



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Laís Guedes de Santana**

**Epidemiologia molecular de infecções por *Klebsiella pneumoniae* em  
Pernambuco, Brasil**

**RECIFE**

**2024**

**Laís Guedes de Santana**

**Epidemiologia molecular de infecções por *Klebsiella pneumoniae* em  
Pernambuco, Brasil**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Anna Carolina Soares Almeida

**Supervisora:** Dra. Paula Mariana Salgueiro de Souza

**RECIFE**

**2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S232e Santana, Laís Guedes de Santana  
Epidemiologia molecular de infecções por *Klebsiella pneumoniae* em Pernambuco, Brasil / Laís Guedes de Santana Santana. - 2024.  
14 f. : il.
- Orientadora: Anna Carolina Soares Almeida.  
Coorientadora: Paula Mariana Salgueiro de Souza.  
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2024.
1. *K. pneumoniae*. 2. Epidemiologia. 3. Resistência. 4. Infecção. I. Almeida, Anna Carolina Soares, orient. II. Souza, Paula Mariana Salgueiro de, coorient. III. Título

**Laís Guedes de Santana**

**Epidemiologia molecular de infecções por *Klebsiella pneumoniae* em  
Pernambuco, Brasil**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, avaliada no dia 04/03/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Anna Carolina Soares Almeida (Orientadora)

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

---

Profa. Dra. Yone Vila Nova Cavalcanti (2ª titular)

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

---

Dra. Marinalda Anselmo Vilela (3º titular)

Universidade de Pernambuco-UPE

---

Fernanda Gomes Beserra (Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

**RECIFE**

**2024**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, Fernanda e Luiz, agradeço por todo o apoio, cuidado, carinho e incentivo de sempre. Amo muito vocês. Obrigada por tudo.

Agradeço ao Laboratório de Microbiologia Molecular (LMM-UFRPE) e a todos que fizeram e fazem parte do meu grupo de pesquisa, onde pude compartilhar conhecimentos e construir laços de amizade. Obrigada Jonas, Lara, Michelly, Caroline, Israel, Weruska e Fernanda. Todos vocês tornaram a rotina dentro e fora do laboratório melhor para mim.

À minha orientadora Carol, pela oportunidade e confiança depositada em mim. Agradeço por todo conhecimento que você compartilhou comigo, não só relacionado à pesquisa, mas também por toda a paciência e acolhimento que teve comigo quando precisei. És uma fonte de inspiração. Agradeço também à minha coorientadora e amiga Paula, por estar sempre disponível para me ajudar a qualquer hora do dia. Obrigada por todos os ensinamentos, conversas, conselhos e boas risadas. Tem um cantinho pra Paula que fala em caps lock morando no meu juízo mas também no coração.

Agradeço à minha namorada Maria, pela paciência, atenção, amor e carinho diário, por ser um ponto de refúgio e paz quando tudo parece não dar certo e por vibrar junto comigo quando tudo vai bem. Te amo meu bem, obrigada por tanto.

Sou grata aos meus amigos Osnir, Victoria, Eduarda, Lays, Gabriel e Pedro por estarem ao meu lado, nas vitórias e derrotas da vida. Amo vocês demais. Sou grata também aos bons amigos que fiz ao longo do curso: Paulo, Rhay, Thays, Tayná, Luci, Louise, Camila, Kilma, Marina, Erick, Sabrina, Sergio, Pablo e Natanael. Vocês tornaram a minha rotina muito mais leve e feliz. Amo vocês. Aos amigos Bia, Duda e Vinicius que mesmo distantes o amor e parceria permanecem. Muito obrigada.

Agradeço ao Instituto de Ciências Biológicas-UPE pela oportunidade de ser estagiária durante dois anos no laboratório de bacteriologia vinculado ao Hospital Universitário Oswaldo Cruz, onde pude trabalhar ao lado de excelentes profissionais. Gratidão a todos que fazem parte da Bac, em especial as professoras Marinalda e Sandra que tanto me ensinaram ao longo de dois anos de estágio. Vocês não apenas ensinam, mas também despertam no aluno a vontade de aprender.

Minha infinita gratidão à Universidade Federal Rural de Pernambuco, instituição que eu tenho orgulho de fazer parte e que foi minha segunda casa por todos esses anos. Agradeço também a todos os professores que contribuíram com a minha formação e tornaram tudo isso possível.

Ao programa de Monitoria da UFRPE pela bolsa concedida a mim. A todos os professores e técnicos que fazem parte do Laboratório de aulas práticas da área de Microbiologia onde tive o privilégio de ser monitora durante as aulas. Um agradecimento especial a professora Luciana e a Rosa por todos os ensinamentos de Microbiologia e da vida.

Por fim, a mim mesma por não ter desistido e por ter alcançado este objetivo.

## RESUMO

### FUNDAMENTOS

A emergência de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a múltiplas drogas aumenta a taxa de mortalidade, tornando sua disseminação preocupante em contextos clínicos.

### OBJETIVOS

Analisar a disseminação de *K. pneumoniae* e os desfechos clínicos de infecções causadas por esse patógeno.

