>Serratia marcescens</i>	TEM, CTX, KPC, SPM, OXA-48, OXA-58
HCP264	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX, KPC, NDM, GES, SIM,
HCP467	<i>Streptococcus salivarius</i>	
HCP604	<i>Enterococcus faecalis</i>	mecA
HCP682	<i>Escherichia coli</i>	TEM, OXA-48
HCP747	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC, SIM, OXA-48
HCP835	<i>Salmonella group</i>	OXA-48
HCP952	<i>Staphylococcus aureus</i>	mecA
HCP1326	<i>Acinetobacter baumannii</i>	TEM, OXA-48
HCP1336	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM
HCP1220	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TEM, SIM
HCP1398	<i>Escherichia coli</i>	TEM, OXA-48
HCP49	<i>Escherichia coli</i>	TEM, CTX, OXA-48
HCP263	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX, KPC, NDMSIM, OXA-48
HCP419	<i>Acinetobacter baumannii</i>	OXA-48
HCP04	<i>Enterococcus faecium</i>	vanA
HCP223	<i>Staphylococcus aureus</i>	mecA
HCP109	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	mecA
HCP327	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SIM, OXA-48
HCP480	<i>Staphylococcus aureus</i>	
HCP526	<i>Escherichia coli</i>	TEM, CTX, NDM, GES, SIM, OXA-48

Tabela 3 - Perfil de resistência frente aos isolados bacterianos em pacientes com câncer.

Gram-negativos	(14) <i>Escherichia coli</i>	(11) <i>Klebsiella</i> spp	(7) <i>Pseudomonas</i> spp	(3) <i>Acinetobacter baumannii</i>	(2) <i>Serratia marcescens</i>	(1) <i>Salmonella</i>
Ác. Nalidixico	6 (42,8%)	2 (18,2%)			1 (50%)	
Amicacina			3(42,8%)		2 (100%)	1 (100%)
Amoxicilina /clavulanico		1 (9%)			2 (100%)	
Ampicilina	11 (78,5%)	11 (100%)			2 (100%)	
Ampicilina/sulbactam	2 (14,28)	1 (9%)		1 (33,33%)		
Cefalotina	4 (28,5%)	3 (27,3%)			2 (100%)	1 (100%)
Cefepime	4 (28,5%)	4 (36,3%)	3(42,8%)	2 (66,6%)	2 (100%)	
Ceftriaxona	4 (28,5%)	4 (36,3%)			2 (100%)	
Cefuroxima	4 (28,5%)	4 (36,3%)			2 (100%)	1 (100%)
Cefoxitina		1 (9%)				
Ceftazidima	1 (7,14%)	1 (9%)	2 (28,6%)	1 (33,33%)		
Ciprofloxacina	5 (35,7%)	3 (27,3%)	3(42,8%)	2 (66,6%)		
Ertapenem		1 (9%)			1 (50%)	
Gentamicina	2 (14,28%)	2 (18,2%)	3(42,8%)			1 (100%)
Meropenem		1 (9%)	3 (42,8%)	2 (66,6%)	1 (50%)	
Imipenem		1 (9%)	2 (28,6%)	1 (33,33%)		
Norfloxacina	4 (28,5%)	2 (18,2%)	1 (14,3%)			
Piperaciclina/tazobactam		2 (18,2%)	3 (42,8%)	2 (66,6%)	1 (50%)	
Tigeciclina			4 (57,1%)			
Sulfametoxazol/trimetoprim	3 (21,4%)	1 (9%)				
Gram-positivos	(5) <i>Staphylococcus aureus</i>	(6) <i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	(1) <i>Enterococcus faecium</i>	(1) <i>Enterococcus faecalis</i>		
Gentamicina	2 (40%)	2 (33,33%)				
Sulfametoxazol/trimetroprim	2 (40%)	1 (16,6%)				
Clindamicina	2 (40%)	1 (16,6%)				
Eritromicina	2 (40%)	3 (50%)				
Oxacilina	3 (60%)	3 (50%)				
Penicilina	2 (40%)	2 (33,33%)				
Rifampicina	1 (20%)	2 (33,33%)				
Vancomicina			1 (100%)			
Levofloxacina	2 (40%)	1 (16,6%)				
Ampicilina			1 (100%)			

7.3 Artigo 3. (Relato de caso publicado na Revista *Brazilian Journal of Health Review* – B2)

### **Tratamento com daptomicina em infecção da corrente sanguínea por *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com câncer de cólon: desfecho óbito**

#### **RESUMO**

**Introdução:** Infecção da corrente sanguínea (ICS) por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) é uma complicação grave em pacientes com tumor sólido. **Objetivo:** Descrever o aspecto clínico e molecular do isolado *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com tumor de cólon. **Métodos:** O isolado de VRE foi identificado e analisado quanto ao perfil antimicrobiano a partir de hemocultura processado por método automatizado vitek®, posteriormente foi submetida para a detecção do gene de resistência à vancomicina, vanA. **Resultado:** O isolado *Enterococcus faecium* apresentou resistência à amicacina, eritromicina e vancomicina. O gene VanA foi identificado e iniciado o tratamento com teicoplanina seguida de daptomicina sem sucesso a paciente evoluiu a óbito.

**Palavras-chave:** *Enterococcus faecium*, VRE, VanA, Bacteremia, Câncer

#### **INTRODUÇÃO**

*Enterococcus faecium* tem sido classificado como o segundo mais importantes patógeno nosocomial em todo o mundo<sup>1</sup>. Infecção da corrente sanguínea (ICS) por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) é uma complicação grave em populações imunocomprometidas<sup>2</sup>. VRE tem sido uma das principais causas de infecção na corrente sanguínea após transplante de células tronco hematopoiéticas<sup>3</sup>. Além disso, *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina tem sido comum em pacientes com malignidades hematológicas<sup>4</sup> e tumor sólido<sup>5</sup>. *E. faecium* tem sido associado a infecção enterocócica e colangite bacterêmica em pacientes com tumor sólido<sup>6</sup>.

A incidência de *E. faecium* portadores do gene vanA varia de 25%<sup>7</sup> a 72,7%<sup>8</sup>.

Estudos demonstraram que o uso de dispositivos de acesso venoso central, neutropenia, transplante hematopoiético alogênico, cateterismo urinário e duração da terapia com metronidazol foram fatores de risco<sup>9,10</sup>.

Aqui demonstramos uma infecção na corrente sanguínea por *Entecococcus faecium* resistente a vancomicina abrigando o gene VanA, a caracterização do perfil de resistência do

isolado, o tratamento e no desfecho clínico em infecção na corrente sanguínea de paciente com tumor sólido.

## RELATO DE CASO

Uma mulher de 77 anos, nascida em Pernambuco, Brasil, foi admitida dia 13 de janeiro de 2020, relatando alguns sintomas, tais como, perda de peso, tosse seca, anemia, cólica, distagia, dor no estômago e azia. Diagnosticada com câncer de cólon ascendente, paciente foi submetida à uma biopsia da lesão ulcerada em cólon ascendente, evidenciando um carcinoma mal diferenciado com ampla infiltração da mucosa, com ulceração e com permeação para vaso linfático. Paciente realizou uma ressecção alargada do tumor de intestino (colectomia) e uma laparotomia explorada nos dias 16 e 24 de janeiro respectivamente. Durante a sua internação a paciente foi encaminhada para Unidade de Terapia Intensiva (UTI) fez ventilação mecânica, traqueostomia, fez uso de droga sedativa (midazolam e fentanil) e droga vasoativa (noradrenalina). Paciente fazia uso dos dispositivos, cateter venoso central e periférico, sonda vesical de demora (SVD) e dispositivo tubo orotraqueal (TOT). A cultura de líquido ascítico evidenciou *Candida* spp. coletada dia 25/01, swab retal foi negativo. Paciente foi tratada com anidulafungina 100 mg + 100 ml SF EV 24/24h em 1H DO por 15 dias. Paciente desenvolveu um quadro de bacteremia no dia sete de fevereiro por *Enterococcus* spp resistente à vancomicina. O teste de suscetibilidade mostrou resistência também à ampicilina e eritromicina (tabela1). Foram realizados outros testes para a confirmação, tais como teste de identificação e antibiograma por testes bioquímicos automatizados e cartões Vitek GPI e teste molecular para a detecção do gene VanA. A paciente teve um episódio de febre, apresentando neutropenia, com neutrófilos  $89,2/\text{mm}^3$ , contagem de leucócitos de  $17570/\text{mm}^3$ , hemoglobina de 9,5 g/dL e plaquetas  $83.000/\text{mm}^3$ , no qual realizou transfusão de hemocomponentes. Iniciou terapia com teicoplanina (400 mg +100 ml EV 24/24 h em 1H DO) por 15 dias. A daptomicina (500 mg + 100 ml SF0,9% 24/24h foi administrada no dia 13/02 por um período de 10 dias. Os testes automatizado e molecular revelaram *E. faecium* resistente à vancomicina codificando o gene VanA. A paciente não obteve melhora clínica, desenvolvendo choque séptico, evoluindo para óbito no dia 22/02/20 com 39 dias de internamento.

**Tabela 1 - Perfil antimicrobiano de *E. faecium* isolado de bacteremia de paciente com câncer**

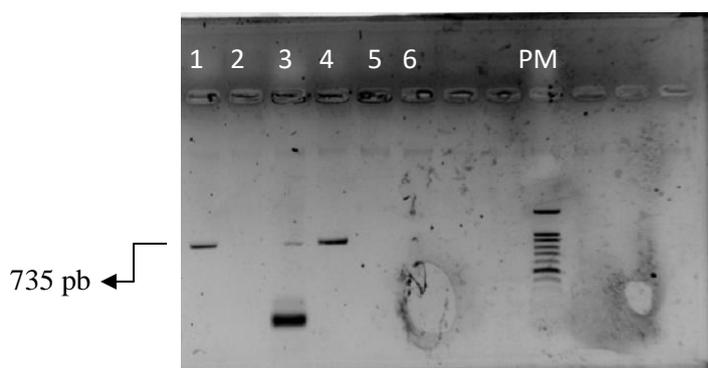
Antimicrobiano	Resultado	MIC (µg/ml)
<b>Clindamicina</b>	S	0,50
<b>Ampicilina</b>	R	>32,00
<b>Tigeciclina</b>	S	<=0,12
<b>Daptomicina</b>	S	<=0,12
<b>Eritromicina</b>	R	>=8,00
<b>Gentamicina</b>	S	<=0,50
<b>Tetraciclina</b>	S	<=0,12
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	S	<=10,00
<b>Vancomicina</b>	R	>=32,00
<b>Teicoplanina</b>	S	1,00
<b>Linezolida</b>	S	2,00

(S) sensível, dosagem padrão, (R) resistente. Os valores numéricos expressam a concentração inibitória mínima (CIM).

### **PESQUISA DO GENE DE RESISTÊNCIA**

O DNA genômico foi isolado usando o kit Relia Prep mini kit (Promega) de acordo com as instruções do fabricante. O gene de resistência VanA foi obtido através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) utilizando os primers VanA-F (5'- CATGACGTAATCGGTAAAATC-3') e VanA-R (5'- ACCGGGCAGRGTTATTGAC-3') com tamanho de fragmento de 732 pb. E os primers mecA-F (5'- AAAACTAGGTGTTGGTGAAGATATAACC-3') e mecA-R (5'- GAAAGGATCTGTACTGGGTTAATCAG - 3') com tamanho de fragmento de 147pb. O protocolo de PCR usado na reação foi o kit de reagente PCR Master Mix TopTaq (Qiagen). A reação volume total, 25 µl) consiste em: Master Mix (10x PCR buffer, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM de cada dNTP e 1,25 U TopTaq DNA polimerase) 10 µM de cada primer. A PCR foi realizada usando o instrumento B-raid (USA). As condições de reação foram: pre-desnaturação a 94°C por três min, seguida de 35 ciclos de ampliações de 94°C por 30s, 60°C por 30s, 72°C por um min, com uma extensão final de 72°C por 10 min (Figura 1).

Figura 1 - Eletroforese em gel de agarose 1% corada com Brometo de etídio para visualização das bandas dos amplicons.



Linha 1 – 2, amostra de paciente testada para gene *vanA* e *mecA* respectivamente, linha 3 - controle positivo para o gene *mecA*, linha 4 – controle positivo para o gene *VanA*, linha 5 – 6 são controles negativos para o gene *mecA* e *VanA*.

## DISCUSSÃO

Este estudo descreve as características microbiológicas, epidemiológicas e molecular de um isolado clínico de VRE obtido de infecção na corrente sanguínea de paciente com câncer em um hospital de referência no Estado de Pernambuco, Brasil. Durante a internação para tratar o tumor de cólon, a paciente adquiriu infecção fungica por *Candida* spp do fluido peritoneal, tratada com sucesso com anidulafungina. Em seguida a paciente desenvolveu infecção na corrente sanguínea por *Enterococcus faecium* resistente à ampicilina, eritromicina e vancomicina. Apesar de fazer parte da microbiota intestinal, *Enterococcus* resistentes à vancomicina podem expandir-se rapidamente para regiões mais densas no trato gastrointestinal, persistindo por dias após a interrupção da administração de antibióticos<sup>11</sup>, a translocação bacteriana é favorecida pelo aumento na permeabilidade da mucosa do cólon lesado e atua como fator de risco para bacteremia<sup>12</sup>, isso justifica a cultura de swab retal ter sido negativa, apesar do resultado positivo da hemocultura.

A resistência a vancomicina pela cepa *Enterococcus* foi confirmada pelo genótipo que abrigava a variante *VanA*, classificada como a variante mais frequentemente encontrada em *E. faecium*<sup>13,14</sup>.

Daptomicina foi administrado para o tratamento de bacteremia sem êxito. Pacientes que receberam daptomicina como tratamento de infecção contra VRE tiveram uma taxa de letalidade de 33%<sup>15</sup>. Tratamento infecções da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* com daptomicina em infecções de pele e tecidos moles tem sido amplamente utilizado. No

entanto, a eficácia da daptomicina no tratamento da ICS em *Enterococcus* resistente à vancomicina ainda não está bem estabelecida<sup>15</sup>. Embora o tratamento mais indicado para VRE seja linezolida, teicoplanina ou daptomicina<sup>16,17</sup>. Linezolida tem sido associada a um risco significativamente maior de falha do tratamento e letalidade em comparação com a daptomicina<sup>18</sup>. Em contrapartida, pacientes tratados com daptomicina têm sido associados a maior mortalidade em 14 e 28 dias e menores taxas de erradicação microbiana do que os pacientes tratados com linezolida<sup>19</sup>. Estudos apontam que a daptomicina mostram resultados comparáveis com linezolida, no entanto, altas doses devem ser consideradas para pacientes com bacteremia VRE<sup>20</sup>.

Diante disso, estudos mostram que além de antibióticos, comensais produtores de lantibióticos do trato gastrointestinal podem reduzir a colonização por VRE ou a utilização de cepas *Blautia producta* e *Clostridium bolteae* para restaura a resistência de colonização contra VRE<sup>21,22</sup>. O uso de bactérias probióticas comensais no transplante fecal têm sido utilizadas como estratégias contra VRE.

Maior gravidade da doença e tratamento inadequado tem sido associados com aumento da mortalidade<sup>19</sup>. Tem sido documentado uma tendência de aumento da mortalidade para aqueles tratados com daptomicina<sup>17,18,19</sup>.

*Enterococcus* resistentes à vancomicina representam uma séria ameaça ao público em geral, especialmente aos pacientes hospitalizados com câncer, elevando a taxa de mortalidade. O tumor de cólon ascendente pode ter sido um predisponente para a infecção e o agravamento do desfecho. A vigilância de microrganismos e resistência aos antimicrobianos é crucial para reduzir a mortalidade.

## **AUTORES E COLABORADORES**

CS: Responsável pela conceitualização e curadoria de dados abrangentes de pesquisa, VM: Administração do projeto, responsável pelo gerenciamento e coordenação da atividade de pesquisa. PSA: Supervisão, responsabilidade de supervisão e liderança pelo planejamento e execução da atividade de pesquisa, incluindo orientação externa à equipe principal.

## **CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores declaram nenhum conflito de interesse

## **INFORMAÇÕES DE FINANCIAMENTO**

Este trabalho recebeu suporte financeiro do Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS) da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), APQ-0563-4.01/17.

## **APROVAÇÃO ÉTICA**

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP) em que o trabalho foi realizado (CAEE: 16285219.5.0000.5205).

## **REFERÊNCIAS**

- 1.Kolonen A, Sinisalo M, Huttunen R, Syrjänen J, Aittoniemi J, Huhtala H, et al. Bloodstream infections in acute myeloid leukemia patients treated according to the Finnish Leukemia Group AML-2003 protocol - a prospective nationwide study. *Infect Dis (Lond)*. 2017; 49(11-12):799-808. doi: 10.1080/23744235.2017.1347814.
- 2.Xie O, Slavin MA, Teh BW, Bajel A, Douglas AP, Worth LJ. Epidemiology, treatment and outcomes of bloodstream infection due to vancomycin-resistant enterococci in cancer patients in a vanB endemic setting. *BMC Infect Dis*. 2020; 18:20(1):228. doi: 10.1186/s12879-020-04952-5.
- 3.Kamboj M, Cohen N, Huang YT et al. Impact of Empiric Treatment for Vancomycin-Resistant Enterococcus in Colonized Patients Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019; 25(3):594-598. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.11.008.
- 4.Alatorre-Fernández P, Mayoral-Terán C, Velázquez-Acosta C, Franco-Rodríguez C, Flores-Moreno K, Cevallos MÁ, et al. A polyclonal outbreak of bloodstream infections by *Enterococcus faecium* in patients with hematologic malignancies. *Am J Infect Control*. 2017; 1:45(3):260-266. doi: 10.1016/j.ajic.2016.10.002.
- 5.Teng JC, Lingaratnam SM, Trubiano JA, Thursky KA, Slavin MA, Worth LJ. Oral pristinamycin for the treatment of resistant Gram-positive infections in patients with cancer:

- Evaluation of clinical outcomes. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47(5):391-6. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.01.017.
- 6.Royo-Cebrecos C, Gudiol C, García J, Tubau F, Laporte J, Ardanuy C, et al. Characteristics, aetiology, antimicrobial resistance and outcomes of bacteraemic cholangitis in patients with solid tumours: A prospective cohort study. *J Infect*. 2017; 74(2):172-178. doi: 10.1016/j.jinf.2016.10.008.
- 7.Krull M, Klare I, Ross B, Trenchel R, Beelen DW, Todt D, et al. Emergence of linezolid- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a department for hematologic stem cell transplantation. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016; 22:5-31. doi: 10.1186/s13756-016-0131-6.
- 8.Papadimitriou-Olivgeris M, Kolonitsiou F, Karamouzos V. Molecular characteristics and predictors of mortality among Gram-positive bacteria isolated from bloodstream infections in critically ill patients during a 5-year period (2012-2016). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020; 2. doi: 10.1007/s10096-019-03803-9.
- 9.Cheah AL, Peel T, Howden BP, Spelman D, Grayson ML, Nation RL, et al. Estudo caso-caso-controle sobre fatores associados à bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e suscetível à vancomicina. *BMC Infect Dis*. 2014; 14:353.
- 10.Peel T, Cheng AC, Spelman T, Huysmans M, Spelman D. Diferentes fatores de risco para bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e sensível à vancomicina. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(4):388–94.
- 11.Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, Ubeda C, Goldberg J, Gobourne A, et al. Dominação intestinal e risco de bacteremia em pacientes submetidos a transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas. *Clinical Clin Infect Dis* 2012; 55:905–914. doi: 10.1093 / cid / cis580.
- 12.Amarnani R, Rapose A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. *J Infect Public Health*. 2017; 10(5):681-684. doi: 10.1016/j.jiph.2016.09.009.
- 13.Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, et al. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat*. 2018; 40:25-39. doi: 10.1016/j.drug.2018.10.002.

