

PATRÍCIA MARIA DE CARVALHO CAMPOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PERFIL DE SUSCETIBILIDADE E AVALIAÇÃO GENOTÍPICA DA RESISTÊNCIA A β -LACTÂMICOS EM AMOSTRAS DE *Klebsiella pneumoniae* ISOLADAS DE PACIENTES COM INFECÇÃO URINÁRIA ADQUIRIDA NA COMUNIDADE NO BRASIL.

Belo Horizonte

2018

Patrícia Maria de Carvalho Campos

Perfil de suscetibilidade e avaliação genotípica da resistência a β -lactâmicos em amostras de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de pacientes com infecção urinária adquirida na comunidade no Brasil.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Luiz de Macêdo Farias
Coorientadoras: Paula Prazeres Magalhães
Mireille Ângela Bernardes Sousa

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios
Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2018

COLABORAÇÃO

João Fernando Gonçalves Ferreira
Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

APOIO FINANCEIRO

CNPq
CAPES
FAPEMIG
PRPq/UFMG

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e à Virgem Maria, pela interseção e cuidado constantes.

Ao meu amado esposo, Guilherme, pela compreensão, amor, incentivo e por dividir comigo as dores e delícias de todas as nossas escolhas.

Aos meus pais, Genário e Maria Lúcia e meus irmãos, Janaína e Lucas, minha família, minha essência. E ao meu cunhado, Tiago, por completar nossa alegria.

Aos meus sogros (ou mãe e pai 2, como eles preferem), pelo amor, carinho e acolhimento.

Aos meus orientadores, Luiz Macêdo e Paula Magalhães, aos quais serei eternamente grata pela oportunidade e experiência transformadora. São exemplos de comprometimento e excelência, em um patamar de qualidade que eu ainda não conhecia.

À minha coorientadora Mireille e ao Hermes Pardini, pelo apoio, atenção e presteza.

Aos amigos do laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, em especial João Fernando e Natália Guimarães, pela amizade, parceria, ajuda e incentivo.

Aos amigos de outros laboratórios, em especial Paulo, Lucas e Rafaela. Espero comemorar muitas vitórias mais ao lado de vocês.

Aos amigos de fora da UFMG, que sempre torcem por mim, o carinho de cada um faz minha vida mais feliz.

À Dina, que coletou as amostras do meu trabalho.

A todos os familiares que torcem por mim, em especial minhas avós, Maria e Izabel, e meus avôs, Antônio e Constantino.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Departamento de Microbiologia, e aos meus professores, pela formação e oportunidade de realização deste trabalho.

Ao meu esposo Guilherme e às minhas filhas caninas, Luna e Lira.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	p.
FIGURA 1 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> em ágar sangue	14
FIGURA 2 - Estrutura geral dos β – lactâmicos	20
FIGURA 3 - Mecanismo de hidrólise dos β – lactâmicos por β – lactamases de espectro estendido	23
GRÁFICO 1 - Frequência relativa de <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{TEM} e <i>bla</i> _{KPC1,2,3} em amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária	39
QUADRO 1 - Classificação das β – lactamases	24
QUADRO 2 - Sequência dos <i>primers</i> e condições das reações de amplificação para pesquisa de determinantes genéticos de resistência a antimicrobianos β – lactâmicos em <i>Klebsiella pneumoniae</i>	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Perfil de suscetibilidade a drogas β -lactâmicas de amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária determinado por métodos fenotípico (antibiograma) e genotípico (PCR)	p. 41
TABELA 2 -	Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária	42

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BES	<i>Brazil extended-spectrum</i> β -lactamase
BGN	Bactérias Gram negativas
CDC	Centro de Prevenção e Controle de Doenças
CIM	Concentração inibitória mínima
CMT	Complexo mutante TEM
COEP/UFMG	Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais
CTX-M	Cefotaximases
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECDC	Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ESBL	β -lactamases de espectro estendido
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp.</i>
FES	<i>Fecal E. coli</i>
GES	<i>Guiana-extended-spectrum</i> β -lactamase
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IRAS	Infecção Relacionada à Assistência à Saúde
IRT	TEM resistente a inibidor
ITU	Infecção do trato urinário
KPC	<i>K. pneumoniae</i> carbapenemase
LPS	Lipopolissacáride
PBPs	<i>Penicillin Binding Protein</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PER	<i>Pseudomonas extended-resistant</i>
REMUME	Relação Municipal de Medicamentos Essenciais
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
TBE	Tris/Borato/EDTA
TEM	Temoniera