### MÉTODOS

Foram incluídos 25 isolados de *K. pneumoniae* provenientes de infecções de pacientes únicos de um hospital localizado em Recife-PE. Vitek2® foi utilizado para identificação e perfil de susceptibilidade das cepas. Os dados epidemiológicos dos pacientes foram coletados dos prontuários médicos.

Os principais genes relacionados à resistência aos  $\beta$ -lactâmicos foram investigados por PCR convencional. A análise da relação filogenética entre os isolados foi feita utilizando REP-PCR.

### RESULTADOS

Mais da metade dos isolados apresentaram resistência in vitro a pelo menos um antibiótico pertencente à classe dos  $\beta$ -lactâmicos. Quarenta e quatro por cento dos pacientes foram expostos a antimicrobianos antes dos testes de susceptibilidade serem disponibilizados. A investigação dos determinantes de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos revelou a presença de pelo menos uma  $\beta$ -lactamase em todos os isolados analisados. A análise filogenética, baseada nas sequências REP, não indica uma disseminação clonal específica.

### PRINCIPAIS CONCLUSÕES

Os resultados indicam um desafio significativo com a resistência antimicrobiana em *K. pneumoniae*. A exposição a diversos antimicrobianos contribui para o desenvolvimento de

cepas resistentes. Nesse contexto, a necessidade de identificação correta e rápida dos mecanismos de resistência antimicrobiana nas unidades de saúde são essenciais para conter a disseminação.

**Palavras-chave:** *K. pneumoniae*; Epidemiologia; Resistência; Infecção

## ABSTRACT

### BACKGROUND

The emergence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* increases mortality rates, making its dissemination concerning in clinical settings.

### OBJECTIVES

To analyze the dissemination of *K. pneumoniae* and the clinical outcomes of infections caused by this pathogen.

### METHODS

Twenty-five isolates of *K. pneumoniae* originating from infections in individual patients from a hospital located in Recife-PE were included. Vitek2® was used for identification and susceptibility profile of the strains. Epidemiological data of the patients were collected from medical records. The main genes related to  $\beta$ -lactam resistance were investigated by conventional PCR. Phylogenetic relationship analysis among isolates was performed using REP-PCR.

### RESULTS

More than half of the isolates exhibited in vitro resistance to at least one antibiotic belonging to the  $\beta$ -lactam class. Forty-four percent of patients were exposed to antimicrobials before susceptibility testing was available. Investigation of  $\beta$ -lactam resistance determinants revealed the presence of at least one  $\beta$ -lactamase in all analyzed isolates. Phylogenetic analysis based on REP sequences does not indicate specific clonal dissemination.

## MAIN CONCLUSIONS

The results indicate a significant challenge with antimicrobial resistance in *K. pneumoniae*. Exposure to various antimicrobials contributes to the development of resistant strains. In this context, the need for correct and rapid identification of antimicrobial resistance mechanisms in healthcare units is essential to contain dissemination.

**Keywords:** *K. pneumoniae*; Epidemiology; Resistance; Infection

## 1.Introdução

*Klebsiella pneumoniae* é o patógeno responsável por uma proporção significativa das infecções adquiridas em unidades de assistência à saúde, tais como pneumonias, infecções do trato urinário (ITUs), infecções de corrente sanguínea e infecções de tecidos moles [1,2]. No ano de 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou uma lista global contendo patógenos designados como “status de prioridade” devido a alta ocorrência de determinantes gênicos de resistência. Nesta lista, *K. pneumoniae* foi classificada como criticamente prioritária para pesquisas e descobertas que diminuam a taxa de mortalidade por esse patógeno [3].

As infecções causadas por *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (CRKP) ainda são um imenso desafio de saúde em todo o mundo [4,5]. Como consequência da ascensão de CRKP no Brasil e em diversos países houve um aumento na utilização dos antibióticos polimixina B e colistina, que anteriormente tinham baixo uso clínico e apresentavam taxas reduzidas de resistência. Como resultado dessa utilização a fim de combater infecções causadas por CRKP o aumento da resistência a polimixina B em *K. pneumoniae* tem sido amplamente observado nos últimos anos [6,7,8].

A coexistência de diversos mecanismos de resistência em um mesmo isolado podem resultar na emergência de cepas com fenótipos resistentes a múltiplas drogas (MDR), extensivamente resistentes (XDR) e Pandroga-resistentes (PDR). No ambiente hospitalar, essa situação representa um desafio ainda maior por impor limitações nas opções terapêuticas disponíveis, ao mesmo tempo em que eleva as taxas de mortalidade entre os pacientes, particularmente naqueles nas unidades de terapia intensiva (UTI), o que vem tornando a disseminação de *K. pneumoniae* cada vez mais preocupante [9,10,11].