14. Lochan H, Moodley C, Rip D, Bamford C, Hendricks M, Davidson A, Eley B. Emergence of vancomycin-resistant *Enterococcus* at a tertiary paediatric hospital in South Africa. *S Afr Med J*. 2016; 9:106(6):39-43. doi: 10.7196/SAMJ.2016. v106i6.10858.
15. Poutsika DD, Skiffington S, Miller KB, Hadley S, Snyderman DR. Daptomycin in the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in neutropenic patients. *J Infect*. 2007; 54(6):567-71. doi: 10.1016/j.jinf.2006.11.007.
16. Büyükcam A, Karadağ Öncel E, Özsürekcı Y, Cengiz AB, Kuşkonmaz B, Sancak B. Vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteremia in a child with acute myeloid leukemia: successful treatment with daptomycin. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 1;114(6):e432-e435. English, Spanish. doi: 10.5546/aap.2016.eng.e432.
17. Narayanan N, Rai R, Vaidya P, Desai A, Bhowmick T, Weinstein MP. Comparison of linezolid and daptomycin for the treatment of vancomycin-resistant enterococcal bacteremia. *Ther Adv Infect Dis*. 2019; 13;6:2049936119828964. doi: 10.1177/2049936119828964.
18. Britt NS, Potter EM, Patel N, Steed ME. Comparison of the Effectiveness and Safety of Linezolid and Daptomycin in Vancomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infection: A National Cohort Study of Veterans Affairs Patients. *Clin Infect Dis*. 2015; 15;61(6):871-8. doi: 10.1093/cid/civ444. Epub 2015 Jun 10.
19. Ye JJ, Shie SS, Cheng CW, Yang JH, Huang PY, Wu TS, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018; 51(6):705-716. doi: 10.1016/j.jmii.2017.08.025.
20. Shi C, Jin W, Xie Y, Zhou D, Xu S, Li Q, Lin N. Efficacy and safety of daptomycin versus linezolid treatment in patients with vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: An updated systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020; 21:235-245. doi: 10.1016/j.jgar.2019.10.008.
21. Kim SG, Becattini S, Moody TU, Shliaha PV, Littmann ER, Seok R, et al. Microbiota-derived lantibiotic restores resistance against vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Nature*. 2019; 572(7771):665-669. doi: 10.1038/s41586-019-1501-z.
22. Caballero S, Kim S, Carter RA, Leiner IM, Sušac B, Miller L, et al. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. *Cell Host Microbe*. 2017; 10;21(5):592-602.e4. doi: 10.1016/j.chom.2017.04.002.

7.4 Artigo 4 (Relato de caso publicado na Revista *Research, society and Development* - A3)

### **Coexistência de *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em isolados de infecção polimicrobiana da corrente sanguínea de uma paciente com leucemia mieloide aguda**

#### **Resumo**

As infecções da corrente sanguínea estão entre as complicações mais frequentes e graves em pacientes com malignidades hematológicas. Paciente diagnosticada com leucemia mieloide aguda foi admitida no hospital para indução da quimioterapia, desenvolveu vários episódios de neutropenia febril. Apresentou infecção na corrente sanguínea por pelo menos quatro cepas de bactérias Gram-negativas, dentre elas, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Acinetobacter baumannii*. A maioria apresentou resistência à ampicilina, cefepime, ceftriaxona, ciprofloxacino e sulfametoxazol/trimetoprim. Foram detectados *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub> em *P. aeruginosa*, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *E coli*, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *K. pneumoniae* e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *A. baumannii*. A paciente foi tratada com meropenem por 10 dias, não progredindo dos episódios de febre evoluiu a óbito.

**Palavras-chave:** Infecção polimicrobiana, Carbapenemases,  $\beta$ -Lactamase, Malignidade hematológica

#### **Introdução**

A epidemiologia da infecção da corrente sanguínea em pacientes com câncer hematológico tem mudado ao longo do tempo. As infecções por bactérias Gram-negativas são cada vez mais proeminentes em doentes com malignidades hematológicas associadas à resistência antimicrobiana (Pagano et al., 2014).

As infecções bacterianas gram-negativas multirresistentes são uma causa crescente de mortalidade na leucemia mielóide aguda (LMA), comprometendo o sucesso da terapia antineoplásica (Castañón et al., 2019). Os pacientes com infecção da corrente sanguínea (BSI), particularmente aqueles com bactérias multirresistentes (MDR), têm um maior risco de mortalidade (Islas-Muñoz et al., 2018). Como resultado, a taxa de mortalidade em doentes com neoplasias hematológicas aumenta com as infecções da corrente sanguínea. As infecções da corrente sanguínea em Enterobacteriaceae resistentes a carbapenem aparecem em pacientes com neoplasias hematológicas malignas e estão associadas a uma terapia empírica inicial ineficaz, longos atrasos na administração de antimicrobianos ativos e altas taxas de mortalidade (Satlin et al., 2013).

A bacteremia devida a infecções polimicrobianas é incomum, contudo, já foi relatada como sendo causada por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente (Khan et al., 2020; Dumont et al., 2020), especialmente em pacientes com Câncer (Royo-Cebrecos et al., 2017; Agrawal et al., 2019).

*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* são mais frequentes (58,0% e 22,9%, respectivamente) em pacientes com malignidades hematológicas (Mert et al., 2019). A incidência de infecções da corrente sanguínea foi documentada em pacientes colonizados por MDR (25,7%) em pacientes com malignidades hematológicas, mostrando uma propensão para desenvolver BSIs por *Klebsiella* e *Enterobacter* (Cattaneo et al., 2018). Exposição prévia a antibióticos tem sido fator de risco para bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL-KP) em pacientes com câncer (Nham et al., 2020). No Brasil, a incidência de BSI por bactérias Gram-negativas (BGN) atinge 24,1%, de BSI por BGN multirresistente ou infecção polimicrobiana cai para 3,9% (Rosa; Goldani, 2014).

## **Metodologia**

Conduzimos um relato de caso em um centro de referência para pessoas com câncer em Pernambuco, Brasil. Analisamos todos os episódios consecutivos de infecção da corrente sanguínea em pacientes com câncer. Informações sobre características de base, características clínicas foram recolhidas prospectivamente a partir de registros médicos. E a etiologia, susceptibilidade antimicrobiana, terapia antibiótica empírica e genes de resistência foram determinados através de testes fenotípicos e moleculares. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Câncer de Pernambuco.

## **Relato de caso**

Uma mulher de 24 anos de idade com leucemia mieloide aguda subtipo M3 – LMA-M3 (leucemia promielocítica) deu entrada no setor de hematologia do hospital do Câncer de Pernambuco no dia 20/01/20 para iniciar o primeiro ciclo de tratamento quimioterápico com daunorrubicina e citarabina, sem nenhuma comorbidade fez uso de sulfametoxazol + trimetoprima e aciclovir profiláticos. A paciente apresentou dispnéia associada com febre e tosse produtiva, necessitando de oxigenação suplementar. Foi iniciado ceftriaxona 2g/dia (D7) e azitromicina 500mg/dia (D5). Durante o internamento a paciente apresentou vários picos de neutropenia febril, o primeiro episódio de febre foi dia 05/02/20 com 38,2°C. O segundo

episódio foi dia 14/02/20 com 38,4°C e o terceiro episódio dia 17/02/20 com 38,4°C. Foram registrados mais de três episódios de NF ao longo do internamento. Fez uso de 300 mcg (30 UM/mL) de granulokine durante o internamento.

Os exames de hemograma completo apresentaram intensa leucopenia, plaquetopenia de acordo com os valores de hemoglobina 7,9 g/dL, contagem de leucócitos de 220/mm<sup>3</sup>, neutrófilos 201/mm<sup>3</sup> e plaquetas de 23.000/mm<sup>3</sup>. Apresentando queda nos valores de hemácias 2,59, hemoglobina 7,5 g/dL, leucócitos 150/mm<sup>3</sup>, neutrófilos 38/mm<sup>3</sup>, e plaquetas 12.000/mm<sup>3</sup>. Os exames bioquímicos laboratoriais mostraram teores séricos de 143 mEq/L de sódio (Na<sup>+</sup>), 3,7 mEq/L de potássio (K<sup>+</sup>), 100 mEq/L de cloreto (Cl<sup>-</sup>), 2,1 mEq/L de magnésio (Mg<sup>++</sup>) e 31,6 mg/dL de Proteína C reativa. Outros exames foram solicitados como ferritina, 1650ng/mL, ferro 63µg/dL, transferitina 103mg/dL, fibrinogênio 412mg/dL. A sorologia para HBV, HCV, CMV, EBV, HIV, Herpes I e II, VDRL, todos foram negativos. A tomografia computadorizada do tórax mostrou um pequeno derrame pleural bilateral em maior grau à direita, atelectasia compressiva de segmento pulmonares adjacentes ao derrame. Não foi evidenciado opacidade em vidro fosco ou consolidações de permeio ao parênquima que permitam configurar doença de natureza infecciosa pulmonar detectável pelo método. Nos cortes de transição com o abdome superior observou-se hepatomegalia homogênea, sem lesões detectáveis de permeio ao parênquima.

A cada episódio de neutropenia febril foi realizado uma coleta de sangue para hemocultura. Após a coleta de sangue para testes de cultura e suscetibilidade antimicrobiana foi administrado terapia empírica de meropenem e vancomicina por 10 dias, além disso anidulafungina foi administrado pelo mesmo período. A paciente neutropênica febril com comprometimento importante do estado geral realizou duas transfusões de hemocomponentes. O resultado da hemocultura revelou infecção polimicrobiana com a presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* no primeiro dia de coleta 05/02/20. O antimicrobiano meropenem foi mantido com o resultado da cultura. No dia 14/02/20 a paciente apresentou o segundo pico de NF com 38,4°C, cujo resultado da hemocultura revelou a presença de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* na corrente sanguínea. No terceiro pico de NF (38,4°C) dia 17/02/20 foi evidenciado *Acinetobacter baumannii*. Paciente ainda apresentou >3 episódios de NF.

A identificação das espécies foi realizada por teste automatizado e testes bioquímicos. Os genes de resistência foram detectados pela técnica molecular (tabela 1). E o perfil antimicrobiano foi realizado pela concentração mínima inibitória (CIM) (tabela 2).

Após o diagnóstico, a terapia foi ajustada de acordo com o perfil antimicrobiano, com isso, foi mantido o uso de meropenem, porém a paciente evoluiu para óbito em

função da gravidade de seu estado de saúde em decorrência de choque séptico, neutropenia febril, pneumonia e leucemia mieloide aguda.

O Consentimento informado por escrito para a publicação de seus detalhes clínicos e foram obtidas dos pais do paciente. Uma cópia do formulário de consentimento está disponível para revisão pelo Editor desta revista.

#### Perfil de suscetibilidade antimicrobiana

O teste de suscetibilidade antimicrobiana foi testado por método de fusão em disco e por microdiluição pela mínima concentração inibitória. A maioria dos isolados foram resistentes à ampicilina, azitromicina, ceftazidima, ciprofloxacino, ceftriaxona e tetraciclina. E todos apresentaram resistência ao sulfametoxazol/trimetoprim pelo método difusão em disco (tabela 1). A resistente à ampicilina, cefepima, ceftriaxona, ciprofloxacino e piperacilina/tazobactam foi detectada pela mínima concentração inibitória na maioria dos isolados (tabela 2).

#### Deteção dos genes de resistência $\beta$ -lactamase de Espectro Estendido (ESBL) e metalo- $\beta$ -lactamase (M $\beta$ L)

Os isolados bacterianos foram identificados e por testes automatizados e testes bioquímicos, em seguida foram subcultivados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) por 37°C a 24 horas, para realização da extração de DNA e amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para deteção dos genes de resistência.

A extração do DNA foi realizada pelo método de lise em ebulição. A suspensão de células de uma cultura durante a noite foi fervida a 100°C por 10 min e imediatamente mantida a -20°C por pelo menos 6 h. O sobrenadante foi utilizado como modelo para amplificação por PCR e foi armazenado a -20°C.

A presença de gene codificadores de ESBL foi detectada por PCR monoplex usando iniciadores específicos para *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub> foi realizada utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95°C a 5 min, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 95°C a 1 min, anelamento 60°C a 1 min e extensão 72°C a 1 min. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72°C a 10 min, para cada um dos genes estudado. E a presença de genes codificadores de M $\beta$ L foi detectada por PCR usando iniciadores específicos para *bla*<sub>SPM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub>, utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 95°C a 5 min, seguidos de 25 ciclos de desnaturação 95°C a

1 min, anelamento 60°C a 1 min e extensão 72°C a 1 min. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72°C a 10 min.

As cepas foram também submetidas a PCR para detecção de carbapenemases de classe D, como a oxacilinase (*bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>OXA-58</sub>*), utilizando o seguinte protocolo para a amplificação; desnaturação inicial 94°C a 5 min, seguidos de 30 ciclos de desnaturação 94°C a 45 seg, anelamento 52°C a 45 seg e extensão 72°C a 1 min. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72°C a 6 min.

No primeiro episódio de neutropenia febril, a hemocultura evidenciou dois isolados bacterianos na mesma amostra carregando os genes *bla<sub>TEM</sub>* em ambos isolados de *P. aeruginosa* e *E. coli*. Os genes *bla<sub>SIM</sub>* e *bla<sub>OXA-48</sub>* também foi detectado nas espécies, respectivamente.

No segundo episódio de NF, dois microrganismos foram detectados a presença de *bla<sub>KPC</sub>* e *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>SIM</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>* e *bla<sub>CTX</sub>* coabitando *K. pneumoniae* e a presença dos genes *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX</sub>* em *E. coli*. A detecção genotípica dos isolados revelou a presença de pelo menos dois genes de resistência para os isolados bacterianos.

*Acinetobacter baumannii* oxacilinase (*bla<sub>OXA-48</sub>*) resistente foi isolado no terceiro episódio de NF. Nenhum dos isolados continha *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>SPM</sub>*, *bla<sub>GIM</sub>*, *bla<sub>GES</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>* e *bla<sub>VIM</sub>*. A distribuição dos genes codificadores de ESBL e MβL é dada na tabela 1.

Tabela 1 – Identificação bacteriana e distribuição dos genes de resistência isolados de paciente com linfoma mieloide aguda.

Data	CÓDIGO	Espécie isolada	Genes	Resistencia antimicrobiana por disco difusão
05/02/20	1220	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>bla<sub>TEM</sub></i> , <i>bla<sub>SIM</sub></i>	SUT
05/02/20	1398	<i>Escherichia coli</i>	<i>bla<sub>TEM</sub></i> , <i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	ATM, CFL, CRO, AMC, SUT, TET
14/02/20	49	<i>Escherichia coli</i>	<i>bla<sub>TEM</sub></i> , <i>bla<sub>CTX</sub></i>	AMP, CPM, CFL, CAZ, CIP, AMC, PPT, SUT
14/02/20	263	<i>Klebsiellapneumoniae</i>	<i>bla<sub>CTX</sub></i> , <i>bla<sub>KPC</sub></i> , <i>bla<sub>NDM</sub></i> , <i>bla<sub>SIM</sub></i> e <i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	AMP, ATM, CPM, CAZ, CIP, SUT, TET
17/02/20	419	<i>Acinetobacterbaumani</i>	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	AMI, CAZ, CRO, CIP, IPM, MER, SUT

AMI – Amicacina, AMP – Ampicilina, ATM – azitromicina, CFL – Cefalotina, CPM – Cefepime, CRO – Ceftriaxona, CAZ – Ceftazidima, CIP – Ciprofloxacino, MER – Meropenem, IPM – Imipenem, PPT - Piperacilina + Tazobactam, SUT - Sulfametoxazol + Trimetoprim.

## Discussão

Embora infecção polimicrobiana seja menos frequente em pacientes com malignidades hematológicas<sup>7</sup>, o risco de mortalidade é alto nesses pacientes. O tratamento quimioterápico pode induzir o quadro de neutropenia e febre, com isso podem diminuir temporariamente os níveis de leucócitos, neutrófilos e plaquetas no sangue, aumentando o risco de infecção<sup>8</sup>.

Infecções na corrente sanguínea de pacientes com neoplasia hematológica tem sido frequentemente causada por *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)<sup>1</sup>, *Pseudomonas aeruginosa*<sup>9</sup> e *Acinetobacter baumannii*<sup>10</sup>, como descrito em nosso estudo. A resistência a beta lactâmicos e carbapenemases tem sido comumente relatada nesses pacientes<sup>11</sup>.

A terapia empírica adequada e precoce é um fator crucial para aumentar a sobrevivência desses pacientes. Em um estudo em Hunan, China<sup>12</sup>, a taxa de terapia antimicrobiana inicial inadequada foi classificada como fator de risco para mortalidade precoce em pacientes com malignidades hematológicas associados à neutropenia febril causada por GN-BSI.

A profilaxia com sulfametoxazol/trimetoprima não reduziu a incidência de infecção por bactérias gram-negativas, em contrapartida o estudo de Castañón e colaboradores, (2019)<sup>2</sup> a fluoroquinolona reduziu significativamente a incidência de espécies de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemase e de GNB, resultando em uma redução da mortalidade em pacientes com leucemia mieloide aguda.

A resistência à cefepima foi amplamente detectada em isolados de hemocultura da paciente, resultado semelhante foi observado por Chong e colaboradores (2010)<sup>13</sup>. Embora a utilidade de cefepima e piperacilina-tazobactam como terapia empírica para bacteremia por Enterobacteriaceae em pacientes com malignidade hematológica seja amplamente conhecida em nossa região, a maioria dos isolados apresentaram resistência a estes, dificultando as opções terapêuticas. A terapia empírica com cefepima ou piperacilina-tazobactam ajustado para carbapenêmicos no início do tratamento, não foi atrelado ao aumento da mortalidade, conforme documentado em outro estudo<sup>14</sup>.

O meropenem foi utilizado para tratamento empírico das infecções. A eficácia do meropenem foi avaliada em um estudo no Japão<sup>15</sup> com neutropenicos febris (81,8%), pacientes com malignidade hematológica (79,2%) e com tumor sólido (91,8%). O aumento do uso de cefalosporina de 4ª geração levou ao aumento da resistência, que muitas vezes é expressa com resistência a outras classes de antibióticos necessários no tratamento de pacientes febris com malignidades hematológicas como cefalosporinas de espectro estendido e carbapenêmicos.

## **Conclusão**

Em conclusão, apresentamos um caso de infecção persistente da corrente sanguínea polimicrobiana num doente com leucemia mielóide aguda causada por bactérias gram-negativas resistentes a  $\beta$ -lactâmicos e carbapenemases. O tratamento empírico com cefepime ou meropenem tem sido rotineiramente utilizado nestes casos. Nas últimas culturas recolhidas para diagnóstico, tem sido observada resistência ao meropenem. O uso extensivo de antibióticos activos contra Enterobacteriaceae resistentes às carbapenemases deve ser evitado, e combinações de antibióticos empíricos activos contra as carbapenemases podem ser sugeridas como tratamento em doentes com malignidades hematológicas em neutropenia febril. Devem ser produzidos novos antibióticos, bem como a combinação de produtos farmacêuticos pode ser utilizada para minimizar a resistência antimicrobiana.

## **Agradecimentos**

Agradecemos à equipa de hematologia, especialmente a Maria Cândida Nascimento da Costa pela sua contribuição e a técnica jesuíta pelo fornecimento dos isolados do Hospital Pernambucano do Cancro.

## **Aprovação ética e consentimento para participar**

O consentimento informado por escrito para a publicação dos seus dados clínicos foi obtido dos pais do paciente. Um exemplar do formulário de consentimento está disponível para revisão pelo Editor desta revista. O consentimento livre e esclarecido por escrito foi dado e mantido pelos autores. Este trabalho foi aprovado pelo Comité de Ética em Pesquisa do Hospital Pernambucano do Cancro (HCP) no qual o trabalho foi realizado (CAAE: 16285219.5.0000.5205).

## **Consentimento para publicação**

O consentimento para publicação foi obtido pelo paciente, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CIF) aprovado pelo CEP do Hospital do Cancro de Pernambuco, na sequência da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

## Financiamento

Este trabalho foi apoiado por um Aviso Público para Projectos de Investigação - [APQ-0563-4.01 / 17] que foi financiado pela Fundação de Apoio à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco / FACEPE do Programa de Investigação do SUS - PPSUS / PE 10/2017 para o tema Inovações em Saúde. O papel da agência financiadora na concepção do estudo foi na recolha, análise e interpretação dos dados do manuscrito.

## Referencias

Agrawal SK, Gautam H, Choudhary AH, Das BK, Kumar L, Kapil A. (2019). Central line-associated bloodstream infections in cancer patients: An experience from a tertiary care cancer centre. *Indian J Med Microbiol*, 37(3):376-380.

Benanti GE, Brown ART, Shigle TL, Tarrand JJ, Bhatti MM, McDanel PM, et al. (2019). Carbapenem versus Cefepime or Piperacillin-Tazobactam for Empiric Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Patients with Hematologic Malignancy. *Antimicrob Agents Chemother*, 63(2):e01813-18.