TLA	<i>Tlahuicas Indians</i>
SER	Serina
SFO	<i>Serratia fonticola</i>
SHV	<i>Sulphydril variable</i>
STET	Sacarose, Tris-HCl, EDTA, Triton-x
TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
UFC	Unidade formadora de colônia
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênica
VEB	<i>Vietnam extended-spectrum β-lactamase</i>

RESUMO

Klebsiella pneumoniae é um organismo de grande relevância clínica, associado à etiopatogenia tanto de infecções relacionadas à assistência à saúde como comunitárias, entre elas, infecção do trato urinário (ITU). Tem habilidade de adquirir e transferir genes de resistência a antimicrobianos, característica importante em sua emergência como patógeno resistente a múltiplos fármacos. Entre as enterobactérias, o principal mecanismo de resistência a antibacterianos β -lactâmicos, os mais frequentemente utilizadas na prática clínica, é a produção de enzimas β -lactamases. Devido à relevância clínica de *K. pneumoniae*, à sua associação com ITU comunitária e à disseminação da resistência antimicrobiana, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença dos genes *bla*_{KPC1,2,3}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} e *bla*_{TEM} em 519 amostras de *K. pneumoniae* isoladas de ITU adquirida na comunidade e analisar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das amostras. Lise térmica foi utilizada para extração de DNA, empregado como molde em PCR para pesquisa dos marcadores genéticos mencionados. Ainda, os dados relativos ao perfil fenotípico de suscetibilidade antimicrobiana das amostras bacterianas, incluindo triagem de amostras produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) e KPC foram analisados. O estudo demonstrou que 51,6% das amostras de *K. pneumoniae* abrigavam pelo menos um dos genes pesquisados. As seguintes frequência relativas foram observadas: *bla*_{SHV}= 46,1%; *bla*_{CTX-M} = 7,3%; *bla*_{TEM}= 5,6%; *bla*_{KPC} = 1,0%. Dois e três marcadores foram detectados simultaneamente em 6,0% e 1,2% das amostras. No que se refere ao perfil de suscetibilidade antimicrobiana, a menor e maior taxa de resistência foram observadas para amicacina (0,2% resistência e 0,4% resistência intermediária) e ampicilina (100% resistência), respectivamente. De forma geral, observou-se predomínio de suscetibilidade aos antimicrobianos, com frequência superior àquelas habitualmente relatadas para o grupo. Destaca-se resistência/resistência intermediária à nitrofurantoína de 30,3%. Das 51 (9,8%) amostras que expressaram multirresistência, 41 apresentaram algum dos genes analisados, o que sugere que a produção de β -lactamases está relacionada ao perfil de resistência observado. Conclui-se que as β -lactamases pesquisadas representam um importante mecanismo de resistência de *K. pneumoniae* associada à ITU comunitária, visto que mais da metade das amostras albergavam ao menos um dos quatro genes investigados. Além disso, mesmo as β -lactamases de espectro estreito, mais prevalentes em amostras bacterianas que circulam na comunidade, são capazes de comprometer a antibioticoterapia, considerando-se os esquemas comumente utilizados para tratamento de pacientes com infecções comunitárias, como cefalosporinas de primeira geração e penicilinas. Os resultados desta investigação contribuem para o entendimento da epidemiologia do quadro e para a proposição de antibioticoterapia empírica.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*, infecção urinária, resistência antimicrobiana, β -lactâmicos, β -lactamases.