Diversas estratégias têm sido propostas para lidar com o desafio crescente da resistência antimicrobiana. Estas incluem a redução do uso indiscriminado de antibióticos, a exploração de terapias alternativas, e de acordo com o Plano de Ação Global da OMS, uma das medidas importantes para combater o aumento da resistência antimicrobiana é através da geração de dados epidemiológicos visando entender as particularidades de cada região. Nesse contexto, esse estudo foi desenvolvido a fim de analisar a disseminação, características moleculares e os desfechos clínicos de infecções causadas por *K. pneumoniae* em pacientes internados em um hospital público localizado na cidade do Recife no estado de Pernambuco.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Linhagens bacterianas**

Neste estudo foram incluídos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de infecções de pacientes únicos de um hospital de grande porte localizado na região metropolitana de Recife no estado de Pernambuco, coletado em um período de 12 meses entre 2019 e 2020. Durante esse período, com o objetivo de maximizar a representatividade temporal das linhagens circulantes, foram isoladas as 10 primeiras cepas bacterianas consecutivas em cada mês, divididas em sítios de coletas, sendo as quatro primeiras amostras da corrente sanguínea, três primeiras amostras do trato urinário e três primeiras amostras do trato respiratório. Todos os isolados de *K. pneumoniae* coletadas nesse período foram incorporadas ao estudo, totalizando 25 isolados. As cepas foram transferidas para meio de conservação contendo glicerol a 15% e caldo Mueller Hinton (HIMEDIA®; Mumbai, Índia), com diferentes antimicrobianos para manter a pressão seletiva. As amostras foram armazenadas em estoque congelado a -80°C até o dia de uso. O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco.

## 2.2. Coleta de dados clínicos

Os dados clínicos dos pacientes foram obtidos dos prontuários médicos utilizando um formulário de caso padronizado. O conjunto de informações coletadas incluíram: sexo, idade, doenças de base, pavilhão de internamento, antibioticoterapia (antes e após o resultado da cultura ser disponibilizado), ocorrência de choque séptico e desfecho clínico.

## 2.3. Identificação das cepas e susceptibilidade antimicrobiana

Os isolados foram previamente identificados e tiveram seus perfis de susceptibilidade caracterizados pelo método automatizado Vitek2®-BioMerieux, Marcy l'Etoile, France. Os testes de susceptibilidade foram realizados para 12 antimicrobianos (Tabela 1). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi interpretada utilizando diretrizes do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) 2023.

## 2.4. Obtenção de DNA genômico e detecção de determinantes de resistência

O DNA utilizado nas análises moleculares foi obtido a partir da utilização do reagente Brazol®, segundo recomendações do fabricante. As amostras foram submetidas à análise quanto à presença de genes de  $\beta$ -lactamases ( $bla^{TEM}$ ,  $bla^{SHV}$ ,  $bla^{CTX-M}$ ,  $bla^{KPC}$ ,  $bla^{OXA-48}$ ,  $bla^{NDM-1}$  e  $bla^{GES}$ ) utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR).

## 2.5 Tipagem molecular

Para a análise da relação filogenética entre os isolados de *K. pneumoniae* foi utilizada a técnica REP-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic Polymerase Chain Reaction) que utiliza primers baseados em sequências repetitivas extra genômicas presentes no DNA bacteriano para amplificar regiões específicas e gerar perfis de bandas que podem ser comparados para estimar graus relativos de similaridade entre isolados e ajudar a determinar se os isolados estão

relacionados clonalmente [12,13]. Os padrões de REP foram analisados utilizando o software PyElph, que determina os perfis de REP a partir de um agrupamento através do método UPGMA para gerar a árvore filogenética [14].

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1. Dados clínicos e epidemiológicos**

Os 25 isolados de *K. pneumoniae* foram obtidos de pacientes que estavam em internamento hospitalar entre fevereiro de 2019 a fevereiro de 2020. Os dados clínicos, a distribuição temporal dos pacientes e a antibioticoterapia empregada estão apresentados na figura 1. A média de idade dos pacientes foi de 44 anos, sendo 44% deles do sexo feminino e 56% do sexo masculino. Considerando o internamento, 8 pacientes estavam em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (32%), destes, cinco pacientes estavam na UTI de doenças infecciosas, dois na UTI geral e um na UTI pediátrica. Por outro lado, 17 estavam internados em enfermarias (68%). Em relação a antibioticoterapia, 60% dos pacientes (15/25) foram expostos a diversos antimicrobianos antes mesmo do resultado das solicitações das culturas bacterianas. Os principais antimicrobianos utilizados foram os  $\beta$ -lactâmicos combinados com algum inibidor de  $\beta$ -lactamases, seguidos por macrolídeos, cefalosporinas, carbapenêmicos e aminoglicosídeos. Com base nos resultados dos testes de susceptibilidade, 44% dos pacientes (11/25) estavam em tratamento com antimicrobianos antes da solicitação da cultura bacteriana, 90,9% (10/11) deles tiveram a antibioticoterapia alterada após o resultado de susceptibilidade ter sido disponibilizado pelo laboratório. A respeito do desenvolvimento clínico dos pacientes, 20% deles (5/25) apresentaram septicemia, 28% (7/25) foram a óbito e 68% tiveram alta melhorada (17/25).