Castañón C, Fernández Moreno A, Fernández Verdugo AM, Fernández J, Martínez Ortega C, Alaguero M, et al. (2019). The Value of Adding Surveillance Cultures to Fluoroquinolone Prophylaxis in the Management of Multiresistant Gram Negative Bacterial Infections in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Med*, 8(11):1985.

Cattaneo C, Di Blasi R, Skert C, Candoni A, Martino B, Di Renzo N, et al; SEIFEM Group. (2018). Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Ann Hematol*, 97(9):1717-1726.

Chong Y, Yakushiji H, Ito Y, Kamimura T. (2010). Cefepime-resistant Gram-negative bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies. *Int J Infect Dis*, 14 Suppl 3:e171-5.

Dumont Y, Bonzon L, Michon AL, Carriere C, Didelot MN, Laurens C, et al. (2020). Epidemiology and microbiological features of anaerobic bacteremia in two French University hospitals. *Anaerobe*, 64:102207.

Islas-Muñoz B, Volkow-Fernández P, Ibanes-Gutiérrez C, Villamar-Ramírez A, Vilar-Compte D, Cornejo-Juárez P. (2018). Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *Int J Infect Dis*, 1:59-64.

Khan A, Shropshire WC, Hanson B, Dinh AQ, Wanger A, et al. (2020). Simultaneous Infection with *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* Harboring Multiple Carbapenemases in a Returning Traveler Colonized with *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother*, 27;64(2):e01466-19.

Lubwama M, Phipps W, Najjuka CF, Kajumbula H, Ddungu H, Kambugu JB, et al. Bacteremia in febrile cancer patients in Uganda. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):464. doi:10.1186/s13104-019-4520-9

Mert D, Ceken S, Iskender G, Iskender D, Merdin A, Duygu F, et al. (2019). Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *J Infect Dev Ctries*, 13(8):727-735.

Mimura W, Fukuda H, Akazawa M. (2020). Antimicrobial utilization and antimicrobial resistance in patients with haematological malignancies in Japan: a multi-centre cross-sectional study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 19(1):7.

Nham E, Huh K, Cho SY, Chung DR, Peck KR, Lee NY, Kang CI. (2020). Characteristics and Clinical Outcomes of Extended-Spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia in Cancer Patients. *Infect Chemother*, 52(1):59-69.

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

Rosa RG, Goldani LZ. (2014). Factors associated with hospital length of stay among cancer patients with febrile neutropenia. *PLoS One*, 6;9(10):e108969.

Satlin MJ, Calfee DP, Chen L, Fauntleroy KA, Wilson SJ, Jenkins SG, et al. (2013). Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma*, 54(4):799-806.

Shargian-Alon L, Gafter-Gvili A, Ben-Zvi H, Wolach O, Yeshurun M, Raanani P, Yahav D. (2019). Risk factors for mortality due to *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with hematological malignancies - a retrospective study. *Leuk Lymphoma*, 60(11):2787-2792.

Tang Y, Wu X, Cheng Q, Li X. (2020). Inappropriate initial antimicrobial therapy for hematological malignancies patients with Gram-negative bloodstream infections. *Infection*, 48(1):109-116.

Tofas P, Samarkos M, Piperaki ET, Kosmidis C, Triantafyllopoulou ID, Kotsopoulou M, et al. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 88(4):335-341.

Wakisaka K, Tani S, Ishibashi K, Nukui K, Nagao M. (2015). Results of a post-marketing surveillance of meropenem for febrile neutropenia. *Jpn J Antibiot*, 68(4):205-24.

Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) de isolados bacterianos de infecção na corrente sanguínea de paciente com linfoma mieloide agudo.

	NAL	AMI	AMP	ASB	CFL	CPM	CRO	CFO	CAZ	CRX	CIP	GEN	ERTAP	MER	IPM	NOR	PPT
1220		S ( $\leq 2,00$ )				S (2,00)					S ( $\leq 0,25$ )	S ( $\leq 1,00$ )		S ( $\leq 0,25$ )		S ( $\leq 0,50$ )	S (8,00)
1398	R ( $\geq 32,00$ )	S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )	R (8,00)	R ( $\geq 64,00$ )			R ( $\geq 64,00$ )	R ( $\geq 4,00$ )	R ( $\geq 16,00$ )	S ( $\leq 0,50$ )	S ( $\leq 0,25$ )		R ( $\geq 16,00$ )	S ( $\leq 4,00$ )
49	R ( $\geq 32,00$ )	S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )	R (8,00)	R ( $\geq 64,00$ )			R ( $\geq 64,00$ )	R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )	S ( $\leq 0,50$ )	S ( $\leq 0,25$ )		R ( $\geq 16,00$ )	I (64)
263		S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )		R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )	R ( $\geq 8,00$ )	R ( $\geq 16,00$ )	R (8,00)		R ( $\geq 128,00$ )			
419		I (32,00)				R (32,00)					R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )		R ( $\geq 16,00$ )			R ( $\geq 128,00$ )

(S) sensível, dosagem padrão, (I) sensível aumentando exposição, (R) resistente. Os valores numéricos expressam a concentração inibitória mínima (CIM)

NAL- Ácido Nalidíxico, AMI – Amicacina, AMP – Ampicilina, ASB - Ampicilina + Sulbactam, CFL – Cefalotina, CPM – Cefepime, CRO – Ceftriaxona, CFO – Cefoxitina, CAZ – Ceftazidima, CRX – Cefuroxima, CIP – Ciprofloxacino, GEN – Gentamicina, ERT – Ertapenem, MER – Meropenem, IPM – Imipenem, NOR – Norfloxacina, PPT - Piperacilina + Tazobactam.

## 8 CONCLUSÕES

- Nesta população houve maior ocorrência de ICS em mulheres com idade média de 49 anos. Tumores sólidos foram mais frequentes que hematológicos, e parece ter estado relacionado a inserção de cateteres venosos e procedimentos cirúrgicos, tendo sido HAS e diabetes mellitus as principais comorbidades relacionadas;
- Os BGN mais frequentes foram *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Em cinco casos observado ocorreu infecções polimicrobianas e esteve relacionada à neutropenia e a presença de cateter venoso;
- Em quatro amostras, foram isoladas espécies de *Candida* spp. que apresentaram resistência à voriconazol e a fluconazol;
- Elevadas taxas de resistência a antimicrobianos que foram confirmados pela presença de genes em isolados bacterianos. O perfil antimicrobiano revelou que a maioria dos BGN foram resistentes à ampicilina e cefepima. Entre os CGP, a maioria foram resistentes à meticilina, eritromicina, gentamicina e à sulfametoxazol/trimetoprim.
- Os genes de resistência a  $\beta$ -lactamases de amplo espectro *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>CTX</sub> foram mais frequentes. As carbapenemases *bla*<sub>SIM</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> e *bla*<sub>NDM</sub> foram frequentemente identificadas em isolados Gram-negativos. O gene *mecA* foi observado em aproximadamente metade dos isolados de bactérias Gram-positivos e um isolado carregava o gene *VanA*. Houve a coexistência de *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em infecção polimicrobiana da corrente sanguínea;
- Alta frequência de carbapenemases em enterobactérias isolados de infecção de corrente sanguínea de pacientes com câncer, incluindo *bla*<sub>OXA-48</sub> em *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*;
- A análise multivariada usando regressão logística apontou que comorbidades (P=0,002) estiveram associadas com ICS causadas por bactéria MDR;
- O estudo evidenciou alta taxa de mortalidade, principalmente morte por sepse em pacientes oncológicos com ICS, embora não tenha sido associado estatisticamente como fator de risco no modelo de regressão.
- O custo médio hospitalar relativamente alto neste estudo se deve ao tempo prolongado de internamento principalmente em pacientes com câncer hematológicos.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI MONTAZERI E, KHOSRAVI AD, SAKI M, SIROUS M, KEIKHAEI B, SEYED-MOHAMMADI S. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Causing Bloodstream Infections in Cancer Patients from Southwest of Iran. *Infect Drug Resist.* v. 6, n.13, p.1319-1326, 2020.
- AGRAWAL SK, GAUTAM H, CHOUDHARY AH, DAS BK, KUMAR L, KAPIL A. Central Line-associated Bloodstream Infections in Cancer Patients: An Experience from a Tertiary Care Cancer Centre. *Indian J Med Microbiol.* v. 37, n. 3, p. 376-380, 2019.
- ALATORRE-FERNÁNDEZ P, MAYORAL-TERÁN C, VELÁZQUEZ-ACOSTA C, et al. A polyclonal outbreak of bloodstream infections by *Enterococcus faecium* in patients with hematologic malignancies. *Am J Infect Control.* v. 1, n. 45(3), p. 260-266, 2017.
- ALVES J, PALMA P, AZEVEDO D, RELLO J. Candidemia in the patient with malignancy. *Hosp Pract (1995).* v. 46, n. 5, p. 246-252, 2018.
- AMARNANI R, RAPOSE A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. *J Infect Public Health.* v. 10, n. 5, p. 681-684, 2017.
- AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences, London.* v. 289, n. 36, p. 321-331, 1980.
- AMUDHAN, S.M., SEKAR, U., ARUNAGIRI, K., SEKAR, B. OXA beta-lactamase mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbio, Índia,* v.29, n. 3, p. 269-274, 2011.
- ASLAN, S.; CITAK, E. C.; YIS, R.; DEGIRMENCI, S.; ARMAN, D. Bacterial Spectrum and antimicrobial susceptibility pattern of bloodstream infections in children with febrile neutropenia: experience of single center in southeast of Turkey. *Indian J. Microbiol,* v. 52(2),203-208, 2012.
- ATMACA O, ZARAKOLU P, KARAHAN C, ÇAKIR B, UNAL S. Hacettepe Üniversitesi Erişkin ve Onkoloji Hastanelerinde yatan hastalarda haftalık metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* bakteriyemilerinde risk faktörleri (2004-2011), antibiyotik kullanımı ve izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları: Yuvalandırılmış olgu-kontrol çalışması [Risk factors and antibiotic use in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in hospitalized patients at Hacettepe University Adult and Oncology Hospitals (2004-2011) and antimicrobial susceptibilities of the isolates: a nested case-control study]. *Mikrobiyol Bul.* v. 48, n. 4, p. 523-37, 2014.
- BALLOUZ, T, et al. Risk Factors, Clinical Presentation, and Outcome of *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Frontiers in cellular and infection microbiology* vol. 7 156. 4 May. 2017, doi:10.3389/fcimb.2017.00156

BARBERINO M. G., CRUVINEL S.A., FARIA C., SALVINO M. A, SILVA M.O. Isolation of bla<sub>NDM</sub>-producing Enterobacteriaceae in a public hospital in Salvador, Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis.* v. 22(1):47-50, 2018.

BENANTI GE, BROWN ART, SHIGLE TL, TARRAND JJ, BHATTI MM, MCDANELD PM, et al. Carbapenem versus Cefepime or Piperacillin-Tazobactam for Empiric Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Patients with Hematologic Malignancy. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 63, n. 2, e01813-18, 2019.

BENDER JK, CATTOIR V, HEGSTAD K, SADOWY E, COQUE TM, WESTH H, et al. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat.* v. 40, p. 25-39, 2018.

BERKOW E.L., LOCKHART S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infect. Drug Resist.* v.10, 237–245, 2017.

BIBI M, MURPHY S, BENHAMOU RI, ROSENBERG A, ULMAN A, BICANIC T, FRIDMAN M, BERMAN J. Combining Colistin and Fluconazole Synergistically Increases Fungal Membrane Permeability and Antifungal Cidality. *ACS Infect Dis.* 2021 Feb 12;7(2):377-389.

BISPO,P.J., DE MELO,G.B., HOFLING-LIMA,A.L. AND PIGNATARI,A.C. Detection and gram discrimination of bacterial pathogens from aqueous and vitreous humor using real-time PCR assays. *Invest Ophthalmol Vis Sci;* v. 52, n. 52(2), p. 873-81, 2011.

BHAT S, MUTHUNATARAJAN S, MULKI SS, ARCHANA BHAT K, KOTIAN KH. Bacterial Infection among Cancer Patients: Analysis of Isolates and Antibiotic Sensitivity Pattern. *Int J Microbiol.*v. 2021, e:8883700, 2021.

BOW, E. Infection in Neutropenic patients with cancer. *Crit Care Clinic.* v. 29(3):411-41.2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Aprova as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Mieloma Múltiplo. [www.saude.gov.br/sas](http://www.saude.gov.br/sas) [http://conitec.gov.br/images/Protocolos/ddt\\_Mieloma-Multiplo.pdf](http://conitec.gov.br/images/Protocolos/ddt_Mieloma-Multiplo.pdf) acessado em 15/05/18.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2020.

BRADFORD, P. A.. Extended-Spectrum - Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clinical Microbiology Rev.* v. 14, n. 4, p.933-951, 2001.

BRITT NS, POTTER EM, PATEL N, STEED ME. Comparison of the Effectiveness and Safety of Linezolid and Daptomycin in Vancomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infection: A National Cohort Study of Veterans Affairs Patients. *Clin Infect Dis.* v. 15, n. 61(6), p. 871-8, 2015.

BULMAN, Z. P., CHEN, L., WALSH, T. J., et al. Polymyxin Combinations Combat Escherichia coli Harboring mcr-1 and blaNDM-5: Preparation for a Postantibiotic Era. *MBio*. v. 8, n. 4, e00540-17, 2017.

BUSH, K.. New  $\beta$ -Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. *Clinical Infectious Diseases*. v. 32, n. 7, p.1085-1089, 2001.

BÜYÜKCAM A, KARADAĞ ÖNCEL E, ÖZSÜREKÇI Y, CENGİZ AB, KUŞKONMAZ B, SANCAK B. Vancomycin-resistant Enterococcus bacteremia in a child with acute myeloid leukemia: successful treatment with daptomycin. *Arch Argent Pediatr*.v. 1, n. 114(6), p. 432-435, 2016.

CABALLERO S, KIM S, CARTER RA, LEINER IM, SUŠAC B, MILLER L, et al. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium. *Cell Host Microbe*. v. 10, n. 21(5), p. 592-602.e4, 2017.

CALVO-LON J, LANDAVERDE DU, RAMOS-ESQUIVEL A, VILLALOBOS-VINDAS JM. Epidemiology and Outcomes of Bloodstream Infections in Patients With Solid Tumors in a Central American Population at Mexico Hospital, San Jose, Costa Rica. *J Glob Oncol*. v. 4, (4), p. 1-6, 2018.

CARRARA, L.; NAVARRO, F.; TURBAU, M. et al. Molecular diagnosis of bloodstream infections with a new dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR assay. *Journal of Medical Microbiology*. v.62, p.1673–1679, 2013.

CARLESSE F, CAPPELLANO P, QUILES MG, MENEZES LC, PETRILLI AS, PIGNATARI AC. Clinical relevance of molecular identification of microorganisms and detection of antimicrobial resistance genes in bloodstream infections of paediatric cancer patients. *BMC Infect Dis*. v.16(1):462, 2016.

CASTANHEIRA M, TOLEMAN MA, SCHMIDT JF, JONES RN, WALSH TR. Molecular characterization of a  $\beta$ -lactamase gene, blaGIM-1, encoding a new subclass of metallo-  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 48(12): 4654-4661, 2004.

CASTANHEIRA M, DESHPANDE LM, MATHAI D, BELL JM, JONES RN, MENDES RE. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181- producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006–2007. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 55, p. 1274–8, 2011.

CASTAÑÓN C, FERNÁNDEZ MORENO A, FERNÁNDEZ VERDUGO AM, FERNÁNDEZ J, MARTÍNEZ ORTEGA C, ALAGUERO M, et al. The Value of Adding Surveillance Cultures to Fluoroquinolone Prophylaxis in the Management of Multiresistant Gram Negative Bacterial Infections in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Med*. v. 8, n. 11, p. 1985, 2019.

CATIC, T. MEKIC-ABAZOVIC, A. e SULEJMANOVIC, S. Cost of febrile neutropenia treatment in Bosnia and Herzegovina. *Mater Sociomed*. v. 28, n. 2, p. 112-114, 2016.

CATTANEO, C. ANTONIAZZI, F. CASARI, S. et al. P. aeruginosa blood-stream infection among hematological patients: an old or new question? *Ann Hematol.* v.91 (8), p. 1299-1304, 2012.

CATTANEO C, DI BLASIO R, SKERT C et al. Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Ann Hematol.* v. 97(9):1717-1726, 2018.

CEKEN S, ISKENDER G, GEDIK H, DUYGU F, MERT D, KAYA AH, ALTUNTAS F, ERTEK M. Risk factors for bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in cancer patients. *J Infect Dev Ctries.* v. 30;12(4):265-272, 2018.

CETINKAYA Y, FALK P, MAYHALL CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev.* v. 13 (4), p. 686–707, 2000.

CHAPMAN B, SLAVIN M, MARRIOTT D, HALLIDAY C, KIDD S, ARTHUR I, Australian and New Zealand Mycoses Interest Group. Changing epidemiology of candidaemia in Australia. *J Antimicrob Chemother.* v. 1, n. 72(4), p. 1103-1108, 2017. Erratum in: *J Antimicrob Chemother.* v. 1, n. 72 (4), 1270, 2017.

CHEAH AL, PEEL T, HOWDEN BP, SPELMAN D, GRAYSON ML, NATION RL, et al. Estudo caso-caso-controle sobre fatores associados à bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e suscetível à vancomicina. *BMC Infect Dis.* v. 14, p. 353, 2014.

CHEN K, WANG Q, PLEASANTS RA, GE L, LIU W, PENG K, ZHAI S. Empiric treatment against invasive fungal diseases in febrile neutropenic patients: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Infect Dis.* v.20;17(1):159, 2017.

CHONG Y, YAKUSHIJI H, ITO Y, KAMIMURA T. Cefepime-resistant Gram-negative bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies. *Int J Infect Dis.* v. 14, 3:e171-5, 2010.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. (Document M27-S4), Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CONDUTAS DO INCA/MS / INCA/MS – GUIDELINES. Leucemia Mielóide Aguda em Adultos. *Revista Brasileira de Cancerologia,* v. 48(3), p. 313-315, 2002.

CONN JR, CATCHPOOLE EM, RUNNEGAR N, MAPP SJ, MARKEY KA. Low rates of antibiotic resistance and infectious mortality in a cohort of high-risk hematology patients: A single center, retrospective analysis of blood stream infection. *PLoS One.* V. 12(5):e0178059, 2017.

COWEN LE, SANGLARD D, HOWARD SJ, ROGERS PD, PERLIN DS. Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* v. 10;5(7):a019752, 2014.

CRAWFORD, J.; DALE, D. C.; LYMAN, G. H. Chemotherapy-induced neutropenia: risk consequences, and new directions for its management. *Cancer*, v. 100, p. 228-237, 2004.

DENYS GA, COLLAZO-VELEZ V, YOUNG S, DALY JA, COUTURIER MR, FARON ML, BUCHAN BW, LEDEBOER N. Multicenter evaluation of the Portrait Staph ID/R blood culture panel for rapid identification of staphylococci and detection of the *mecA* gene. *J Clin Microbiol*. v. 55, p. 1140–1146, 2017.

DI BLASI, R. et al. Febrile events in acute lymphoblastic leukemia: a prospective observational multicentric SEIFEM study (SEIFEM-2012/B ALL). *Annals of Hematology*. v. 97, n. 791–798, 2018.

DIEKEMA DJ, HSUEH PR, MENDES RE, PFALLER MA, ROLSTON KV, SADER HS, JONES RN. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 24, n. 63(7):e00355-19, 2019.

DORTET L, POIREL L, NORDMANN P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in gram-negative bacteria. *Biomed Res Int*. v. 2014:249856, 2014.

DUNBAR SA, GARDNER C, DAS S. Diagnosis and Management of Bloodstream Infections With Rapid, Multiplexed Molecular Assays. *Front Cell Infect Microbiol*. Mar 16;12:859935, 2022. doi: 10.3389/fcimb.2022.859935.

DUMONT Y, BONZON L, MICHON AL, CARRIERE C, DIDELOT MN, LAURENS C, et al. Epidemiology and microbiological features of anaerobic bacteremia in two French University hospitals. *Anaerobe*. v. 64:102207, 2020.

ESPOSITO, F., FERNANDES, M. R., LOPES, R., MUÑOZ, M., SABINO, C. P., CUNHA, M. P., LINCOPAN, N.. Detection of colistin-resistant MCR-1- positive *Escherichia coli* using inhibition by EDTA and zeta potential assays. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 55, p. 3454–3465, 2017.