### 3.2. Perfil de susceptibilidade dos isolados

Os perfis de susceptibilidade dos isolados de *K. pneumoniae* estão listados na tabela 1. Mais da metade dos isolados de *K. pneumoniae* avaliados apresentaram resistência *in vitro* a pelo menos um antibiótico pertencente à classe dos  $\beta$ -lactâmicos. Em relação à resistência aos carbapenêmicos, observou-se que 28% (7/25) dos isolados apresentaram resistência com elevados valores de CIMs para os três carbapenêmicos testados. No entanto, foram identificados determinantes genéticos que configuram resistência aos carbapenêmicos em isolados que apresentaram sensibilidade aos carbapenêmicos sendo esses isolados: S1034, U1101 e S1111. Vale salientar que a presença de genes de resistência não garante necessariamente a resistência completa aos antimicrobianos, e outros fatores, como a regulação da expressão, mutação nesses genes e condições ambientais, podem influenciar significativamente a resistência bacteriana [15].

Na figura 1, podemos observar a antibioticoterapia aplicada aos pacientes antes e depois da disponibilização dos resultados dos testes de susceptibilidade, antes dos resultados dos testes de susceptibilidade serem disponibilizados, podemos ver que 44% dos pacientes (11/25) foram expostos a diversos antimicrobianos antes mesmo da disponibilização dos resultados dos testes de susceptibilidade serem realizados pelo laboratório. Os  $\beta$ -lactâmicos combinados ou não com algum inibidor das  $\beta$ -lactamases foram os antimicrobianos mais utilizados na terapia dos pacientes, o que acaba elevando a pressão seletiva sob cepas que são resistentes aos mesmos. Após a disponibilização dos resultados dos testes de susceptibilidade, 90,9% (10/11) dos pacientes receberam mudança na prescrição para dar continuidade a terapia clínica com antimicrobianos adequados para cada cepa específica. Estudos realizados anteriormente, relatam que uma exposição a antimicrobianos de forma inadequada contribui para o desenvolvimento, seleção e disseminação de cepas

multirresistentes, a exemplo da cepa U1093 do estudo a qual apresenta um fenótipo pan-resistente [16,17,18]. É preciso ressaltar que não podemos afirmar se a antibioticoterapia aplicada aos pacientes estava relacionada ao tratamento de outra cepa não incluída neste estudo, porém em relação às cepas coletadas pode-se observar uma exposição a antimicrobianos de forma inapropriada. Comprovando a relação existente entre antibioticoterapia e desenvolvimento da resistência bacteriana no ambiente hospitalar, diversos estudos observacionais de intervenções para reduzir o uso de certos tipos de antibióticos em hospitais relataram um declínio subsequente na taxa de resistência bacteriana aos mesmos [19, 20,21].

### **3.3.Determinantes de resistência, análise filogenética e relação clonal**

A investigação dos determinantes de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos revelou uma predominância de genes que conferem resistência às cefalosporinas, como as  $\beta$ -lactamases ( $bla^{TEM}$ ,  $bla^{SHV}$  e  $bla^{CTX}$ ). Podemos observar, na tabela 1, a detecção de pelo menos uma ESBL em todos os isolados. Em paralelo a isso, nota-se a resistência a algum  $\beta$ -lactâmico também em mais da metade dos isolados. A presença dos genes  $bla^{KPC}$  e  $bla^{NDM}$  em alguns isolados reforça, de forma preocupante, a disseminação desses determinantes genéticos associados à resistência aos carbapenêmicos. Esses genes são frequentemente encontrados em plasmídeos e outros elementos genéticos móveis, o que facilita sua transferência entre diferentes cepas bacterianas. Por isso, é importante destacar a importância da urgência de estratégias eficazes no controle da disseminação desses genes e na preservação da eficácia dos antibióticos ainda disponíveis para o tratamento de infecções bacterianas, uma vez que os carbapenêmicos são antimicrobianos considerados como uma das últimas opções terapêuticas na prática clínica.

Podemos observar que alguns isolados que apresentaram resistência aos carbapenêmicos (U1042, R1072 e U1112) não foram identificados determinantes genéticos relacionados à produção de enzimas de resistência aos carbapenêmicos. Entretanto, esse fenótipo pode ocorrer devido a diversos mecanismos de resistência, como a presença de bombas de efluxo, perda ou redução na expressão de porinas - proteínas presentes na membrana externa bacteriana que facilitam a entrada de substâncias - e mutações nos sítios alvos dos carbapenêmicos [22].

A análise da similaridade a partir das sequências REP tem sido amplamente utilizada para caracterizar isolados de *K. pneumoniae* multirresistentes [23,24,25]. A árvore filogenética gerada utilizando as sequências geradas através da REP-PCR está disposta na árvore filogenética (Figura 2), a qual revelou uma estrutura com dois clusters principais. O primeiro *cluster* agrupou a maioria dos isolados (84%), O segundo *cluster*, que agrupou 4 isolados (16%). A análise filogenética, baseada nas sequências REP, não indica uma disseminação clonal específica, mas aponta para a endemicidade de cepas com alto grau de similaridade. Esta observação sugere que, embora não haja uma propagação policlonal de cepas, existe uma persistência de cepas geneticamente relacionadas no ambiente hospitalar onde uma possível mobilidade de elementos genéticos móveis pode estar contribuindo para a disseminação e a persistência da resistência antimicrobiana. Esse resultado é consistente com a presença de clones distintos sob pressão seletiva, o que pode levar ao surgimento de linhagens resistentes, mesmo sem uma disseminação clonal evidente. Vale ressaltar que este estudo não foi um estudo de prevalência, mas sim um estudo seccionado que obedeceu a critérios de inclusão, o que pode ter interferido na detecção consistente da endemicidade de clones.

Ao analisar os padrões de resistência e susceptibilidade de duas cepas (R1072 e R1073) que apresentam um perfil genético idêntico nas sequências REP, indicando serem clones potenciais, podemos observar que a cepa R1072 exibe CIMs elevadas (1 a 32 µg/ml) de resistência para os três carbapenêmicos testados, além de outros β-lactâmicos. Em contraste, a cepa R1073 apresenta um perfil de susceptibilidade distinto, sendo sensível aos carbapenêmicos e outros β-lactâmicos. É importante ressaltar que essas cepas foram isoladas de pacientes em pavilhões distintos, com datas de internação diferentes e submetidos a diferentes antibioticoterapias profiláticas. O paciente portador da cepa R1072 foi tratado com carbapenêmicos, enquanto na cepa R1073, essa opção terapêutica não foi utilizada. Portanto, enfatiza-se que a antibioticoterapia aplicada exerce influência direta, aumentando a pressão seletiva sob cepas resistentes. Esse cenário pode resultar em desafios significativos para o controle de infecções, exigindo estratégias específicas de prevenção e monitoramento.

Isolado	MIC (mg/L)											Genes de resistência aos betalactâmicos
	AMK	GEN	CIP	TZP	SAM	CAZ	CRO	CPM	ERT	IMP	MER	
s1011	≤2 S	≤1 S	≤0,25 S	<=4 S	4 S	<=1 S	≤1 S	<=1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-11;
u1013	≤2 S	≥16 R	≥4 R	≥128 R	≥32 R	16 R	≥64 R	32 R	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-153
s1031	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	≥4 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-1
s1034	≤8 S	≥8 R	≥2 R	32 R	≥16 R	≥16 R	≥4 R	≥16 R	0,5 S	0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-11; blaGES-LIKE
r1042	≤2 S	≥16 R	≥4 R	≥128 R	≥32 R	≥64 R	≥64 R	≥64 R	≥8 R	≥16 R	≥16 R	blaTEM-1; blaSHV-11; blaCTX-M-15-like; blaNDM-1
s1041	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	2 S	≥4 R	≤1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-2
s1042	≥64 R	≥16 R	0,5 S	≥128 R	≥32 R	16 R	≥64 R	≥64 R	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-1; blaCTX-M-2-like;
u1042	≤2 S	≥16 R	≤0,25 S	≥128 R	≥32 R	16 R	≥64 R	2 S	≥8 R	≥16 R	≥16 R	blaTEM-1; blaSHV-11; blaCTX-M-2-like
u1043	≤8 S	≥8 R	≥2 R	>=64 R	≥16 R	≥16 R	≥4 R	≥16 R	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-28; blaCTX-M-2-like;
u1051	≤8 S	≥8 R	1 R	≥64 R	≥16 R	≥16 R	≥4 R	8 R	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaSHV-11; blaTEM-1; blaCTX-M-55-like;
s1052	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	≥16 R	≤1 S	≥4 R	8 R	≤0,5 S	1 S	≤0,5 S	BlaTEM-1
s1054	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	≤1 S	≤1 S	<=1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-11;
r1072	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≥64 R	≥16 R	≤1 S	≤1 S	≤1 S	>1 R	>8 R	>32 R	blaTEM-1; blaCTX-M-2-like
r1073	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	≤1 S	≤1 S	<=1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-11
u1071	≤2 S	≤1 S	≥4 R	≥128 R	≥32 R	≥64 R	≥64 R	≥64 R	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM-1; blaSHV-11; blaCTX-M-2-like
u1081	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	≥16 R	≤1 S	<=1 S	<=1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	BlaTEM1; blaSHV-11
u1082	≤2 S	≥16 R	≥4 R	≥128 R	≥32 R	≥64 R	≥64 R	≥64 R	≥8 R	≥16 R	≥16 R	blaTEM1; blaSHV-11; blaCTXM2 -like; blaKPC2
r1093	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	≤1 S	<=1 S	≤1 S	≤0,5 S	1 S	1 S	BlaTEM1; blaSHV1; blaCTX-M2 -like
u1101	≤2 S	≥16 R	≥4 R	≥128 R	NT	16 R	≥64 R	2 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	BlaSHV-2a; blaTEM1; blaCTX-M2 -like; blaKPC2
s1111	16 R	≥16 R	1 S	NT	2 S	4 S	≥64 R	2 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	BlaSHV1; blaTEM1; blaCTX-M2 -like; blaGES-LIKE
s1113	≤2 S	≥16 R	2 R	NT	NT	8 R	≥64 R	2 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	blaTEM1; blaSHV-11; blaCTXM-15 ;
u1112	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S	>1 R	>8 R	≥32 R	BlaTEM1; blaSHV-1; blaCTXM-55 -like;
r1122	≤8 S	≤2 S	≤0,25 S	≤4 S	8 S	≤1 S	≤1 S	≤1 S	≤0,5 S	≤0,5 S	≤0,5 S	BlaTEM1; blaSHV-27
u1121	8 R	<=1 S	1 S	NT	NT	16 R	≥64 R	32 R	4 R	8 R	≥16 R	BlaTEM1; blaSHV-11; blaCTX-M2 -like; blaKPC2
U1093	≤8 S	≥8 R	≥2 R	≥64 R	≥16 R	16 R	≥4 R	≥16 R	>1 R	>8 R	≥32 R	BlaSHV-11; blaTEM1; blaCTX-M2 -like; blaKPC2