FELICIANA FS, MACEDO DA SILVA BG, REIS IA, et al. Hospitalizations and length of stay of cancer patients: A cohort study in the Brazilian Public Health System. *PLoS One*. 15(5):e0233293, 2020. doi:10.1371/journal.pone.0233293

FENTIE A, WONDIMENEH Y, BALCHA A, AMSALU A, ADANKIE BT. Bacterial profile, antibiotic resistance pattern and associated factors among cancer patients at University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia. *Infect Drug Resist*. v. 8, n. 11, p. 2169-2178, 2018.

FERLAY, J. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide. Lyon, France: IARC, 2013. (IARC Cancer Base, 11). Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>. Acesso em: 11 abril 2018.

FERNANDES, M. R., MCCULLOCH, J. A., VIANELLO, M. A., MOURA, Q., PÉREZ-CHAPARRO, P. J., ESPOSITO, F., et al. First Report of the Globally Disseminated IncX4 Plasmid Carrying the *mcr-1* 3 Gene in a Colistin-Resistant *Escherichia coli* ST101 isolated from

a Human 4 Infection in Brazil. Accepted Manuscript Posted Online 8 August 2016. Accepted manuscript posted online 8 August 2016, doi: 10.1128/AAC.01325-16.

FLEISCHHACKER M, SCHULZ S, JOHRENS K, et al. Diagnóstico de candidose disseminada crônica a partir de biópsias hepáticas por uma nova PCR em pacientes com neoplasias hematológicas. *Clin Microbiol Infect.* v. 18, n. 10, p. 1010 – 1016, 2012.

FREIFELD, A. G.; BOW, E. J.; SEPKOWITZ, K. A.; BOECKH, M. J.; ITO, J. I.; et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *IDSA Guidelines, Clinical Infectious Diseases.* v.52(4), p. 53-93, 2011.

GALES AC, SADER HS, RIBEIRO J, ZOCCOLI C, BARTH A, PIGNATARI AC. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). *Braz J Infect Dis.* v. 13, n. 2, p. 90-98, 2009.

GARRIDO MM, GARRIDO RQ, CUNHA TN, EHRLICH S, MARTINS IS. Comparison of epidemiological, clinical and microbiological characteristics of bloodstream infection in children with solid tumours and haematological malignancies. *EpidemiolInfect.* v. 8, n. 147:e298, 2019.

GARNICA, M. NUCCI, M. Epidemiologia, tratamento e profilaxia das infecções na leucemia linfóide crônica. *Ver. Bras hematol. Hemoter.* V. 27 (4), p. 290-300, 2005.

GEDIK, H. Et al.. Bloodstream infections in patients with hematological malignancies: which is more fatal – cancer or resistant pathogens? *Therapeutics and Clinical Risk Management.* V. 10, p. 743–752, 2014.

GHOSH S, CHAKRABORTY M, SAMANTA S, SINHA N, SAHA S, CHATTOPADHYAY A, et al. Analysis of blood stream infections, antibiograms and clinical outcomes in haematological patients with febrile neutropenia: data from a tertiary care haematology institute in India. *Ann Hematol.* v. 100(2), p. 395-403, 2021.

GOLDMAN S, ITSHAKI O, SHOCHAT T, GAFTER-GVILI A, YAHAV D, RUBINOVITCH B, SHEPSHELOVICH D. Risk Factors and Outcome of Polymicrobial Bacteremia: A Retrospective Cohort Study. *Isr Med Assoc J.*v. 22, n. 5, p. 279-284, 2020.

GOH S.H., POTTER, S., WOOD, J.O., HEMMINGSEN, S.M., REYNOLDS, R.P., CHOW, A.W. HSP60 gene sequences as universal targets for microbial species identification: studies with coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* V. 34, p. 818–823, 1996.

GROSSO S, PAGANI L, TOSONI N, et al. A new molecular method for rapid etiological diagnosis of sepsis with improved performance. *Future Microbiol.* Jul;16:741-751, 2021. doi: 10.2217/fmb-2020-0154.

GRUNDMANN H, GLASNER C, ALBIGER B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of

carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis.* v.17(2):153-163, 2017.

GUDIOL C, AGUADO JM, CARRATALÀ J. Bloodstream infections in patients with solid tumors. *Virulence.* v. 7(3), p. 298-308, 2016.

Guo LN, YU SY, XIAO M, YANG CX, BAO CM, YU YH, YE LY, YANG Y, ZHANG G, LIU J, LIANG GW, MIN R, ZHU Y, LEI H, LIU YL, LIU LJ, HU YJ, HSUEH PR, XU YC. Species Distribution and Antifungal Susceptibility of Invasive Candidiasis: A 2016-2017 Multicenter Surveillance Study in Beijing, China. *Infect Drug Resist.* v. 20, n. 13, p. 2443-2452, 2020.

HACKBARTH CJ, CHAMBERS HF. Methicillin-resistant staphylococci: detection methods and treatment of infections. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 33(7), p. 995-999, 1989.

HASHEM H, HANORA A, ABDALLA S, SHAEKY A, SAAD A. Dissemination of metallo- $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Egypt: mutation in blaVIM-4. *APMIS.* V. 125(5), p. 499-505, 2017.

HOU C, YANG F. Drug-resistant gene of blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51 and blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Clin Exp Med.* v. 15;8(8):13859-63, 2015.

HOWLADER, N. et al. (Ed.). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014. Bethesda: National Cancer Institute, 2017. Disponível em: <[https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/)>. Acesso em: 11 abril 2018.

<https://br.pinterest.com/pin/microbiology-notes-on-instagram-antibiotic-resistance-mechanisms-bacteria-can-resist-the-action-of--775041417111214914/> Acessado em: 07 de dezembro de 2020. Adaptado.

HU B, TAO Y, SHAO Z, et al. A Comparison of Blood Pathogen Detection Among Droplet Digital PCR, Metagenomic Next-Generation Sequencing, and Blood Culture in Critically Ill Patients With Suspected Bloodstream Infections. *Front Microbiol.* May 17;12:641202, 2021. doi: 10.3389/fmicb.2021.641202.

HUGHES, W. T.; ARMSTRONG, D.; BODEY, G. P.; BOW, E. J.; BROWN, A. E.; CALANDRA, T. et al. 2002 Guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis.* V. 34, p. 730-751, 2002.

IBÁÑEZ-MARTÍNEZ E, RUIZ-GAITÁN A, PEMÁN-GARCÍA J. Update on the diagnosis of invasive fungal infection. *Rev Esp Quimioter.* V. 30, n. 1, p. 16-21, 2017.

IDLEVICH, E. A; SILLING, G.; NIEDERBRACHT, Y.; PENNER, H. et al. Impact of multiplex PCR on antimicrobial treatment in febrile neutropenia: a randomized controlled study. *Med Microbiol Immunol.* V. 204, p. 585-592, 2015.

INÁCIO CP, ROCHA AP, BARBOSA RN, OLIVEIRA NT, SILVA JC, DE LIMA-NETO RG, MACÊDO DP, NEVES RP. Experimental white piedra: a robust approach to ultrastructural

analysis, scanning electron microscopy and etiological discoveries. *Exp Dermatol.* v. 25(1), p. 79-81, 2016

INCA – Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro: INCA, 2017.

INCA

<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao>. Acessado em 17 de abril de 2018.

ISLAS-MUÑOZ B, VOLKOW-FERNÁNDEZ P, IBANES-GUTIÉRREZ C, VILLAMAR-RAMÍREZ A, VILAR-COMPTE D, CORNEJO-JUÁREZ P. Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *Int J Infect Dis.* v. 71, p. 59-64, 2018.

JABAMELI F, TAKI E, EMANEINI M, BEIGVERDI R. Prevalence of metallo- $\beta$ -lactamase-encoding genes among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Iran. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* V. 51 (03), P. 270-276, 2018. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0044-2018>

JÁCOME PRLA, ALVES LR, JÁCOME-JÚNIOR AT, SILVA MJBD, LIMA JLDC, ARAÚJO PSR, LOPES ACS, MACIEL MAV. Detection of blaSPM-1, blaKPC, blaTEM and blaCTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. from cancer patients with healthcare-associated infections. *J Med Microbiol.* v. 65(7), p. 658-665, 2016.

JIANG AM, SHI X, LIU N, GAO H, REN MD, ZHENG XQ, FU X, LIANG X, RUAN ZP, YAO Y, TIAN T. Nosocomial infections due to multidrug-resistant bacteria in cancer patients: a six-year retrospective study of an oncology Center in Western China. *BMC InfectDis.* v. 29, n. 20(1), p. 452, 2020.

JOHNSON, JS, SPAKOWICZ, DJ, HONG, BY et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun* 10, 5029 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>

KAMBOJ M, COHEN N, HUANG YT et al. Impact of Empiric Treatment for Vancomycin-Resistant *Enterococcus* in Colonized Patients Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* V. 25(3), p. 594-598, 2019.

KANG CI, CHUNG DR, KO KS, PECK KR, SONG JH; Korean Network for Study of Infectious Diseases. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol.* v. 91(1), p. 115-21, 2012.

KARA Ö, ZARAKOLU P, AŞÇIOĞLU S, ETGÜL S, UZ B, BÜYÜKAŞIK Y, AKOVA M. Epidemiology and emerging resistance in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infect Dis (Lond).* V. 47(10), p. 686-93, 2015.

KATAYAMA Y, ITO T, HIRAMATSU K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 44(6), p. 1549-55, 2000.

KHAN A, SHROPSHIRE WC, HANSON B, DINH AQ, WANGER A, et al. Simultaneous Infection with *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* Harboring Multiple Carbapenemases in a Returning Traveler Colonized with *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 27;64(2):e01466-19, 2020.

KIM SG, BECATTINI S, MOODY TU, SHLIAHA PV, LITTMANN ER, SEOK R, et al. Microbiota-derived lantibiotic restores resistance against vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Nature.* v.572(7771), p. 665-669, 2019.

KLASTERSKY, J.; AMEYE, L.; MAERTNS, J., et al. Bacteraemia in febrile neutropenic cancer patients. *Int J. Antimicrob Agent.* V. 30, p. 51-59, 2007.

KOLONEN A, SINISALO M, HUTTUNEN R, SYRJÄNEN J, AITTONIEMI J, HUHTALA H, et al. Bloodstream infections in acute myeloid leukemia patients treated according to the Finnish Leukemia Group AML-2003 protocol - a prospective nationwide study. *Infect Dis (Lond).* V. 49(11-12), p. 799-808, 2017.

KONEMAN, EW; ALLEN, SD; JANDRA, WM; SCHERECKENBERGER, PC; WINN, WC. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido.* 6. Ed. Rio de Janeiro: Medsi Editora Médica e Científica, 2008.

KRULL M, KLARE I, ROSS B, TRENSCHEL R, BEELEN DW, TODT D, et al. Emergence of linezolid- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a department for hematologic stem cell transplantation. *Antimicrob Resist Infect Control.* v. 22, p. 5-31, 2016.

KUDERER N.M. DALE, D.C CRAWFORD, J. CLOSLER, L. E. LYMAN, G. H. Mortality, morbidity and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer.* V. 106, p. 2258-66, 2006.

KURTZMAN C.P.; ROBNETT C.J. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J Clin Microbiol.* v. 35, p. 1216-1223, 1997.

LAKSHMAIAH, K. C.; MALABAGI, A. S. SHETTY, G. R. SINHA, M; e JAYASHREE, R. S. Febrile Neutropenia in Hematological Malignancies: Clinical and Microbiological Profile and Outcome in High Risk Patients. *Journal Lab Physicians.* V.7 (2), p. 116–120, 2015.

LASS-FLÖRL C. Current Challenges in the Diagnosis of Fungal Infections. *Methods Mol Biol.* V. 2017;1508:3-15, 2017.

LI, Junlong et al. Detection of the SHV genotype polymorphism of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacterium. *Biomedical Reports.* v. 3, n. 2, p.261-265, 2015.

LI Z, ZHUANG H, WANG G, WANG H, DONG Y. Prevalence, predictors, and mortality of bloodstream infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with

malignancy: systemic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2021 Jan v. 14, n. 21(1), p. 74, 2021.

LIANG T, XU C, CHENG Q, TANG Y, ZENG H, LI X. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Outcomes of Bloodstream Infection due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Hematologic Malignancy: A Retrospective Study from Central South China. *Microb Drug Resist.* v. 27, n. 6, p. 800-808, 2020.

LIMA BARBIERI N, NIELSEN DW, WANNEMUEHLER Y, CAVENDER T, HUSSEIN A, YAN SG, NOLAN LK, LOGUE CM. mcr-1 identified in Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PLoS One.* V. 6, n. 12(3), e0172997, 2017.

LISS, B. J., VEHRESCHILD, J. J. CORNELLY, O. A., et al. Intestinal colonization and blood stream infection due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) and extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBLE) in patients with haematological and oncological malignancies. *Infection.* V. 40 (6), p. 613-619, 2012.

LIU CF, SHI XP, CHEN Y, et al. Rapid diagnosis of sepsis with TaqMan-Based multiplex real-time PCR. *J Clin Lab Anal.* Feb;32(2):e22256, 2018. doi: 10.1002/jcla.22256.

LOCHAN H, MOODLEY C, RIP D, BAMFORD C, HENDRICKS M, DAVIDSON A, ELEY B. Emergence of vancomycin-resistant *Enterococcus* at a tertiary paediatric hospital in South Africa. *S Afr Med J.* v. 9, n. 106(6), p. 39-43, 2016.

LUBWAMA M, PHIPPS W, NAJJUKA CF, KAJUMBULA H, DDUNGU H, KAMBUGU JB, BWANGA F. Bacteremia in febrile cancer patients in Uganda. *BMC Res Notes.* V. 12, n. 1, p. 464, 2019.

LYMAN, G. H.; MICHELS, S. L.; REYNOLDS, M. W.; BARRON, R.; TOMIC, K. S. e YU, J. Risk of mortality in patients with cancer who experience febrile neutropenia. *Cancer, American Cancer Society.* V. 116, p.5555-5563, 2010.

LYMAN G.H. ABELLA, E. PETTENGEL, R. Risk factors for febrile neutropenia among patients with cancer receiving chemotherapy: A systemic review *Crit Rev Oncol Hematol* v. 90, n. 3, p. 190-9, 2014.

LWANG S. K. & LEMESHOW, S. Sample size determination in Health studies: A Practica Manual –1991 WHO.

MALANI AN, KERR LE, KAUFFMAN CA. Voriconazole: How to Use This Antifungal Agent and What to Expect. *Semin Respir Crit Care Med.* v. 36, n. 5, p. 786-95, 2015.

MANDAL, P. K.. Micro-organisms Associated with Febrile Neutropenia in Patients with Haematological Malignancies in a Tertiary Care Hospital in Eastern India. *Indian J Hematol Blood Transfus.* V. 31(1), p. 46–50, 2015.

Martins Rozman L, Gonçalves Campolina A, González Patiño E, et al. Factors Associated with the Costs of Palliative Care: A Retrospective Cost Analysis at a University Cancer Hospital in Brazil. *J Palliat Med.* V 24(10):1481-1488, 2021. doi: 10.1089/jpm.2020.0600.

MARTINO F, TIJET N, MELANO R, PETRONI A, HEINZ E, DE BELDER D, et al. Isolation of five Enterobacteriaceae species harbouring bla<sub>NDM-1</sub> and mcr-1 plasmids from a single paediatric patient. *PLoS One.* V. 14, n. 9, e0221960, 2019. Erratum in: *PLoS One.* V. 14(10):e0224937, 2019.

MENDES, A. V. A.; Sapolnik, R.; Mendonça, N. New guidelines for the clinical management of febrile neutropenia and sepsis in pediatric oncology patients. *Jornal de Pediatria*, v. 83 (2), p. 54-63, 2007.

MENEZES LC, ROCCHETTI TT, BAUABKDE C, CAPPELLANO P, QUILES MG, CARLESSE F, DE OLIVEIRA JS, PIGNATARI AC. Diagnosis by real-time polymerase chain reaction of pathogens and antimicrobial resistance genes in bone marrow transplant patients with bloodstream infections. *BMC Infect Dis.* v. 13, p. 166, 2013.

MERMEL, L. A. ALLON, M. BOUZA, E. et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 update by the infection disease society of America. *Clin Infect Dis.* V. 49 (1), p. 1-45, 2009.

MERT D, CEKEN S, ISKENDER G, et al. Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infect Dev Ctries.* V. 13(8), p. 727-735, 2019.

MILLAR, B. C.; XU, J. and MOORE, J. E. Molecular Diagnostics of Medically Important Bacterial Infections *Curr. Issues Mol. Biol.* V. 9, p. 21–40, 2007.

MIMURA W, FUKUDA H, AKAZAWA M. Antimicrobial utilization and antimicrobial resistance in patients with haematological malignancies in Japan: a multi-centre cross-sectional study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* V. 19(1), p. 7, 2020.

MITSUBOSHI S, TSURUMA N, WATANABE K, TAKAHASHI S, NAKASHITA M, ITO A, KOBAYASHI K, TSUGITA M. Does Quick Sepsis-Related Organ Failure Assessment Suggest the Use of Initial Empirical Carbapenem Therapy in Bacteremia Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Bacteria?: A Multicenter Case-Control Study. *Jpn J Infect Dis.* 72(2):124-126, 2019.

MOFFATT JH, HARPER M, BOYCE JD. Mechanisms of Polymyxin Resistance. *Adv Exp Med Biol.* v. 1145, p. 55-71, 2019.

MONACO M, PIMENTEL DE ARAUJO F, CRUCIANI M, COCCIA EM, PANTOSTI A. Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. *Curr Top Microbiol Immunol.* v. 409, p. 21-56, 2017.

MONTASSIER, E.; BATARD, E.; GASTINNE, T.; POTEL, G.; COCHETIÈRE, M. F. Recent Changes in bacteremia in patients with cancer: a systematic review of epidemiology and antibiotic resistance. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis*, v. 32, p. 841-850, 2013.

MONTEIRO J, WIDEN RH, PIGNATARI AC, KUBASEK C, SILBERT S. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother.* v. 67(4), p. 906-9, 2012.

MOUSSALLEM, B. C., Kury, C. M. H. Medina-Acosta, E. Detecção dos genes *mecA* e *femA*, marcadores moleculares de resistência a meticilina, em *Staphylococcus* spp. isolados de pacientes admitidos em uma Unidade Neonatal de Tratamento Intensivo. *Revista Científica da FMC.* V. 2, n 2, 2007.

MORFIN-OTERO,R., RODRIGUEZ-NORIEGA,E., DESHPANDE,L.M., SADER,H.S. AND CASTANHEIRA,M. Dissemination of a *bla(VIM-2)*-Carrying Integron Among Enterobacteriaceae Species in Mexico: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Microb Drug Resist;* v. 15, p. 33-35, 2009.

MUNOZ-PRICE LS, POIREL L, BONOMO RA, SCHWABER MJ, DAIKOS GL, CORMICAN M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* v. 13, n. 9, p. 785–96, 2013.

NANG SC, LI J, VELKOV T. The rise and spread of *mcr* plasmid-mediated polymyxin resistance. *Crit Rev Microbiol.* v. 45, n. 2, p. 131-161, 2019.

NARAYANAN N, RAI R, VAIDYA P, DESAI A, BHOWMICK T, WEINSTEIN MP. Comparison of linezolid and daptomycin for the treatment of vancomycin-resistant enterococcal bacteremia. *Ther Adv Infect Dis.* v. 13, n. 6, p. 2049936119828964, 2019.

NEDEL e SILVEIRA,. Os diferentes delineamentos de pesquisa e suas particularidades na terapia intensiva. *Rev Bras Ter Intensiva.* v. 28, n. 3, p. 256-260, 2016.

NESHER, L. KENNETH, V. ROLSTON, I. The current spectrum of infection in cancer patients with chemotherapy related neutropenia. *Infection* v. 42, p. 5-13, 2014.

NHAM E, HUH K, CHO SY, CHUNG DR, PECK KR, LEE NY, KANG CI. Characteristics and Clinical Outcomes of Extended-Spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia in Cancer Patients. *Infectar Chemother.* v. 52 (1), p. 59-69, 2020.

NITHIA N, REMITHA R, JAYASREE PR, FAISAL M, MANISHKUMAR PR. Analysis of beta-lactamases, *bla*NDM-1 phylogeny & plasmid replicons in multidrug-resistant *Klebsiella* spp. from a tertiary care centre in south India. *Indian J Med Res.* V. 146, n. 1, p. 38-45, 2017.