Tabela 1. MIC, Concentração mínima inibitória; UTI, Unidade de Terapia Intensiva; AMK, amicacina; GEN, gentamicina; CIP, ciprofloxacina; TZP, piperacilina-tazobactam ; SAM, ampicilina-sulbactam; CAZ, ceftazidima; CRO, ceftriaxona; CPM, cefepime; ERT, ertapenem; IMP, imipenem; MER, meropenem; NT: Não testado.; S: Sensível; R: Resistente

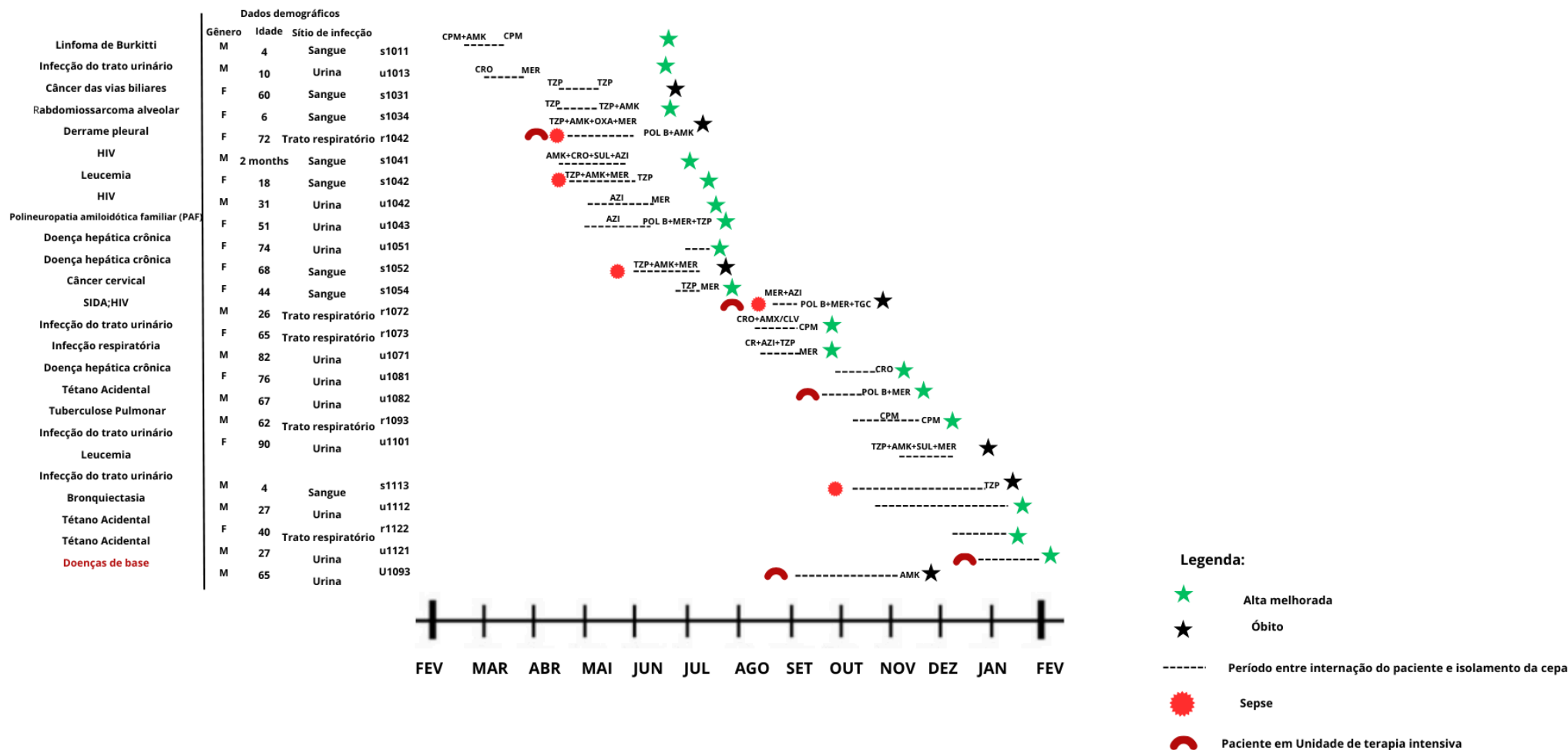


Figura 1. Dados demográficos gerais e tempo de internação hospitalar de pacientes infectados por isolados de *Klebsiella pneumoniae*. As doenças subjacentes e os prognósticos dos pacientes também são fornecidos. Significado das siglas dos antibióticos: AMK: Amicacina; CIP: Ciprofloxacina; TZP, Piperacilina-tazobactam ; CRO: Ceftriaxona; CPM: Cefepime; AMX/CLV: Amoxicilina+clavulanato de potássio; OXA: Oxacilina; MER: Meropenem; POL B: Polimixina B; AZI: Azitromicina; TGC: Tigeciclina SUL: Sulfametoxazol+ trimetoprima; Obs: Não foi possível recuperar os dados clínicos do isolado S1111.

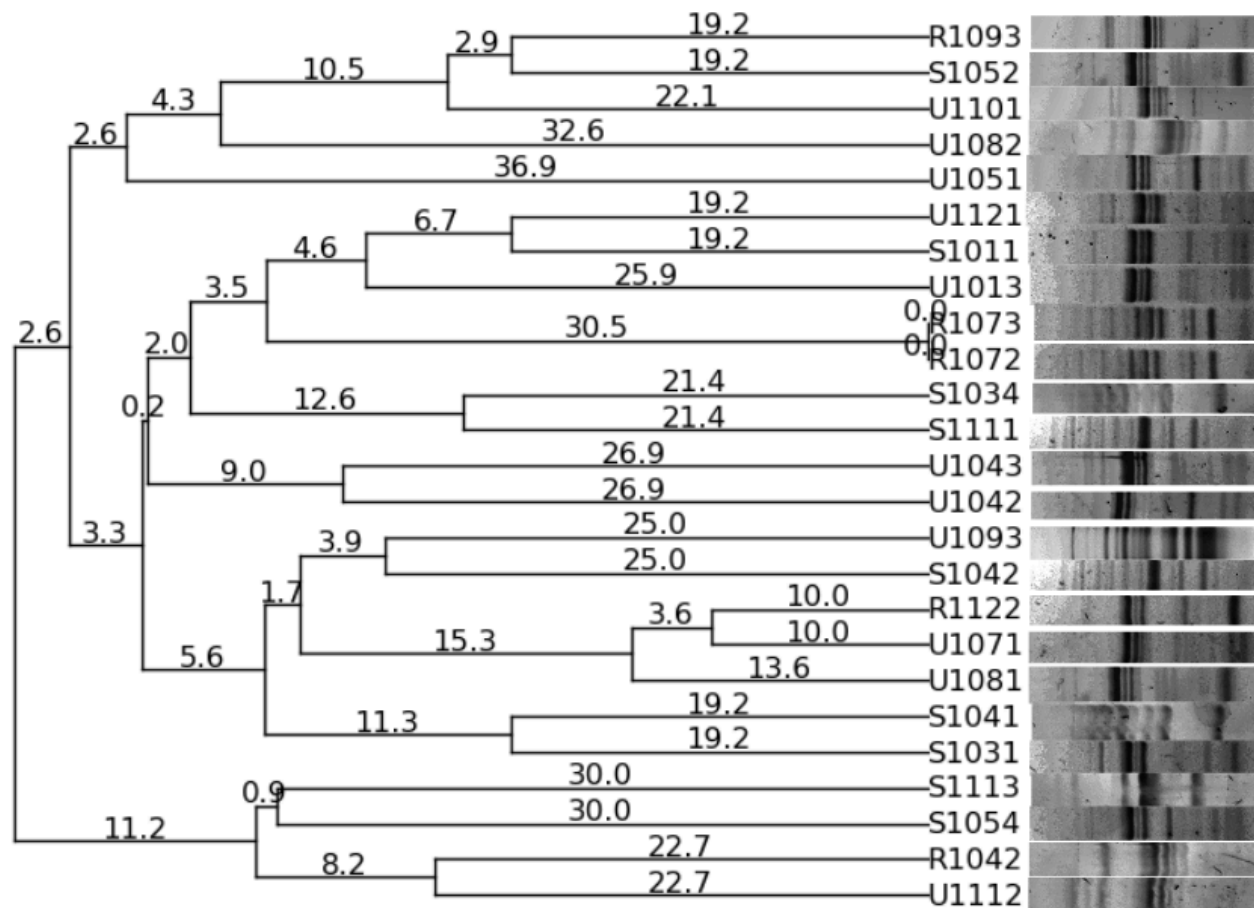


Figura 2. Árvore filogenética gerada pelo Pyelph através do método UPGMA utilizando os padrões obtidos por REP-PCR. Os valores numéricos em cada braço da árvore representa a distância genética entre os grupos ou amostras que estão sendo comparadas na árvore filogenética.

## 5. Conclusão

Em síntese, os resultados deste estudo apontam para uma situação preocupante no contexto da resistência antimicrobiana, no que diz respeito à *K. pneumoniae*. Os dados clínicos revelam uma exposição significativa dos pacientes a diferentes classes de antibióticos, o que provavelmente contribuiu para o desenvolvimento e propagação de cepas resistentes. A predominância de genes de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos, destaca a urgência de estratégias eficazes para controlar a disseminação desses determinantes genéticos. Além disso, a análise filogenética sugere uma persistência de cepas geneticamente relacionadas no ambiente hospitalar, ressaltando a importância da vigilância para a prevenção de IRAS.

A detecção de potenciais clones e a influência direta da antibioticoterapia sobre o perfil de susceptibilidade das cepas destacam a complexidade dos desafios enfrentados pelos profissionais de saúde na escolha e administração de antibióticos. Essa complexidade evidencia a necessidade de prescrições mais criteriosas e da implementação de medidas robustas de controle de infecções para mitigar a disseminação de cepas resistentes.