NORDMANN P, POIREL L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis.* v. 13, n. 69(7), p. 521-S528, 2019.

NUCCI M, BARREIROS G, REIS H, PAIXÃO M, AKITI T, NOUÉR SA. Performance of 1,3-beta-D-glucan in the diagnosis and monitoring of invasive fusariosis. *Mycoses.* V. 62(7), p. 570-575, 2019.

ODURO-MENSAH, Daniel et al. Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana. *Annals Of Clinical Microbiology And Antimicrobials*, v. 15, n. 1, p.1-9, 2016.

OHMAGARI, N., HANNA, H., GRAVIS, L. et al. Risk factors for infection with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cancer. *Cancer*, v. 104, (1), p. 205-212, 2005.

OLIVEIRA, C. F., DAL FORNO, N. L. F., ALVES I. A., HORTA, J. A. RIEGER, A., ALVES, S. H., Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* no Hospital Universitário de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 42, n. 5, p. 556-560, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acessado em 27 de setembro, 2019.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. Dez ameaças à saúde que a OMS combaterá em 2019. Brasília (DF); 2019.

OSANO, E.; ARAKAWA, Y.; WACHAROTAYANKUN, R.; OHTA, M.; HORII, T.; ITO, H.; YOSHIMURA, F.; KATO, N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo- $\beta$ -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.38, n.1, p.71-78, 1994.

OSEI SEKYERE J. Mcr colistin resistance gene: a systematic review of current diagnostics and detection methods. *Microbiology Open*. v. 8, e682, 2018.

OTA A, MORITA S, MATSUOKA A, SHIMOKATA T, MAEDA O, MITSUMA A, YAGI T, ASAHARA T, ANDO Y. Detection of bacteria in blood circulation in patients receiving cancer chemotherapy. *Int J ClinOncol*. v. 25, n. 1, p. 210-215, 2020.

PAGANO L, CAIRA M, TRECARCHI EM, SPANU T, DI BLASI R, SICA S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and hematologic malignancies. *Emerg Infect Dis*. v. 20, n. 7, p. 1235-6, 2014.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS M, KOLONITSIOU F, KARAMOUZOS V. Molecular characteristics and predictors of mortality among Gram-positive bacteria isolated from bloodstream infections in critically ill patients during a 5-year period (2012-2016). *Eur J ClinMicrobiol Infect Dis*. v. 39, n. 5, p. 863-869, 2020.

PASCOE, J. e STEVE, N. Antibiotics for the prevention of febrile neutropenia. *Curr. Opin Hematol*.v. 16, p. 48-52, 2009.

PATEL HG, TABASSUM S, SHAIKH S. *E. coli* Sepsis: Red Flag for Colon Carcinoma-A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Gastrointest Med*. v. 2017:2570524, 2017.

PATERSON DL, BONOMO RA. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 18, p. 657-686, 2005.

PAUL M, BHATIA M, REKHA US; DIKSHA 1, OMAR BJ, GUPTA P. Microbiological Profile of Blood Stream Infections in Febrile Neutropenic Patients at a Tertiary Care Teaching Hospital in Rishikesh, Uttarakhand. *J Lab Physicians*. v. 12, n. 2, p.147-153, 2020.

PEEL T, CHENG AC, SPELMAN T, HUYSMANS M, SPELMAN D. Diferentes fatores de risco para bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e sensível à vancomicina. *Clin Microbiol Infect*. v. 18, n. 4, p. 388–94, 2012.

PEKER N, COUTO N, SINHA B, ROSSEN JW. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches. *Clin Microbiol Infect*. Sep;24(9):944-955, 2018. doi: 10.1016/j.cmi.2018.05.007.

PESESKY, M. W., HUSSAIN, T., WALLACE, M., WANG, B., ANDLEEB, S.; et al. KPC and NDM-1 Genes in Related Enterobacteriaceae Strains and Plasmids from Pakistan and the United States. *Emerging Infectious Diseases*. v. 21, n. 6, p. 1034-7, 2015.

PETTENGELL, R.; SHWENKLENKS, M.; LEONARD, R.; BOSLY, A.; PARIDAENS, R.; CONSTENLA, M. et al. Neutropenia occurrence and predictors of reduced chemotherapy delivery: results from the INC-EU prospective observational European neutropenia study. *Support Care Cancer*. v.16, p. 1299-1309, 2008.

POIREL L, HÉRITIER C, TOLÜN V, NORDMANN P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 48, n. 1, p. 15-22, 2004.

POIREL L, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ JM, AL NAIEMI N, DEBETS-OSSENKOPP YJ, NORDMANN P. Characterization of DIM-1, an integron-encoded metallo-beta-lactamase from a *Pseudomonas stutzeri* clinical isolate in the Netherlands. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 54, n. 6, p. 2420-2424, 2010.

POUTSIKA DD, SKIFFINGTON S, MILLER KB, HADLEY S, SNYDMAN DR. Daptomycin in the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in neutropenic patients. *J Infect*. v. 54, n. 6, p. 567-71, 2007.

QUILES MG, MENEZES LC, BAUAB KDE C, GUMPL EK, ROCCHETTI TT, PALOMO FS, CARLESSE F, PIGNATARI AC. Diagnosis of bacteremia in pediatric oncologic patients by in-house real-time PCR. *BMC Infect Dis*. v. 15, p. 283, 2015.

RABAGLIATI, R.; BERTIN, P.; CERON, I.; ROJAS, H.; DOMINGUEZ, I.; VERA, A.; SIRI, L.; FLORES, J.; FERNANDEZ, P. Epidemiología de neutropenia febril em pacientes adultos con leucemia aguda y linfoma. Estudio de cohorte em hospitales público y privado de Santiago, Chile. *Ver. Chilena Infectol*, v. 31 (6), p. 721-728, 2014.

REGIS, R. G., Goldani, L. Z. Factors Associated with Hospital Length of Stay among Cancer Patients with Febrile Neutropenia. *PLoS ONE*. v. 9, n. 10, p. e108969, 2014.

ROLSTON, K. V.; BODEY, G. P.; SAFDAR, A.; Polimicrobial infection in patients with cancer: an underappreciated and underreported entity. *Clin. Infect. Dis*. V. 45(2), p. 228-233, 2007.

ROSA RG, GOLDANI LZ. Factors associated with hospital length of stay among cancer patients with febrile neutropenia. PLoS One. v. 6, n. 9(10), p. e108969, 2014.

ROYO-CEBRECOS C, GUDIOL C, GARCÍA J, TUBAU F, LAPORTE J, ARDANUY C, et al. Characteristics, aetiology, antimicrobial resistance and outcomes of bacteraemic cholangitis in patients with solid tumours: A prospective cohort study. J Infect. v. 74, n. 2, p. 172-178, 2017.

RUHNKE M, BEHRE G, BUCHHEIDT D, CHRISTOPEIT M, HAMPRECHT A, HEINZ W, et al. Diagnosis of invasive fungal diseases in haematology and oncology: 2018 update of the recommendations of the infectious diseases working party of the German society for hematology and medical oncology (AGIHO). Mycoses. v. 61, n. 11, p. 796-813, 2018.

RYU BH, LEE SC, KIM M, et al. Impact of neutropenia on the clinical outcomes of *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients with hematologic malignancies: a 10-year experience in a tertiary care hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 May;39(5):937-943. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03802-w>.

SAH R, KHADKA S, SHRESTHA GS, et al. Detection of Pan drug resistance OXA-48 producing *Providencia* in an ICU patient for the first time in Nepal. Antimicrob Resist Infect Control. v. 8, n. 155, 2019.

SANDOVAL, C., SINAKI, B., WEISS, R. et al. Urinary tract infections in pediatric oncology patients with fever and neutropenia. Pediatr Hematol Oncol. V. 29, n. 1, p. 68-72, 2012.

SANTOS AL, DOS SANTOS AP, ITO CRM, et al. Profile of Enterobacteria Resistant to Beta-Lactams. Antibiotics (Basel). v. 9, n. 7, p. 410, 2020.

SATLIN MJ, CALFEE DP, CHEN L, FAUNTLEROY KA, WILSON SJ, JENKINS SG, FELDMAN EJ, ROBOZ GJ, SHORE TB, HELFGOTT DC, SOAVE R, KREISWIRTH BN, WALSH TJ. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. Leuk Lymphoma. v. 54, n. 4, p. 799-806, 2013.

SCHERENZEL, J. Clinical relevance of new diagnostic methods for bloodstream infections International Journal of Antimicrobial Agents v. 30, p. 2-6, 2007.

SCHULZ, KF. Randomised trials, human nature, and reporting guidelines. Lancet. V. 348, p. 596-98, 1996.

SHARAFUTDINOV, I.S. et al. Increasing Susceptibility of Drug-Resistant *Candida albicans* to Fluconazole and Terbinafine by 2(5H)-Furanone Derivative. Molecules. V. 25, n. (3), p. 642, 2020.

SHARGIAN-ALON L, GAFTER-GVILI A, BEN-ZVI H, WOLACH O, YESHURUN M, RAANANI P, YAHAV D. Risk factors for mortality due to *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with hematological malignancies - a retrospective study. Leuk Lymphoma, v. 60, n. 11, p. 2787-2792, 2019.

SHOAI, T.M.; HAJAGE, D.; FIIHMAN, V. et al. Gram-negative bacteremia: with empirical antibiotic therapy? *Med Mal Infect* v.44, p. 159-166, 2014.

SIERRA J, DÍAZ MV, DE JESÚSGARCÍA M, FINELLO M, SUASNABAR DF, RICHETTA L, TORANZO A, HERNÁNDEZ D, COMETTO MA, VÁZQUEZ SM, CAEIRO JP, SAAD EJ. Infecciones del torrentesanguíneo en pacientes oncológicos [Bloodstream infections in cancer patients]. *Medicina (B Aires)*. v. 80, n. 4, p. 329-338, 2020.

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *J Bras Patol Med Lab* v. 48 n. 2 p. 91-99, 2012.

SHE RC, BENDER JM. Advances in Rapid Molecular Blood Culture Diagnostics: Healthcare Impact, Laboratory Implications, and Multiplex Technologies. *J Appl Lab Med*. Jan;3(4):617-630, 2019. doi: 10.1373/jalm.2018.027409.

SHEKARI EBRAHIM ABAD H, ZAINI F, KORDBACHEH P, et al. In Vitro Activity of Caspofungin Against Fluconazole-Resistant *Candida* Species Isolated From Clinical Samples in Iran. *Jundishapur J Microbiol*. v. 8, n. 6, p. e18353, 2015.

SHI C, JIN W, XIE Y, ZHOU D, XU S, LI Q, LIN N. Efficacy and safety of daptomycin versus linezolid treatment in patients with vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: An updated systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. v. 21, p. 235-245, 2020.

SOARES, CRP., MAGALHÃES, V., ARAÚJO, PSR. Coexistence of blaTEM, blaCTX, blaKPC, blaNDM, blaSIM e blaOXA-48 in polymicrobial bloodstream isolates from a patient with acute myeloid leukemia. *Research, Society and Development, [S. l.]*, v. 10, n. 5, p. e39310514985, 2021.

STEWART, B. W.; WILD, C. P. (Ed.). *World Cancer Report: 2014*. Lyon: IARC, 2014.

TAI ERIC, GUY JR, G. P., DUNBAR, A. e RICHARDSON, L. C. Cost of Cancer-Related Neutropenia or Fever Hospitalizations, United States, 2012. *Journal of Oncology Practice*. V.13, 552-561, 2017.

TANG HJ, LIU WL, LIN HL, LAI CC. Epidemiology and prognostic factors of candidemia in cancer patients. *PLoS One*. v. 9, n. 6, p. e99103, 2014.

TARAFDAR F, JAFARI B, AZIMI T. Evaluating the antimicrobial resistance patterns and molecular frequency of bla<sub>oxa-48</sub> and bla<sub>GES-2</sub> genes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burn wound infection in Tehran, Iran. *New Microbes New Infect*. v. 37, p. 100686, 2020.

TAUR Y, XAVIER JB, LIPUMA L, UBEDA C, GOLDBERG J, GOBOURNE A, et al. Dominação intestinal e risco de bacteremia em pacientes submetidos a transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas. *Clinical Clin Infect Dis*. v. 55, p. 905-914, 2012.

TAWFICK MM, ALSHAREEF WA, BENDARY HA, ELMAHALAWY H, ABDULALL AK. The emergence of carbapenemase bla<sub>NDM</sub> genotype among carbapenem-resistant

Enterobacteriaceae isolates from Egyptian cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* v. 39, n. 7, p. 1251-1259, 2020.

TENG JC, LINGARATNAM SM, TRUBIANO JA, Thursky KA, Slavin MA, Worth LJ. Oral pristinamycin for the treatment of resistant Gram-positive infections in patients with cancer: Evaluation of clinical outcomes. *Int J Antimicrob Agents.* v. 47, n. 5, p. 391-6, 2016.

TOFAS P, SAMARKOS M, PIPERAKI ET, KOSMIDIS C, TRIANTAFYLLOPOULOU ID, KOTSOPOULOU M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. *Diagn Microbiol Infect Dis.* v. 88, n. 4, p. 335-341, 2017.

TOHAMY ST, ABOSHANAB KM, EL-MAHALLAWY HA, EL-ANSARY MR, AFIFI SS. Prevalence of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from febrile neutropenic cancer patients with bloodstream infections in Egypt and new synergistic antibiotic combinations. *Infect Drug Resist.* v. 11, p. 791-803, 2018.

TOLENTINO, F. M. Detecção e identificação dos genes de beta-lactamases blaSHV, blaTEM e blaCTX-Mem *Klebsiella pneumoniae* isoladas em um hospital terciário do Estado de São Paulo. 2009. 94p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, São Paulo, 2009.

VAHEDIAN-ARDAKANI HA, MOGHIMI M, SHAYESTEHPOUR M, DOOSTI M, AMID N. Bacterial Spectrum and Antimicrobial Resistance Pattern in Cancer Patients with Febrile Neutropenia. *Asian Pac J Cancer Prev.* v. 20, n. 5, p. 1471-1474, 2019.

VASQUEZ, A. M. MONTERO, N. LAUGHLIN, et al. Investigation of *Escherichia coli* Harboring the mcr-1 Resistance Gene — Connecticut, 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* v. 65, n. 36, p. 979-980, 2016.

WAKISAKA K, TANI S, ISHIBASHI K, NUKUI K, NAGAO M. Results of a post-marketing surveillance of meropenem for febrile neutropenia. *Jpn J Antibiot.* v. 68, n. 4, p. 205-24, 2015.

WALSH TR, WEEKS J, LIVERMORE DM, TOLEMAN MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis.* v. 11, p. 355–62, 2011.

WELLINGHAUSEN, N. KOCHEN, A. J., DISQUE, C., MUHL, H. GEBERT, S., WINTER, J. MATTEN, J. e SAKKA, S. G. Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use a commercial universal 16S rRNA gene based PCR and sequence analysis. *J. Clin. Microbiol.* V. 47, p. 2759-2765, 2009.

WESTH, H.; LISBY, G.; BREYSSE, F.; BODDINGHAUS, B.; CHOMARAT, M.; GANT, V.; GOGLIO, A.; RAGLIO, A.; SCHUSTER, H.; STUBER, F.A. Multiplex PCR em tempo real and blood cultura for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin. Microbiol. Infect.* V. 15, p. 544-551, 2009.

WEYCKER, D., Malin, J., Edelsberg, J., Glass, A., Gokhale<sup>1</sup>, M. e Oster, G. Cost of neutropenic complications of chemotherapy. *Annals of Oncology*. v. 19, p. 454–460, 2008.

Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. *Clin Infect Dis*. v. 36, n. 9, p. 1103-10, 2003.

WOO P.C., WOO, G.K., LAU, S.K., WONG. S.S., and YUEN, K. Single gene target bacterial identification. *groEL* gene sequencing for discriminating clinical isolates of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. V. 44, p. 143–149, 2002.

WOODFORD N, ELLINGTON MJ, COELHO JM, TURTON JF, WARD ME, BROWN S, AMYES SG, LIVERMORE DM. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents*. v. 27, n. 4, p. 351-3, 2006.

WU W, FENG Y, CARATTOLI A, ZONG Z.. Characterization of an *Enterobacter cloacae* strain producing both KPC and NDM carbapenemases by whole-genome sequencing. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 59, p. 6625–6628, 2015.

WU PF, LIU WL, HSIEH MH, HII IM, LEE YL, LIN YT, HO MW, LIU CE, CHEN YH, WANG FD. Epidemiology and antifungal susceptibility of candidemia isolates of non-albicans *Candida* species from cancer patients. *Emerg Microbes Infect*. v. 6, n. 10, p. e87, 2017.

XIE O, SLAVIN MA, TEH BW, BAJEL A, DOUGLAS AP, WORTH LJ. Epidemiology, treatment and outcomes of bloodstream infection due to vancomycin-resistant enterococci in cancer patients in a vanB endemic setting. *BMC Infect Dis*. v. 20, n. 1, p. 228, 2020.

YADEGARYNIA, D., TARRAND, J., RAAD, I., ROLSTONM, K. Current spectrum of bacterial infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis*. V. 37, n. 8, p. 1144-1145 2003.

YE JJ, SHIE SS, CHENG CW, YANG JH, HUANG PY, WU TS, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. v. 51, n. 6, p. 705-716, 2018.

YIGIT H, QUEENAN AM, ANDERSON GJ, DOMENECH-SANCHEZ A, BIDDLE JW, STEWARD CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. v. 45, n. 4, p. 1151-61, 2001.

ZHANG Q, GAO HY, LI D, et al. Clinical outcome of bloodstream infection by *Escherichia coli* in cancer patients with / without biofilm formation: a single center retrospective study. *Infect Drug Resist*. v. 12, p. 359–371, 2019.

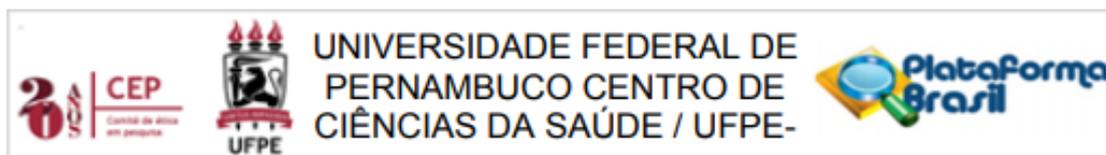
ZINNER, S. H. Changing epidemiology infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria. *Clin Infect Dis*. v. 29, n. 3, p. 490-494, 1999.

**APÊNDICE A - FICHA DE COLETA DE DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DOS PACIENTES COM MALIGNIDADES**

SAME:	Unidade de internamento:
NOME:  RAÇA:  Data de nascimento: ____/____/____	
CÂNCER:	
QUIMIOTERAPIA:	Ciclo:
RADIOTERAPIA:	
Fez uso de Granulokine: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
Uso de ATB antes bacteremia:  ATB _____ Aciclovir (    ) Fluconazol (    )	
Uso de dispositivo: (    ) CVC    (    ) CTI    (    ) CVP    (    ) _____	
Neutropenia Febril: _____°C    data do episódio ____/____/____ _____°C    data do episódio ____/____/____ _____°C    data do episódio ____/____/____	
Tratamento de ATB pós coleta:      ATB por _____ dias Qual ATB:	
Hemograma completo atual: Data do exame ____/____/____ Hb _____ Leuc _____ Segm _____ Plaq _____	
Fez transfusão de hemocompetentes? <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não      data da transfusão ____/____/____	
Data de admissão hospitalar: ____/____/____	
Data de alta hospitalar: ____/____/____	
Data de UTI: ____/____/____	
Data de alta da UTI: ____/____/____	
Óbito :	

<input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não      data de óbito ____/____/_____ Causa do Óbito : _____ Óbito em 30 dias de internação Óbito por sepse / choque séptico (letalidade)	
Comorbidades:  <input type="checkbox"/> HAS <input type="checkbox"/> DM <input type="checkbox"/> DPOC <input type="checkbox"/> Doença cardíaca <input type="checkbox"/> Doença hepática	<input type="checkbox"/> Doença neurológica <input type="checkbox"/> Doença de Ap gastrointestinal <input type="checkbox"/> Doença Renal crônica <input type="checkbox"/> Doença urinária <input type="checkbox"/> HIV/aids <input type="checkbox"/> Outras
Custo hospitalar atual: Valor: R\$ _____ <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> internação c/ quimioterapia</li> <li><input type="checkbox"/> Consultas e avaliação</li> <li><input type="checkbox"/> Diarias</li> <li><input type="checkbox"/> cateter</li> <li><input type="checkbox"/> Atendimento transfusionais</li> <li><input type="checkbox"/> Exames pré-transfusionais</li> <li><input type="checkbox"/> Atendimento fisioterapêutico</li> <li><input type="checkbox"/> _____</li> <li><input type="checkbox"/> _____</li> <li><input type="checkbox"/> _____</li> <li><input type="checkbox"/> _____</li> </ul>	
Realizou cirurgia em atualmente <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não  Qual cirurgia? _____  Data da Cirurgia: ____/____/_____  Observação importante do paciente:	

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPE E DO HCP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Coorte Prospectivo para avaliar o impacto do diagnóstico molecular no tratamento de infecções Bacterianas em episódios de Neutropenia Febril de portadores de malignidades hematológicas em hospital Especializado do Estado de Pernambuco.