Por fim, este estudo reforça a importância contínua da pesquisa e vigilância epidemiológica para uma compreensão mais profunda da dinâmica da resistência antimicrobiana e para o desenvolvimento de abordagens mais eficazes para enfrentar esse desafio crescente na saúde global. A colaboração entre profissionais de saúde, pesquisadores e formuladores de políticas é fundamental para desenvolver e implementar intervenções bem-sucedidas que garantam o uso prudente de antibióticos e a prevenção da disseminação de cepas resistentes, protegendo assim a eficácia dos tratamentos antimicrobianos e a saúde pública como um todo.

## 6. Referências

- [1] Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998 Oct;11(4):589-603.
- [2] MAGILL, S. S. et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. New England Journal of Medicine, v. 370, n. 13, p. 1198–1208, 27 mar. 2014.
- [3] WHO. WHO PUBLISHES LIST OF BACTERIA FOR WHICH NEW ANTIBIOTICS ARE URGENTLY NEEDED. Saudi Med J. 2017;38(4):444–5.
- [4] WANG, M. et al. Clinical outcomes and bacterial characteristics of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae complex among patients from different global regions (CRACKLE-2): a prospective, multicentre, cohort study. Lancet Infectious Diseases, v. 22, n. 3, p. 401–412, 1 mar. 2022.
- [5] XIAO, T. et al. A Retrospective Analysis of Risk Factors and Outcomes of Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Bacteremia in Nontransplant Patients. The Journal of Infectious Diseases, v. 221, n. Supplement\_2, p. S174–S183, 16 mar. 2020.
- [6] SAMPAIO, J. L. M.; GALES, A. C. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on  $\beta$ -lactams and polymyxins. Brazilian Journal of Microbiology, v. 47, p. 31–37, 1 dez. 2016.
- [7] CHEN, X. et al. Insertion sequence mediating mrgB disruption is the major mechanism of polymyxin resistance in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolates from China. Journal of Global Antimicrobial Resistance, jul. 2022.

- [8] BOSZCZOWSKI, I. et al.. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: genetic diversity, mechanisms of resistance to polymyxins and clinical outcomes in a tertiary teaching hospital in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 61, p. e29, 2019.
- [9] Hansen GT. Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among Enterobacterales and Other Gram-Negative Bacteria. Vol. 10, *Infectious Diseases and Therapy*. *Infect Dis Ther*; 2021. p. 75–92.
- [10] PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 80, n. 3, p. 629–661, 15 jun. 2016.
- [11] MAGIORAKOS, A-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 18, n. 3, p. 268–81, 2012.
- [12] VERSALOVIC, J. et al. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. v. 5, n. 1, p. 25–40, 1 jan. 1994.
- [13] BROCCHI, M. et al. Typing of avian pathogenic *Escherichia coli* strains by REP-PCR. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, v. 26, n. 2, p. 69–73, 1 jun. 2006.
- [14] PAVEL, A. B.; VASILE, C. I. PyElph - a software tool for gel images analysis and phylogenetics. *BMC Bioinformatics*, v. 13, n. 1, 13 jan. 2012.
- [15] DEPARDIEU, F. et al. Modes and Modulations of Antibiotic Resistance Gene Expression. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 20, n. 1, p. 79–114, 1 jan. 2007.

[16] ALMAGOR, J. et al. The impact of antibiotic use on transmission of resistant bacteria in hospitals: Insights from an agent-based model. PLOS ONE, v. 13, n. 5, p. e0197111, 14 maio 2018.

[17] LISHMAN, H. et al. Exploring the relationship between primary care antibiotic prescribing for urinary tract infections, Escherichia coli bacteraemia incidence and antimicrobial resistance: an ecological study. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 52, n. 6, p. 790–798, dez. 2018.

[18] VAN DUIN, D. et al. Impact of therapy and strain type on outcomes in urinary tract infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 9 dez. 2014.

[19] LEPPER, P. M. et al. Consumption of Imipenem Correlates with  $\beta$ -Lactam Resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 46, n. 9, p. 2920–2925, 1 set. 2002.

[20] RAHAL, J. J. Class Restriction of Cephalosporin Use to Control Total Cephalosporin Resistance in Nosocomial Klebsiella. JAMA, v. 280, n. 14, p. 1233, 14 out. 1998.

[21] CARLING, P. et al. Favorable Impact of a Multidisciplinary Antibiotic Management Program Conducted During 7 Years. Infection Control & Hospital Epidemiology, v. 24, n. 9, p. 699–706, set. 2003.

[22] AURILIO, C. et al. Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. Antibiotics, v. 11, n. 3, p. 421, 1 mar. 2022.

- [23] HOU, X. et al. Molecular characterization of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 3, p. 759–768, set. 2015.
- [24] VAN DUIN, D. et al. Impact of therapy and strain type on outcomes in urinary tract infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 9 dez. 2014.
- [25] LORINA INETA BADGER-EMEKA; EMEKA, P. M. Genetic fingerprinting and profile analysis of virulence genes in XDR clinical isolates of *Klebsiella Pneumoniae*. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*, v. 26, n. 14, p. 5233–5244, 1 jul. 2022.