**Pesquisador:** PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 56729016.4.0000.5208

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.605.820

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma Emenda para incluir o Hospital do Câncer de Pernambuco no projeto de pesquisa do Prof. Paulo Sérgio Ramos de Araújo, pertencente ao Departamento de Medicina Tropical da UFPE, que buscará realizar diagnóstico precoce para o tratamento de doenças bacterianas em pacientes onco-hematológicos que estejam com neutropenia febril.

#### Objetivo da Pesquisa:

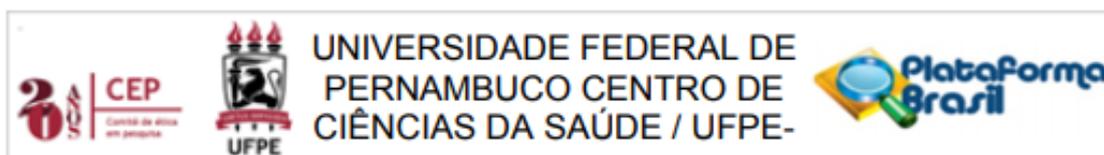
Objetivo Geral:

Avaliar o impacto do diagnóstico precoce da infecção da corrente sanguínea, identificação de seus agentes etiológicos mais frequentes e detecção de genes de resistência aos antimicrobianos por técnica de Biologia Molecular, independente do cultivo microbiano, no tratamento antimicrobiano precoce, prognóstico e evolução de pacientes portadores de malignidades hematológicas em episódios de neutropenia febril durante a quimioterapia assistidos em Hospital terciário do Estado de Pernambuco.

Objetivos Específicos

- Determinar a frequência de NF em pacientes com doenças hematológicas em Hospital terciário do

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.605.820

Estado de Pernambuco;

- Determinar a frequência de infecções bacterianas da corrente sanguínea e quais espécies associadas em pacientes com doenças hematológicas em Hospital terciário do Estado de Pernambuco;
- Pesquisar os genes de resistência entre os isolados bacterianos de pacientes com doenças hematológicas durante NF em Hospital terciário do Estado de Pernambuco;
- Avaliar o perfil de suscetibilidade antimicrobiano dos isolados de pacientes portadores de malignidades hematológicas durante NF em Hospital terciário do Estado de Pernambuco;
- Estudar o grau de concordância entre os resultados positivos encontrados através do isolamento bacteriano em meio de cultura e técnica de PCR, comparando com relação aos desfechos: escolha de antibióticos, tempo de hospitalização e morte em 30, 180 e 360 dias após resolução da NF.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos e benefícios estão claros e adequados para a proposta.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de estudo observacional, tipo coorte prospectivo que será realizado com 280 pessoas com doenças hematológicas malignas. As amostras serão coletadas entre setembro de 2016 a junho de 2020 , após concordarem em participar da pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Estes submetidos à coleta de amostras de sangue destinadas à hemoculturas que serão enviadas a um Laboratório para avaliação. Os participantes serão divididos em dois grupos: Grupo de Intervenção: Grupo de pacientes portadores de malignidades hematológicas em episódios de neutropenia febril com suspeita de infecção da corrente sanguínea a serem diagnosticados de infecção bacteriana por método independente de cultivo pela técnica de PCR paralelo ao diagnóstico de rotina pelo método de hemocultura. Grupo Controle: Grupo de pacientes portadores de malignidades hematológicas em episódios de neutropenia febril com suspeita de infecção da corrente sanguínea a serem diagnosticados de infecção apenas por hemocultura, método de rotina utilizado na unidade de assistência a saúde.

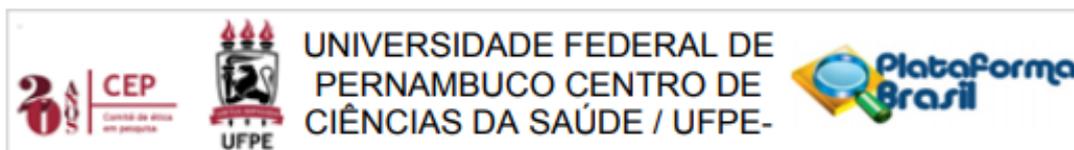
#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos encontram-se adequados.

#### **Recomendações:**

Nenhuma.

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.605.820

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Nenhuma.

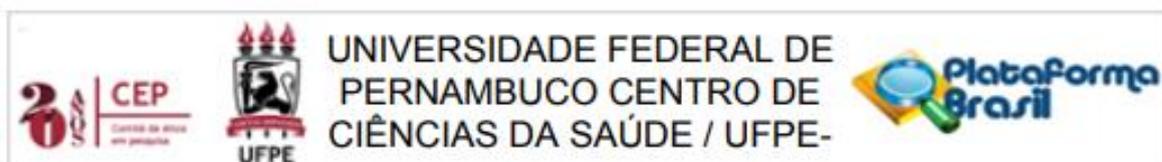
**Considerações Finais a critério do CEP:**

A Emenda foi analisada pelo colegiado do CEP e está Aprovada.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1083308_É1.pdf	16/04/2018 12:34:08		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HCP.doc	16/04/2018 12:30:53	Cynthia Regina Pedrosa Soares	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuencia.doc	16/04/2018 12:30:14	Cynthia Regina Pedrosa Soares	Aceito
Outros	JustificativadaEmenda.docx	16/04/2018 12:29:49	Cynthia Regina Pedrosa Soares	Aceito
Outros	carta_resposta_as_pendencias.docx	19/07/2016 10:05:31	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Outros	carta_de_anuencia_laboratorio_molecular.jpg	19/07/2016 10:01:03	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodepesquisadeCoortePauloSergio.docx	11/05/2016 11:17:32	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Outros	usodedados.pdf	26/04/2016 09:59:03	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termodeconfidencialidade.pdf	26/04/2016 09:50:59	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLDoProjeto.docx	19/04/2016 10:31:05	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderostoprojetopesquisapaulosergio.pdf	14/04/2016 14:55:34	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Outros	CurriculoLattesPauloSergio.pdf	13/04/2016 15:47:56	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Outros	Curriculolattesynthiasoares.pdf	13/04/2016 15:44:48	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartadeanuenciadoprojodepesquisa.jpg	13/04/2016 15:36:55	PAULO SERGIO RAMOS DE ARAÚJO	Aceito

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.605.820

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 18 de Abril de 2018

---

**Assinado por:**  
**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
(Coordenador)

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

**SOCIEDADE PERNAMBUCANA  
DE COMBATE AO CÂNCER-  
SPCC**



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** "Coorte prospectiva para avaliar o impacto do diagnóstico molecular no tratamento de infecções bacterianas em episódios de neutropenia febril de portadores de malignidades hematológicas em hospital especializado do Estado de Pernambuco"

**Pesquisador:** Cynthia Regina Pedrosa Soares

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 16285219.5.0000.5205

**Instituição Proponente:** SOCIEDADE PERNAMBUCANA DE COMBATE AO CÂNCER -SPCC

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.525.541

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de estudo de coorte, no qual os pacientes serão acompanhados por um período de 12 meses. O estudo será dividido em prospectivo (grupo de intervenção) e retrospectivo (grupo controle). No grupo de intervenção será realizado os testes de diagnósticos molecular para detecção bacteriana em todos os pacientes que aceitarem a participar da pesquisa e obedecerem os critérios de inclusão. No grupo controle serão coletados apenas os dados retrospectivos dos pacientes que foram diagnosticados com infecção bacteriana através de hemocultura pelos prontuários.

**Resumo:**

Neutropenia febril (NF) é uma complicação das mais letais em doenças hematológicas malignas, podendo ser mais frequente em malignidades onco

**Endereço:** Av. Cruz Cabugã, 1397

**Bairro:** Santo Amaro

**CEP:** 50.040-000

**UF:** PE **Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)3217-8005

**Fax:** (81)3217-8005

**E-mail:** cep@hcpq.org.br

**SOCIEDADE PERNAMBUCANA  
DE COMBATE AO CÂNCER-  
SPCC**



Continuação do Parecer: 3.525.541

Outros	1923.pdf	15:08:28	Pedrosa Soares	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório / Biobanco	AutorizacaoHematologia2019.jpg	04/06/2019 15:05:32	Cynthia Regina Pedrosa Soares	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 23 de Agosto de 2019

---

**Assinado por:  
ISABEL CRISTINA LEAL  
(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Cruz Cabugá, 1587

**Bairro:** Santo Amaro

**CEP:** 50.040-000

**UF:** PE

**Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)3217-8005

**Fax:** (81)3217-8005

**E-mail:** csp@hcp.org.br

## ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Pesquisador Responsável: Paulo Sergio Ramos de Araújo  
 Equipe de pesquisa: Cynthia Regina Pedrosa Soares, Vera Magalhães e Aleyde Diniz Loureiro  
 Endereço: Av. Moraes Rego, s/n, Campus da UFPE - Cidade Universitária - Recife/PE - CEP: 50670-420.  
 CEP: 50670420 Fone: (81) 21012689  
 E-mail: psergiora@gmail.com/cynthiaregina@msn.com

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa "Impacto do diagnóstico molecular no tratamento de infecções bacterianas em episódios de Neutropenia Febril de portadores de linfomas e leucemias". Neste estudo pretendemos avaliar o impacto do diagnóstico precoce da infecção bacteriana, identificação dos agentes etiológicos mais frequentes e detecção dos genes de resistência aos antimicrobianos através da biologia molecular que possa impactar no tratamento precoce e modificação do prognóstico e evolução de pacientes portadores de malignidades hematológicas em episódios de neutropenia febril após a quimioterapia. O motivo que nos leva a estudar este tema se deve ao diagnóstico de infecções em neutropenia febril que é normalmente difícil e demorado pela técnica de cultura sanguínea. A mortalidade por infecções no sangue têm sido associada com atraso no diagnóstico e ao tratamento muitas vezes inadequado e que frequentemente deve ser ajustado posteriormente de acordo com o resultado da cultura sanguínea. Portanto, o diagnóstico rápido pode aumentar a sobrevida destes pacientes.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: Os seus dados clínicos e epidemiológicos serão coletados através de prontuários, no qual a busca será feita no momento da coleta da amostra biológica dos pacientes, também será realizado a coleta de sangue veia de aproximadamente 10 ml, para detecção de infecção bacteriana. Este é um procedimento rápido, cuja duração da coleta sanguínea é de aproximadamente 2 minutos. Os riscos causados aos indivíduos durante a coleta de sangue são mínimos, havendo apenas um desconforto, apesar de ser uma coleta invasiva, não causa dor, porém, esse desconforto pela picada da agulha pode em alguns casos ocorrer a formação de placas roxas (hematomas) que desaparecerão espontaneamente e sem nenhum tratamento. Quanto aos benefícios, informamos que esses exames poderão ser importantes para seu tratamento, pois o encontro do micróbio na corrente sanguínea poderá desencadear medidas por parte do seu médico que dificultem o surgimento de infecções por esta bactéria. As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados no Laboratório do Departamento de Microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães, sob a responsabilidade da pesquisadora e orientador do estudo no endereço acima informado pelo período de no mínimo 5 anos. Fica garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Hospital do Câncer de Pernambuco no endereço: (Avenida Cruz Cabugá 1597, Santo Amaro, Recife-PE, CEP: 50040000. (Conforme resolução 466/2012).

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr. (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Instituto Aggeu Magalhães FIOCRUZ e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos do estudo "Impacto do diagnóstico molecular no tratamento de infecções bacterianas em episódios de Neutropenia Febril de portadores de linfomas e leucemias", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas formações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Recife, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.

Nome:	Assinatura e data:
Nome:	Assinatura e data:

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP / HCP- Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Pernambuco  
 Av. Cruz Cabugá, 1597 Santo Amaro – Recife PE. CEP: 50040000  
 E-mail: cep@hcp.org.br Contato: 3217-8005



## ANEXO C - ARTIGO PUBLICADO – TRATAMENTO COM DAPTOMICINA EM INFEÇÃO DA CORRENTE SANGUÍNEA POR *ENTEROCOCCUS* RESISTENTE A VANCOMICINA EM PACIENTE COM CÂNCER DE CÓLON: DESFECHO ÓBITO

(publicado na revista Brazilian Journal of Health Review) B2



Brazilian Journal of Health Review | 6361  
ISSN: 2595-6825

### Tratamento com daptomicina em infecção da corrente sanguínea por *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com câncer de cólon: desfecho óbito

### Treatment with daptomycin for bloodstream infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* in a patient with colon cancer: death outcome

DOI:10.34119/bjhrv4n2-189

Recebimento dos originais: 04/02/2021

Aceitação para publicação: 24/03/2021

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**  
Mestre em Ciências pelo Departamento de Medicina Tropical  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE-Brasil  
E-mail: cynthiaregina@msn.com

**Vera Magalhães**  
Médico infectologista, Doutora em Ciências, Professor Titular do Departamento de  
Medicina Tropical  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE-Brasil

**Paulo Sérgio Ramos de Araújo**  
Médico infectologista, Doutor em Ciências pelo Departamento de Medicina Tropical da  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e Pesquisador do Departamento de  
Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) FIOCRUZ, Recife-PE-Brasil

#### RESUMO

**Introdução:** Infecção da corrente sanguínea (ICS) por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) é uma complicação grave em pacientes com tumor sólido. **Objetivo:** Descrever o aspecto clínico e molecular do isolado *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com tumor de cólon. **Métodos:** O isolado de VRE foi identificado e analisado quanto ao perfil antimicrobiano a partir de hemocultura processado por método automatizado vitek®, posteriormente foi submetida para a detecção do gene de resistência à vancomicina, vanA. **Resultado:** O isolado *Enterococcus faecium* apresentou resistência à amicacina, eritromicina e vancomicina. O gene VanA foi identificado e iniciado o tratamento com teicoplanina seguida de daptomicina sem sucesso a paciente evoluiu a óbito.

**Palavras-chave:** *Enterococcus faecium*, VRE, VanA, bacteremia, câncer.

#### ABSTRACT

**Introduction:** Bloodstream infection (ICS) by vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) is a serious complication in patients with a solid tumor. **Objective:** To describe the clinical and molecular aspect of the vancomycin-resistant *Enterococcus* isolate in a patient with a colon tumor. **Methods:** The VRE isolate was identified and analyzed for antimicrobial profile from blood culture processed by the automated vitek® method, which was subsequently subjected to the detection of the vancomycin resistance gene, vanA. **Result:**

**Tratamento com daptomicina em infecção da corrente sanguínea por *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com câncer de cólon: desfecho óbito**

**Treatment with daptomycin for bloodstream infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* in a patient with colon cancer: death outcome**

DOI:10.34119/bjhrv4n2-189

Recebimento dos originais: 04/02/2021

Aceitação para publicação: 24/03/2021

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**

Mestre em Ciências pelo Departamento de Medicina Tropical  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE-Brasil E-mail:  
cynthiaregina@msn.com

**Vera Magalhães**

Médico infectologista, Doutora em Ciências, Professor Titular do Departamento de  
Medicina Tropical  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE-Brasil

**Paulo Sérgio Ramos de Araújo**

Médico infectologista, Doutor em Ciências pelo Departamento de Medicina Tropical da  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e Pesquisador do Departamento de  
Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM) FIOCRUZ, Recife-PE-Brasil

**RESUMO**

Introdução: Infecção da corrente sanguínea (ICS) por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) é uma complicação grave em pacientes com tumor sólido. Objetivo: Descrever o aspecto clínico e molecular do isolado *Enterococcus* resistente a vancomicina em paciente com tumor de cólon. Métodos: O isolado de VRE foi identificado e analisado quanto ao perfil antimicrobiano a partir de hemocultura processado por método automatizado vitek®, posteriormente foi submetida para a detecção do gene de resistência à vancomicina, vanA. Resultado: O isolado *Enterococcus faecium* apresentou resistência à amicacina, eritromicina e vancomicina. O gene VanA foi identificado e iniciado o tratamento com teicoplanina seguida de daptomicina sem sucesso a paciente evoluiu a óbito.

**Palavras-chave:** *Enterococcus faecium*, VRE, VanA, bacteremia, câncer.

**ABSTRACT**

Introduction: Bloodstream infection (ICS) by vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) is a serious complication in patients with a solid tumor. Objective: To describe the clinical and molecular aspect of the vancomycin-resistant *Enterococcus* isolate in a patient with a colon tumor. Methods: The VRE isolate was identified and analyzed for antimicrobial profile from blood culture processed by the automated vitek® method, which was subsequently subjected to the detection of the vancomycin resistance gene, vanA. Result:

The isolate *Enterococcus faecium* showed resistance to amikacin, erythromycin and vancomycin. The VanA gene was identified and treatment with teicoplanin followed by daptomycin was unsuccessful and the patient died.

**Keywords:** *Enterococcus faecium*, VRE, VanA, bacteremia, cancer.

## 1 INTRODUÇÃO

*Enterococcus faecium* tem sido classificado como o segundo mais importantes patógeno nosocomial em todo o mundo<sup>1</sup>. Infecção da corrente sanguínea (ICS) por *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) é uma complicação grave em populações imunocomprometidas<sup>2</sup>. VRE tem sido uma das principais causas de infecção na corrente sanguínea após transplante de células tronco hematopoiéticas<sup>3</sup>. Além disso, *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina tem sido comum em pacientes com malignidades hematológicas<sup>4</sup> e tumor sólido<sup>5</sup>. *E. faecium* tem sido associado a infecção enterocócica e colangite bacterêmica em pacientes com tumor sólido<sup>6</sup>.

A incidência de *E. faecium* portadores do gene vanA varia de 25%<sup>7</sup> a 72,7%<sup>8</sup>. Estudos demonstraram que o uso de dispositivos de acesso venoso central, neutropenia, transplante hematopoiético alogênico, cateterismo urinário e duração da terapia com metronidazol foram fatores de risco<sup>9,10</sup>.

Aqui demonstramos uma infecção na corrente sanguínea por *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina abrigando o gene VanA, a caracterização do perfil de resistência do isolado, o tratamento e no desfecho clínico em infecção na corrente sanguínea de paciente com tumor sólido.

## 2 RELATO DE CASO

Uma mulher de 77 anos, nascida em Pernambuco, Brasil, foi admitida dia 13 de janeiro de 2020, relatando alguns sintomas, tais como, perda de peso, tosse seca, anemia, cólica, distagia, dor no estômago e azia. Diagnosticada com câncer de cólon ascendente, paciente foi submetida à uma biópsia da lesão ulcerada em cólon ascendente, evidenciando um carcinoma mal diferenciado com ampla infiltração da mucosa, com ulceração e com permeação para vaso linfático. Paciente realizou uma ressecção alargada do tumor de intestino (colectomia) e uma laparotomia explorada nos dias 16 e 24 de janeiro respectivamente. Durante a sua internação a paciente foi encaminhada para Unidade de Terapia Intensiva (UTI) fez ventilação mecânica, traqueostomia, fez uso de droga sedativa (midazolam e fentanil) e droga vasoativa (noradrenalina). Paciente fazia

uso dos dispositivos, cateter venoso central e periférico, sonda vesical de demora (SVD) e dispositivo tubo orotraqueal (TOT). A cultura de líquido ascítico evidenciou *Candida* spp coletada dia 25/01, swab retal foi negativo. Paciente foi tratada com anidulafungina 100 mg + 100 ml SF EV 24/24h em 1H DO por 15 dias. Paciente desenvolveu um quadro de bacteremia no dia sete de fevereiro por *Enterococcus* spp resistente à vancomicina. Oteste de suscetibilidade mostrou resistência também à ampicilina e eritromicina (tabela1). Foram realizados outros testes para a confirmação, tais como teste de identificação e antibiograma por testes bioquímicos automatizados e cartões Vitek GPI e teste molecular para a detecção do gene VanA. A paciente teve um episódio de febre, apresentando neutropenia, com neutrófilos 89,2/mm<sup>3</sup>, contagem de leucócitos de 17570/mm<sup>3</sup>, hemoglobina de 9,5 g/dL e plaquetas 83.000/mm<sup>3</sup>, no qual realizou transfusão de hemocomponentes. Iniciou terapia com teicoplanina (400 mg +100 ml EV 24/24 h em 1HDO) por 15 dias. A daptomicina (500 mg + 100 ml SF0,9% 24/24h foi administrada no dia 13/02 por um período de 10 dias. Os testes automatizado e molecular revelaram *E. faecium* resistente à vancomicina codificando o gene VanA. A paciente não obteve melhora clínica, desenvolvendo choque séptico, evoluindo para óbito no dia 22/02/20 com 39 dias de internamento.

**Tabela 1. Perfil antimicrobiano de *E. faecium* isolado de bacteremia de paciente com câncer**

Antimicrobiano	Resultado	MIC (µg/ml)
<b>Clindamicina</b>	S	0,50
<b>Ampicilina</b>	R	>32,00
<b>Tigeciclina</b>	S	<=0,12
<b>Daptomicina</b>	S	<=0,12
<b>Eritromicina</b>	R	>=8,00
<b>Gentamicina</b>	S	<=0,50
<b>Tetraciclina</b>	S	<=0,12
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	S	<=10,00
<b>Vancomicina</b>	R	>=32,00
<b>Teicoplanina</b>	S	1,00
<b>Linezolida</b>	S	2,00

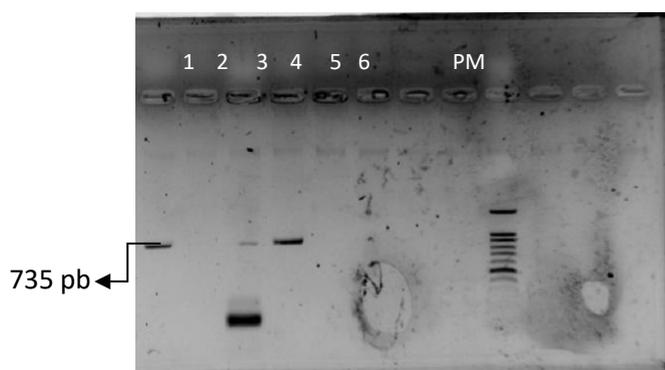
(S) sensível, dosagem padrão, (R) resistente. Os valores numéricos expressam a concentração inibitória mínima (CIM).

### 3 PESQUISA DO GENE DE RESISTÊNCIA

O DNA genômico foi isolado usando o kit Relia Prep mini kit (Promega) de acordo com as instruções do fabricante. O gene de resistência VanA foi obtido através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) utilizando os primers VanA-F (5'-

CATGACGTAATCGGTAAAATC-3') e VanA-R (5'- ACCGGGCAGRGTATTGAC-3') com tamanho de fragmento de 732 pb. E os primers mecA-F (5' - AAAACTAGGTGTTGGTGAAGATATACC - 3') e mecA-R (5' - GAAAGGATCTGTACTGGGTTAATCAG - 3') com tamanho de fragmento de 147pb.O protocolo de PCR usado na reação foi o kit de reagente PCR Master Mix TopTaq (Qiagen). A reação volume total, 25 µl) consiste de: Master Mix (10x PCR buffer, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM de cada dNTP e 1,25 U TopTaq DNA polimerase) 10 µM de cada primer.A PCR foi realizada usando o instrumento B-raid (USA). As condições de reação foram:pre-desnaturação a 94°C por três min, seguida de 35 ciclos de ampliações de 94°C por30s, 60°C por 30s, 72°C por um min, com uma extensão final de 72°C por 10 min (figura1).

Figura 1. Eletroforese em gel de agarose 1% corada com Brometo de etídio para visualização das bandas dos amplicons. Linha 1 – 2, amostra de paciente testada para gene vanA e mecA respectivamente, linha 3 - controle positivo para o gene mecA, linha 4 – controle positivo para o gene VanA, linha 5 – 6 são controles negativos para o gene mecA e VanA.



#### 4 DISCUSSÃO

Este estudo descreve as características microbiológicas, epidemiológicas e molecular de um isolado clínico de VRE obtido de infecção na corrente sanguínea de paciente com câncer em um hospital de referência no Estado de Pernambuco, Brasil. Durante a internação para tratar o tumor de cólon, a paciente adquiriu infecção fungica por *Candida* spp do fluido peritoneal, tratada com sucesso com anidulafungina. Em seguida a paciente desenvolveu infecção na corrente sanguínea por *Enterococcus faecium* resistente à ampicilina, eritromicina e vancomicina. Apesar de fazer parte da microbiota intestinal, *Enterococcus* resistentes à vancomicina podem expandir-se rapidamente para regiões mais densas no trato gastrointestinal, persistindo por dias após a interrupção da administração de antibióticos<sup>11</sup>, a translocação bacteriana é favorecida pelo aumento na permeabilidade da mucosa do cólon

lesado e atua como fator de risco para bacteremia<sup>12</sup>, isso justifica a cultura de swab retal ter sido negativa, apesar do resultado positivo da hemocultura.

A resistência a vancomicina pela cepa *Enterococcus* foi confirmada pelo genótipo que abrigava a variante VanA, classificada como a variante mais frequentemente encontrada em *E. faecium*<sup>13,14</sup>.

Daptomicina foi administrado para o tratamento de bacteremia sem êxito. Pacientes que receberam daptomicina como tratamento de infecção contra VRE tiveram uma taxa de letalidade de 33%<sup>15</sup>. Tratamento infecções da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* com daptomicina em infecções de pele e tecidos moles tem sido amplamente utilizado. No entanto, a eficácia da daptomicina no tratamento da ICS em *Enterococcus* resistente à vancomicina ainda não está bem estabelecida<sup>15</sup>. Embora o tratamento mais indicado para VRE seja linezolida, teicoplanina ou daptomicina<sup>16,17</sup>. Linezolida tem sido associada a um risco significativamente maior de falha do tratamento e letalidade em comparação com a daptomicina<sup>18</sup>. Em contrapartida, pacientes tratados com daptomicina tem sido associados a maior mortalidade em 14 e 28 dias e menores taxas de erradicação microbiana do que os pacientes tratados com linezolida<sup>19</sup>. Estudos apontam que a daptomicina mostram resultados comparáveis com linezolida, no entanto, altas doses devem ser consideradas para pacientes com bacteremia VRE<sup>20</sup>.

Diante disso, estudos mostram que além de antibióticos, comensais produtores de lantibióticos do trato gastrointestinal podem reduzir a colonização por VRE ou a utilização de cepas *Blautia producta* e *Clostridium bolteae* para restaura a resistência decolonização contra VRE<sup>21,22</sup>. O uso de bactérias probióticas comensais no transplante fecal tem sido utilizado como estratégias contra VRE.

Maior gravidade da doença e tratamento inadequado tem sido associados com aumento da mortalidade<sup>19</sup>. Tem sido documentado uma tendência de aumento da mortalidade para aqueles tratados com daptomicina<sup>17,18,19</sup>.

*Enterococcus* resistentes à vancomicina representam uma séria ameaça ao público em geral, especialmente aos pacientes hospitalizados com câncer, elevando a taxa de mortalidade. O tumor de cólon ascendente pode ter sido um predisponente para a infecção e o agravamento do desfecho. A vigilância de microrganismos e resistência aos antimicrobianos é crucial para reduzir a mortalidade.

## REFERÊNCIAS

1. Kolonen A, Sinisalo M, Huttunen R, Syrjänen J, Aittoniemi J, Huhtala H, et al. Bloodstream infections in acute myeloid leukemia patients treated according to the Finnish Leukemia Group AML-2003 protocol - a prospective nationwide study. *Infect Dis (Lond)*. 2017; 49(11-12):799-808. doi: 10.1080/23744235.2017.1347814.
2. Xie O, Slavin MA, Teh BW, Bajel A, Douglas AP, Worth LJ. Epidemiology, treatment and outcomes of bloodstream infection due to vancomycin-resistant enterococci in cancer patients in a vanB endemic setting. *BMC Infect Dis*. 2020; 18:20(1):228. doi: 10.1186/s12879-020-04952-5.
3. Kamboj M, Cohen N, Huang YT et al. Impact of Empiric Treatment for Vancomycin-Resistant Enterococcus in Colonized Patients Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019; 25(3):594-598. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.11.008.
4. Alatorre-Fernández P, Mayoral-Terán C, Velázquez-Acosta C, Franco-Rodríguez C, Flores-Moreno K, Cevallos MÁ, et al. A polyclonal outbreak of bloodstream infections by *Enterococcus faecium* in patients with hematologic malignancies. *Am J Infect Control*. 2017; 1:45(3):260-266. doi: 10.1016/j.ajic.2016.10.002.
5. Teng JC, Lingaratnam SM, Trubiano JA, Thursky KA, Slavin MA, Worth LJ. Oral pristinamycin for the treatment of resistant Gram-positive infections in patients with cancer: Evaluation of clinical outcomes. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47(5):391-6. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.01.017.
6. Royo-Cebrecos C, Gudiol C, García J, Tubau F, Laporte J, Ardanuy C, et al. Characteristics, aetiology, antimicrobial resistance and outcomes of bacteraemic cholangitis in patients with solid tumours: A prospective cohort study. *J Infect*. 2017; 74(2):172-178. doi: 10.1016/j.jinf.2016.10.008.
7. Krull M, Klare I, Ross B, Trenchel R, Beelen DW, Todt D, et al. Emergence of linezolid- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a department for hematologic stem cell transplantation. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016; 22:5-31. doi: 10.1186/s13756-016-0131-6.
8. Papadimitriou-Olivgeris M, Kolonitsiou F, Karamouzos V. Molecular characteristics and predictors of mortality among Gram-positive bacteria isolated from bloodstream infections in critically ill patients during a 5-year period (2012-2016). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020; 2. doi: 10.1007/s10096-019-03803-9.
9. Cheah AL, Peel T, Howden BP, Spelman D, Grayson ML, Nation RL, et al. Estudo caso-caso-controlado sobre fatores associados à bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e suscetível à vancomicina. *BMC Infect Dis*. 2014; 14:353.
10. Peel T, Cheng AC, Spelman T, Huysmans M, Spelman D. Diferentes fatores de risco para bacteremia enterocócica resistente à vancomicina e sensível à vancomicina. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(4):388-94.

11. Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, Ubeda C, Goldberg J, Gobourne A, et al. Dominação intestinal e risco de bacteremia em pacientes submetidos a transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas. *Clinical Infect Dis* 2012; 55:905–914. doi: 10.1093/cid/cis580.
12. Amarnani R, Rapose A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. *J Infect Public Health*. 2017; 10(5):681-684. doi: 10.1016/j.jiph.2016.09.009.
13. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, et al. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat*. 2018; 40:25-39. doi: 10.1016/j.drug.2018.10.002.
14. Lochan H, Moodley C, Rip D, Bamford C, Hendricks M, Davidson A, Eley B. Emergence of vancomycin-resistant *Enterococcus* at a tertiary paediatric hospital in South Africa. *S Afr Med J*. 2016; 9:106(6):39-43. doi: 10.7196/SAMJ.2016.v106i6.10858.
15. Poutsika DD, Skiffington S, Miller KB, Hadley S, Snyderman DR. Daptomycin in the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in neutropenic patients. *J Infect*. 2007; 54(6):567-71. doi: 10.1016/j.jinf.2006.11.007.
16. Büyükcem A, Karadağ Öncel E, Özsüreççi Y, Cengiz AB, Kuşkonmaz B, Sancak B. Vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteremia in a child with acute myeloid leukemia: successful treatment with daptomycin. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 1;114(6):e432-e435. English, Spanish. doi: 10.5546/aap.2016.eng.e432.
17. Narayanan N, Rai R, Vaidya P, Desai A, Bhowmick T, Weinstein MP. Comparison of linezolid and daptomycin for the treatment of vancomycin-resistant enterococcal bacteremia. *Ther Adv Infect Dis*. 2019; 13;6:2049936119828964. doi: 10.1177/2049936119828964.
18. Britt NS, Potter EM, Patel N, Steed ME. Comparison of the Effectiveness and Safety of Linezolid and Daptomycin in Vancomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infection: A National Cohort Study of Veterans Affairs Patients. *Clin Infect Dis*. 2015; 15;61(6):871-8. doi: 10.1093/cid/civ444. Epub 2015 Jun 10.
19. Ye JJ, Shie SS, Cheng CW, Yang JH, Huang PY, Wu TS, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018; 51(6):705-716. doi: 10.1016/j.jmii.2017.08.025.
20. Shi C, Jin W, Xie Y, Zhou D, Xu S, Li Q, Lin N. Efficacy and safety of daptomycin versus linezolid treatment in patients with vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: An updated systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020; 21:235-245. doi: 10.1016/j.jgar.2019.10.008.
21. Kim SG, Becattini S, Moody TU, Shliaha PV, Littmann ER, Seok R, et al. Microbiota-derived lantibiotic restores resistance against vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Nature*. 2019; 572(7771):665-669. doi: 10.1038/s41586-019-1501-z.

22. Caballero S, Kim S, Carter RA, Leiner IM, Sušac B, Miller L, et al. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. *Cell Host Microbe*. 2017; 10;21(5):592-602.e4. doi: 10.1016/j.chom.2017.04.002.

**ANEXO D - ARTIGO PUBLICADO – COEXISTENCE OF *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> E *bla*<sub>OXA-48</sub> IN POLYMICROBIAL BLOODSTREAM ISOLATES FROM A PATIENT WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA**

(Publicado na revista Research, society and Development) A3

Research, Society and Development, v. 10, n. 5, e39310514985, 2021  
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14985>

**Coexistence of *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> in polymicrobial bloodstream isolates from a patient with acute myeloid leukemia**  
**Coexistência de of *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em isolados polimicrobianos da corrente sanguínea de um paciente com leucemia mieloide aguda**  
**Coexistencia de *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> y *bla*<sub>OXA-48</sub> en aislados polimicrobianos del torrente sanguíneo de un paciente con leucemia mieloide aguda**

Received: 04/12/2021 | Reviewed: 04/20/2021 | Accept: 04/24/2021 | Published: 10/05/2021

**Cynthia Regina Pedrosa Soares**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8915-859X>  
Federal University of Pernambuco, Brazil  
E-mail: [cynthiaregina@msn.com](mailto:cynthiaregina@msn.com)

**Vera Magalhães**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3495-0234>  
Federal University of Pernambuco, Brazil  
E-mail: [vemagalhaes@uol.com.br](mailto:vemagalhaes@uol.com.br)

**Paulo Sérgio Ramos de Araújo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7839-0737>  
Federal University of Pernambuco, Brazil  
E-mail: [psergiora@gmail.com](mailto:psergiora@gmail.com)

**Abstract**

Background: Bloodstream infections are among the most frequent and serious complications in patients with haematological malignancies. Case presentation: A patient diagnosed with acute myeloid leukemia was admitted to the hospital for chemotherapy induction, developed several episodes of febrile neutropenia. Had bloodstream infection with at least four strains of Gram-negative bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*. The majority showed resistance to ampicillin, cefepime, ceftriaxone, ciprofloxacin and sulfamethoxazole/trimethoprim. *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>SIM</sub> were detected in *P. aeruginosa*, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub> and *bla*<sub>OXA-48</sub> in *E. coli*, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> and *bla*<sub>OXA-48</sub> in *K. pneumoniae* and *bla*<sub>OXA-48</sub> in *A. baumannii*. Conclusions: The patient was treated with meropenem for 10 days, without progressing from fever episodes, evolved to death.

**Keywords:** Polymicrobial infection; Carbapenemases;  $\beta$ -Lactamase; Hematological malignancy; Bloodstream infection.

**Resumo**

Introdução: As infecções da corrente sanguínea estão entre as complicações mais frequentes e graves em pacientes com doenças hematológicas malignas. Apresentação do caso: Um paciente com diagnóstico de leucemia mieloide aguda foi admitido no hospital para indução de quimioterapia, desenvolveu vários episódios de neutropenia febril. Teve infecção da corrente sanguínea com pelo menos quatro cepas de bactérias Gram-negativas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii*. A maioria mostrou resistência a ampicilina, cefepima, ceftriaxona, ciprofloxacina e sulfametoxazol/trimetoprima. *bla*<sub>TEM</sub> e *bla*<sub>SIM</sub> foram detectados em *P. aeruginosa*, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *E. coli*, *bla*<sub>CTX</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>SIM</sub> e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *K. pneumoniae* e *bla*<sub>OXA-48</sub> em *A. baumannii*. Conclusões: O paciente foi tratado com meropenem por 10 dias, sem evolução de episódios febris, evoluindo a óbito.

**Palavras-chave:** Infecção polimicrobiana; Carbapenemases;  $\beta$ -lactamase; Malignidade hematológica; Infecção da corrente sanguínea.

**Resumen**

Antecedentes: las infecciones del torrente sanguíneo se encuentran entre las complicaciones más frecuentes y graves en pacientes con neoplasias hematológicas. Presentación del caso: Un paciente diagnosticado con leucemia mieloide aguda fue ingresado en el hospital para inducción de quimioterapia, desarrolló varios episodios de neutropenia febril. Tenía una infección del torrente sanguíneo con al menos cuatro cepas de bacterias gramnegativas, incluidas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii*. La mayoría mostro resistencia a ampicilina, cefepima, ceftriaxona, ciprofloxacina y sulfametoxazol / trimetoprima. *bla*TEM y *bla*SIM se detectaron en *P. aeruginosa*, *bla*TEM, *bla*CTX y *bla*OXA-48 en *E. coli*, *bla*CTX, *bla*KPC, *bla*NDM, *bla*SIM y *bla*OXA-48 en *K. pneumoniae* y *bla*OXA-48 en *A. baumannii*. Conclusiones: El paciente fue tratado con meropenem durante 10 días, sin progresar de episodios febriles, evolucionó hasta la muerte.

**Palabras clave:** Infección polimicrobiana; Carbapenemasas;  $\beta$ -lactamasa; Malignidad hematológica; Infección del torrente sanguíneo.

## 1. Introduction

The epidemiology of bloodstream infection in patients with haematological cancer has been changing over time. Gram-negative bacteria infections are increasingly prominent in patients with hematological malignancies associated with antimicrobial resistance (Pagano et al., 2014).

Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections are an increasing cause of mortality in acute myeloid leukemia (AML), compromising the success of antineoplastic therapy (Castañón et al., 2019). Patients with bloodstream infection (BSI), particularly those with multidrug-resistant bacteria (MDR), have a higher risk of mortality (Islas-Muñoz et al., 2018). As a result, the mortality rate in patients with hematological neoplasms increases with bloodstream infections. Bloodstream infections in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae are appearing in patients with hematological malignancies and are associated with ineffective initial empirical therapy, long delays in the administration of active antimicrobials and high mortality rates (Satlin et al., 2013).

Bacteremia due to polymicrobial infections is uncommon, however, it has already been reported to be caused by *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* multiresistant (Khan et al., 2020; Dumont et al., 2020), especially in cancer patients (Royo-Cebrecos et al., 2017; Agrawal et al., 2019).

*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* are more frequent (58.0% and 22.9%) respectively in patients with hematological malignancies (Mert et al., 2019). The incidence of bloodstream infections has been documented in patients colonized by MDR (25.7%) in patients with hematological malignancies, showing a propensity to develop BSIs by *Klebsiella* and *Enterobacter* (Cattaneo et al., 2018). Exposição prévia a antibióticos tem sido fator de risco para bacteremia por *Klebsiella*

*pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL-KP) em pacientes com câncer (Nham et al., 2020). In Brazil, the incidence of BSI by Gram-negative bacteria (BGN) reaches 24.1% of BSI by multidrug-resistant BGN or polymicrobial infection drops to 3.9% (Rosa; Goldani, 2014).

## 2. Methodology

We conducted a case report at a referral center for people with cancer in Pernambuco, Brazil. We analyzed all consecutive episodes of bloodstream infection in a cancer patient. Information on baseline characteristics, clinical characteristics, were prospectively collected from medical records. And the etiology, antimicrobial susceptibility, empirical antibiotic therapy and resistance genes were determined through phenotypic and molecular tests. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital do Câncer de Pernambuco.

## 3. Case Presentation

A 24-year-old woman with acute myeloid leukemia M3 subtype - LMA-M3 (promyelocytic leukemia) was admitted to the hematology department of the Pernambuco Cancer Hospital on 01/20/20 to start the first cycle of chemotherapy with daunorubicin and cytarabine, without any comorbidity, and used prophylactic sulfamethoxazole + trimethoprim and acyclovir.

The patient presented dyspnea associated with fever and productive cough, requiring supplemental oxygenation. Ceftriaxone

2g / day (D7) and azithromycin 500mg / day (D5) were started. During hospitalization, the patient had several peaks of febrile

neutropenia, the first episode of fever was 02/05/20 with 38.2°C. The second episode was 02/14/20 with 38.4°C and the third episode on 02/17/20 with 38.4°C. More than three episodes of NF were recorded during hospitalization. Made use of 300 mcg

(30 UM / mL) of granulokine during hospitalization.

The complete blood count exams showed intense leukopenia, thrombocytopenia according to hemoglobin values 7.9

g/dL, leukocyte count of 220/mm<sup>3</sup>, neutrophils 201/mm<sup>3</sup> and platelets of 23,000/mm<sup>3</sup>. Presenting a decrease in the values of red blood cells 2.59, hemoglobin 7.5 g/dL, leukocytes 150/mm<sup>3</sup>, neutrophils 38/mm<sup>3</sup>, and platelets 12,000/mm<sup>3</sup>. Biochemical

laboratory tests showed serum levels of 143 mEq/L sodium (Na<sup>+</sup>), 3.7 mEq/L potassium (K<sup>+</sup>), 100 mEq/L chloride (Cl<sup>-</sup>), 2.1

mEq/L magnesium (Mg<sup>++</sup>) and 31.6 mg/dL of C-reactive protein. Other tests were ordered, such as ferritin, 1650ng/mL, iron

63µg/dL, transferrin 103mg/dL, fibrinogen 412mg/dL. Serology for HBV, HCV, CMV, EBV, HIV, Herpes I and II, VDRL, were all negative. Computed tomography of the chest showed a small bilateral pleural effusion to a greater degree on the right,

compressive atelectasis of the pulmonary segments adjacent to the effusion. There was no evidence of ground-glass opacity or

consolidations between the parenchyma that would allow the detection of a disease of pulmonary infectious nature detectable

by the method. In transitional sections with the upper abdomen, homogeneous hepatomegaly was observed, with no detectable

lesions between the parenchyma.

At each episode of febrile neutropenia, blood was collected for blood culture. After blood collection for culture tests

and antimicrobial susceptibility, empirical therapy of meropenem and vancomycin was administered for 10 days, in addition

anidulafungin was administered for the same period. The febrile neutropenic patient with major impairment of general condition underwent transfusion of blood components. The result of blood culture revealed polymicrobial infection with the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* on the first day of collection 02/05/20. Only the antimicrobial meropenem was maintained with the result of the culture. On 02/14/20, the patient presented the second peak of NF at 38.4°C,

whose blood culture result revealed the presence of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the bloodstream. At the third peak of NF (38.4°C) on 02/17/20, *Acinetobacter baumannii* was observed. Species identification was carried out by automated testing and biochemical tests. The resistance genes were detected by the molecular technique (Table 1). And the antimicrobial profile was performed using the minimum inhibitory concentration (MIC) (Table 1).

After the diagnosis, the therapy was adjusted according to the antimicrobial profile, with this, the use of meropenem was maintained, however the patient evolved to death due to the severity of her health status due to septic shock, febrile neutropenia, pneumonia and acute myeloid leukemia.

### Antimicrobial susceptibility profile

The antimicrobial susceptibility test was tested using a disc fusion method and microdilution using the lowest inhibitory concentration. Most isolates were resistant to ampicillin, azithromycin, ceftazidime, ciprofloxacin, ceftriaxone and tetracycline. All showed resistance to sulfamethoxazole / trimethoprim by the disk diffusion method (table 1). Resistance to ampicillin, cefepime, ceftriaxone, ciprofloxacin and piperacillin / tazobactam was detected by the minimum inhibitory concentration in most isolates (Table 1).

### Detection of the extended-spectrum beta-lactamase resistance genes (ESBL) and metallo-β-lactamase (MβL)

The bacterial isolates were identified and by automated tests and biochemical tests, then they were subcultured in Brain Heart Infusion (BHI) broth for 37°C at 24 hours, to perform DNA extraction and amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR) to detect the resistance genes. DNA extraction was performed using the boiling lysis method. The cell suspension of a culture overnight was boiled at 100 ° C for 10 min and immediately maintained at -20 ° C for at least 6 h. The supernatant was used as a model for PCR amplification and was stored at -20°C.

The presence of ESBL encoding genes was detected by monoplex PCR using primers specific for *blas<sub>HV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX</sub>* was performed using the following protocol for amplification; initial denaturation 95°C at 5 min, followed by 30 cycles of denaturation 95°C at 1 min, annealing 60°C at 1 min and extension 72°C at 1 min. Foi realizada uma etapa de extensão final a 72°C a 10 min, para cada um dos genes estudado. The presence of genes encoding M β L was detected by PCR using specific primers for *blas<sub>SPM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>GIM</sub>* and

*blasIM*, using the following protocol for amplification; initial denaturation 95°C at 5 min, followed by 25 cycles of denaturation 95°C at 1 min, annealing 60°C at 1 min and extension 72°C at 1 min.

The strains were also subjected to PCR to detect class D carbapenemases, such as oxacillinase (*bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>OXA-58</sub>*), using the following protocol for amplification; initial denaturation 94°C at 5 min, followed by 30 cycles of denaturation 94°C at 45 sec, annealing 52°C at 45 sec and extension 72°C at 1 min. A final extension step was performed at 72°C at 6 min. In the first episode of febrile neutropenia, blood culture showed two bacterial isolates in the same sample carrying the *bla<sub>TEM</sub>* genes in both isolates of *P. aeruginosa* and *E. coli*. The *blasIM* and *bla<sub>OXA-48</sub>* genes were also detected in the species, respectively.

In the second episode of NF, two microorganisms were detected the presence of *bla<sub>KPC</sub>* e *bla<sub>NDM</sub>*, *blasIM*, *bla<sub>OXA-48</sub>* and *bla<sub>CTX</sub>* cohabiting *K. pneumoniae* and the presence of the *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX</sub>* in *E. coli*. Genotypic detection of the isolates revealed

the presence of at least two resistance genes for the bacterial isolates.

Resistant *Acinetobacter baumannii* oxacillinase (*bla<sub>OXA-48</sub>*) was isolated in the third episode of NF. None of the isolates contained *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>SPM</sub>*, *bla<sub>GIM</sub>*, *bla<sub>GES</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>* and *bla<sub>VIM</sub>*. The distribution of the genes encoding ESBL and M $\beta$ L is given in

Table 2.

**Table 1 - Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of bacterial isolates from infection in the bloodstream of a patient with acute myeloid lymphoma.**

	NAL	AMI	AMP	ASB	CFL	CPM	CRO	CFO	CAZ	CRX	CIP	GEN	ERTAP	MER	IPM	NOR	PPT
													P				
<b>1220</b>		S ( $\leq 2,00$ )				S (2,00)					S ( $\leq 0,25$ )	S ( $\leq 1,00$ )		S ( $\leq 0,25$ )		S ( $\leq 0,50$ )	S (8,00)
<b>1398</b>	R ( $\geq 32,00$ )	S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )	R (8,00)	R ( $\geq 64,00$ )			R ( $\geq 64,00$ )	R ( $\geq 4,00$ )	R ( $\geq 16,00$ )	S ( $\leq 0,50$ )	S ( $\leq 0,25$ )		R ( $\geq 16,00$ )	S ( $\leq 4,00$ )
<b>49</b>	R ( $\geq 32,00$ )	S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )	R (8,00)	R ( $\geq 64,00$ )			R ( $\geq 64,00$ )	R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )	S ( $\leq 0,50$ )	S ( $\leq 0,25$ )		R ( $\geq 16,00$ )	I (64)
<b>263</b>		S ( $\leq 2,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )	R ( $\geq 32,00$ )		R ( $\geq 64,00$ )		R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )	R ( $\geq 8,00$ )	R ( $\geq 16,00$ )	R (8,00)		R ( $\geq 128,00$ )			
<b>419</b>		I (32,00)				R (32,00)					R ( $\geq 4,00$ )	S ( $\leq 1,00$ )		R ( $\geq 16,00$ )			R ( $\geq 128,00$ )

Source: author.

Subtitle: (S) sensitive, standard dosage, (I) sensitive increasing exposure, (R) resistant. Numerical values express the minimum inhibitory concentration (MIC) NAL- Nalidixic Acid, AMI - Amikacin, AMP - Ampicillin, ASB - Ampicillin + Sulbactam, CFL - Cephalothin, CPM - Cefepime, CRO - Ceftriaxone, CFO - Cefoxitin, CAZ - Ceftazidime, CRX - Cefuroxime, Cynuroxine, Cynuroxine, Cynuroxine, Cynuroxine, Cynuroxine, Cynuroxine, Cynuroxine and Coxin. , ERT - Ertapenem, MER - Meropenem, IPM - Imipenem, NOR - Norfloxacin, PPT - Piperacillin + Tazobactam.

**Table 2 - Bacterial identification and distribution of resistance genes isolated from a patient with acute myeloid lymphoma.**

Date	Código	Isolated species	Genes	Disc diffusion antimicrobial resistance
02/05/20	1220	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>SIM</sub>	SUT
02/05/20	1398	<i>Escherichia coli</i>	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	ATM, CFL, CRO, AMC, SUT, TET
02/14/20	49	<i>Escherichia coli</i>	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX</sub>	AMP, CPM, CFL, CAZ, CIP, AMC, PPT, SUT
02/14/20	263	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>bla</i> <sub>CTX</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub> , <i>bla</i> <sub>SIM</sub> and <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	AMP, ATM, CPM, CAZ, CIP, SUT, TET
02/17/20	419	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	AMI, CAZ, CRO, CIP, IPM, MER, SUT

Source: author

#### 4. Discussion

Although polymicrobial infection is less frequent in patients with hematological malignancies (Rosa; Goldani, 2014), the risk of mortality is high in these patients. Chemotherapy treatment can induce neutropenia and fever, thereby temporarily decreasing the levels of leukocytes, neutrophils and platelets in the blood, increasing the risk of infection (Lubwama et al., 2019).

Infections in the bloodstream of patients with haematological neoplasia have often been caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) (Pagano et al., 2014), *Pseudomonas aeruginosa* (Tofas et al., 2017) and *Acinetobacter baumannii* (Shargian-Alon et al., 2019), as described in our study. Resistance to  $\beta$ -lactams and carbapenemases has been reported in these patients (Mimura et al., 2020).

Adequate and early empirical therapy is a crucial factor in increasing the survival of these patients. In a study in Hunan, China (Tang et al., 2020), the rate of inadequate initial antimicrobial therapy was classified as a risk factor for early mortality in patients with hematological malignancies associated with febrile neutropenia caused by BGN-BSI.

The prophylaxis with sulfamethoxazole / trimethoprim did not reduce the incidence of infection by gram-negative bacteria. In contrast, the study by Castañón et al., (2019) fluoroquinolone significantly reduced the incidence of carbapenemase and GNB-producing species of *Klebsiella pneumoniae*, resulting in a reduction in mortality in patients with acute myeloid leukemia.

Resistance to cefepime was widely detected in the patient's blood culture isolates, a similar result was observed by Chong et al. (2010). Although the utility of cefepime and piperacillin-tazobactam as an empirical therapy for Enterobacteriaceae bacteremia in patients with hematological malignancy is widely known in our region, most isolates showed resistance to these, making therapeutic options difficult. Empirical therapy with cefepime or piperacillin-tazobactam adjusted for carbapenems at the beginning of treatment was not linked to increased mortality, as documented in another study (Benanti et al., 2019). Meropenem was used for the empirical treatment of infections. The effectiveness of meropenem was assessed in a study in Japan (Wakisaka et al., 2015) with febrile neutropenics (81.8%), patients with hematological malignancy (79.2%) and with solid tumor (91.8%). The increase in the use of 4th generation cephalosporins has led to increased resistance, which is

often expressed with resistance to other classes of antibiotics needed in the treatment of febrile patients with hematological malignancies such as extended-spectrum cephalosporins and carbapenems.

## 5. Conclusion

In conclusion, we present a case of persistent polymicrobial bloodstream infection in a patient with acute myeloid leukemia caused by gram-negative bacteria resistant to  $\beta$ -lactams and carbapenemases. Empirical treatment with cefepime or meropenem has been routinely used in these cases. In the last cultures collected for diagnosis, resistance to meropenem has been observed. The extensive use of antibiotics active against carbapenemases-resistant Enterobacteriaceae should be avoided, and combinations of empirical antibiotics active against carbapenemases may be suggested as treatment in patients with hematological malignancies in febrile neutropenia. New antibiotics must be produced, as well as the combination of pharmaceuticals can be used to minimize antimicrobial resistance.

## Acknowledgments

We thank the hematology team, especially Maria Cândida Nascimento da Costa for their contribution and the Jesuit technique for providing the isolates of the Pernambuco Cancer Hospital.

## Ethics approval and consent to participate

Written informed consent for the publication of their clinical details was obtained from the patient's parents. A copy of the consent form is available for review by the Editor of this magazine. Written informed consent was given and maintained by the authors. This work was approved by the Research Ethics Committee of the Pernambuco Cancer Hospital (HCP) in which the work was carried out (CAAE: 16285219.5.0000.5205).

## Consent for publication

Consent for publication was obtained by the patient, signing the Free and Informed Consent Term (ICF) approved by the CEP of the Pernambuco Cancer Hospital, following resolution 466/12 of the National Health Council.

## Funding

This work was supported by a Public Notice for Research Projects - [APQ-0563-4.01 / 17] which was funded by the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco / FACEPE of the SUS Research Program - PPSUS / PE 10/2017 for the theme Health Innovations. The role of the funding agency in the study design was in the collection, analysis and interpretation of the manuscript data.

## References

- Agrawal, S. K., Gautam, H., Choudhary, A. H., Das, B. K., Kumar, L., & Kapil, A. (2019). Central line-associated bloodstream infections in cancer patients: An experience from a tertiary care cancer centre. *Indian J Med Microbiol*, 37(3):376-380.
- Benanti, G. E., Brown, A. R. T., Shigle, T. L., Tarrand, J. J., Bhatti, M. M., McDanel, P. M., et al. (2019). Carbapenem versus Cefepime or Piperacillin-Tazobactam for Empiric Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Patients with Hematologic Malignancy. *Antimicrob Agents Chemother*, 63(2):e01813-18.
- Castañón, C., Fernández Moreno, A., Fernández Verdugo, A. M., Fernández, J., Martínez Ortega, C., Alaguero, M., et al. (2019). The Value of Adding Surveillance Cultures to Fluoroquinolone Prophylaxis in the Management of Multiresistant Gram Negative Bacterial Infections in Acute Myeloid Leukemia. *J*

*Clin Med*, 8(11):1985.

Cattaneo, C., Di Blasi, R., Skert, C., Candoni, A., Martino, B., Di Renzo, N., et al; SEIFEM Group. (2018). Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Ann Hematol*, 97(9):1717-1726. Chong, Y., Yakushiji, H., Ito, Y., & Kamimura, T. (2010). Cefepime-resistant Gram-negative bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies. *Int J Infect Dis*, 14(3):e171-5.

Dumont, Y., Bonzon, L., Michon, A. L., Carriere, C., Didelot, M. N., Laurens, C., et al. (2020). Epidemiology and microbiological features of anaerobic bacteremia in two French University hospitals. *Anaerobe*, 64:102207.

Islas-Muñoz, B., Volkow-Fernández, P., Ibanes-Gutiérrez, C., Villamar-Ramírez, A., Vilar-Compte, D., VCornejo-Juárez, P. (2018). Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *Int J Infect Dis*, 1:59-64.

Khan, A., Shropshire, W. C., Hanson, B., Dinh, A. Q., Wanger, A., et al. (2020). Simultaneous Infection with *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* Harboring Multiple Carbapenemases in a Returning Traveler Colonized with *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother*, 27;64(2):e01466-19.

Lubwama, M., Phipps, W., Najjuka, C. F., Kajumbula, H., Ddungu, H., Kambugu, J. B., et al. Bacteremia in febrile cancer patients in Uganda. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):464. 10.1186/s13104-019-4520-9

Mert, D., Ceken, S., Iskender, G., Iskender, D., Merdin, A., Duygu, F., et al. (2019). Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *J Infect Dev Ctries*, 13(8):727-735.

Mimura, W., Fukuda, H., & Akazawa, M. (2020). Antimicrobial utilization and antimicrobial resistance in patients with haematological malignancies in Japan: a multi-centre cross-sectional study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 19(1):7.

Nham, E., Huh, K., Cho, S. Y., Chung, D. R., Peck, K. R., Lee, N. Y., & Kang, C. I. (2020). Characteristics and Clinical Outcomes of Extended-Spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia in Cancer Patients. *Infect Chemother*, 52(1):59-69.

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

Rosa, R. G., & Goldani, L. Z. (2014). Factors associated with hospital length of stay among cancer patients with febrile neutropenia. *PLoS One*, 6;9(10):e108969.

Satlin, M. J., Calfee, D. P., Chen, L., Fauntleroy, K. A., Wilson, S. J., Jenkins, S. G., et al. (2013). Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma*, 54(4):799-806.

Shargian-Alon, L., Gafter-Gvili, A., Ben-Zvi, H., Wolach, O., Yeshurun, M., Raanani, P., & Yahav, D. (2019). Risk factors for mortality due to *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with hematological malignancies - a retrospective study. *Leuk Lymphoma*, 60(11):2787-2792.

Tang, Y., Wu, X., Cheng, Q., & Li, X. (2020). Inappropriate initial antimicrobial therapy for hematological malignancies patients with Gram-negative bloodstream infections. *Infection*, 48(1):109-116.

Tofas, P., Samarkos, M., Piperaki, E. T., Kosmidis, C., Triantafyllopoulou, I. D., Kotsopoulou, M., et al. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 88(4):335-341.

Wakisaka, K., Tani, S., Ishibashi, K., Nukui, K., & Nagao, M. (2015). Results of a post-marketing surveillance of meropenem for febrile neutropenia. *Jpn J Antibiot*, 68(4):205-24.

## ANEXO E - DOCUMENTAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS

Artigo submetido à BMC Microbiology



# Your submissions

## Track your submissions

### Epidemiology, morbidity and mortality, clinical outcomes and risk factors associated with infection of the bloodstream of cancer patients by multidrug-resistant bacteria

Corresponding Author: Cynthia Regina Pedrosa Soares

*BMC Microbiology*

ef3bd315-8658-4b0e-9f86-44ec7808f04d | v.1.0

Artigo submetido à Infection and Drug Resistance



**News:** The Journal of Asthma and Allergy now accepts meta-analyses for publication [Read more](#)

[Home](#) [Journals](#) [Why publish with us?](#) [Editorial Policies](#) [Author Information](#) [Peer Review Guidelines](#) [Open Outlook](#) [COVID-19](#) [Podcasts](#)

[Go to Dashboard](#)

Back to [Manuscript status](#) + ID: 374050

### My Dovepress

Logged in as Dr Soares

#### Manuscript Status (1)

#### Author Resources

[Manuscript Preparation](#)  
[Figures and tables](#)  
[Supplementary data](#)  
[Clinical trials registration](#)  
[Research ethics and consent](#)  
[Authorship](#)  
[Terms of Publication](#)

### Social Media



[Need help?](#)

### Submission Details

**Sub ID:** 374050  
**Editorial Team Contact:** [Natasha Hodgkinson](#)  
**Manuscript Title:** Epidemiological profile and detection of resistance genes in bloodstream infection in patients with cancer: high occurrence of carbapensemases in enterobacteriales  
**Journal:** Infection and Drug Resistance  
|- [Aims and Scope](#)  
**Contact Person:** Dr Soares  
**Submitted On:** 9 May 2022  
**Status:** 1A - UNEVALUATED NEW SUBMISSION  
**Article type:** Original Research  
**Number of Authors:** 7

### Submission history

**1** [Submission](#)

9 May 2022 Submission created

10 May 2022 Submission submitted + Editorial checks  
- date 1a