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae is a clinically relevant organism associated with the etiopathogenesis of both healthcare-associated infections and community-acquired infections, including urinary tract infection (UTI). The microorganism is able to acquire and transfer antimicrobial resistance genes and consequently to this ability the bacterium emerged as a multidrug resistant pathogen. The most commonly employed antimicrobial drugs in the clinical routine are β -lactams and among enterobacteria the most important resistance mechanism is the production of β -lactamases enzymes. Considering the clinical relevance of *K. pneumoniae*, its association with community acquired UTI, and the spread of antimicrobial resistance, we developed this study aiming to evaluate the presence of *bla*_{KPC1,2,3}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, and *bla*_{TEM} among 519 *K. pneumoniae* isolates obtained from community-acquired UTI patients, and to analyze the antimicrobial susceptibility profile of bacterial isolates. After boiling extraction of DNA, PCR was performed in order to search for the genetic markers described above. Data on the phenotypic antimicrobial susceptibility profile including the screening for extended spectrum β -lactamases (ESBLs) producing isolates and KPC were analyzed. The study revealed that 51.6% of *K. pneumoniae* isolates harbored at least one of the studied markers. The following relative frequencies were observed: *bla*_{SHV} = 46.1%; *bla*_{CTX-M} = 7.3%; *bla*_{TEM} = 5.6%; *bla*_{KPC} = 1.0%. Two and three of these genes were detected simultaneously in 6.0% and 1.2% of *K. pneumoniae* strains, respectively. In regard to the antimicrobial susceptibility profile the lowest resistant rate was detected for amikacin (0.2% resistance and 0.4% intermediate resistance) and the highest frequency of resistance was observed for ampicillin (100% resistance). Overall high susceptibility rates were detected, most of them higher than those previously reported. However it is noteworthy the resistance/intermediate resistance frequency to nitrofurantoin (30.3%). Among the 51 (9.8%) multiresistant isolates 41 presented at least one of the genes evaluated in this study suggesting that the synthesis of β -lactamases is associated with the resistance profile. Data generated reinforce that β -lactamases production is a relevant resistance mechanism among *K. pneumoniae* associated with community-acquired UTI, since more than half of the study group harbored at least one of the four genes investigated. Besides this, even the narrow-spectrum β -lactamases, which are more prevalent in bacterial strains that circulate in the community, may interfere in the antimicrobial therapy outcome considering the commonly drug regimens used for the treatment of patients with community-acquired infections, such as first generation cephalosporins and penicillins. Data generated by this study contribute to understanding the epidemiology of UTI and to the designing of more efficient empirical antimicrobial therapy.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, urinary tract infection, antimicrobial resistance, β -lactams, β -lactamases.

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	13
1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO <i>Klebsiella</i>	13
1.2 A ESPÉCIE <i>K. pneumoniae</i>	14
1.3 FATORES DE PATOGENICIDADE <i>K. pneumoniae</i>	15
1.3.1 CÁPSULA	16
1.3.2 ADESINAS FIMBRIAIS	17
1.3.3 SIDERÓFOROS	18
1.3.4 BIOFILME	18
1.3.5 LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)	19
1.4 DROGAS ANTIMICROBIANAS β - LACTÂMICAS	20
1.5 RESISTÊNCIA A DROGAS β – LACTÂMICAS EM <i>K. pneumoniae</i>	22
1.5.1 B – LACTAMASES	23
1.5.1.1 β – lactamases tipo TEM	26
1.5.1.2 β – lactamases tipo SHV	26
1.5.1.3 β – lactamases tipo CTX-M	27
1.5.1.4 <i>Klebsiella pneumoniae</i> CARBAPENEMASE - KPC	28
1.6 INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO	29
1.6.1 AGENTES ETIOLÓGICOS DE ITU	31
1.6.2 INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO COMUNITÁRIO	32
2 JUSTIFICATIVA	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GERAL	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 ORIGEM E MANUTENÇÃO DAS AMOSTRAS	35

4.2	EXTRAÇÃO DE DNA	36
4.3	PESQUISA DE MARCADORES GENÉTICOS ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A DROGAS B – LACTÂMICAS	37
5	RESULTADOS	39
5.1	AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DOS GENES <i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{TEM} E <i>bla</i> _{KPC-1,2,3}	39
5.2	PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A DROGAS ANTIMICROBIANAS AVALIADO POR MÉTODO FENOTÍPICO	40
6	DISCUSSÃO	44
7	SÍNTESE DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO *Klebsiella*

O gênero *Klebsiella* está incluído na família *Enterobacteriaceae*, sendo composto por 16 espécies e cinco subespécies (EUZEBY, 2018). Alguns representantes do gênero são patógenos de seres humanos, sendo responsáveis por diversas doenças infecciosas adquiridas na comunidade e em instituições de saúde (KUMADE *et al.*, 2016; MANSOUR *et al.*, 2017). As espécies de *Klebsiella* são de natureza ubíqua, podendo ser encontradas em diferentes ambientes, como solo, água e plantas, ou mesmo na microbiota indígena de mamíferos, em especial, no intestino desses hospedeiros. São bactérias Gram negativas e, comumente, formam colônias mucoides, pela produção de polissacárides capsulares (K), característica associada à sua patogenicidade (CESCUTTI; BENEDETTO; RIZZO, 2016; MAISONNEUVE *et al.*, 2017).

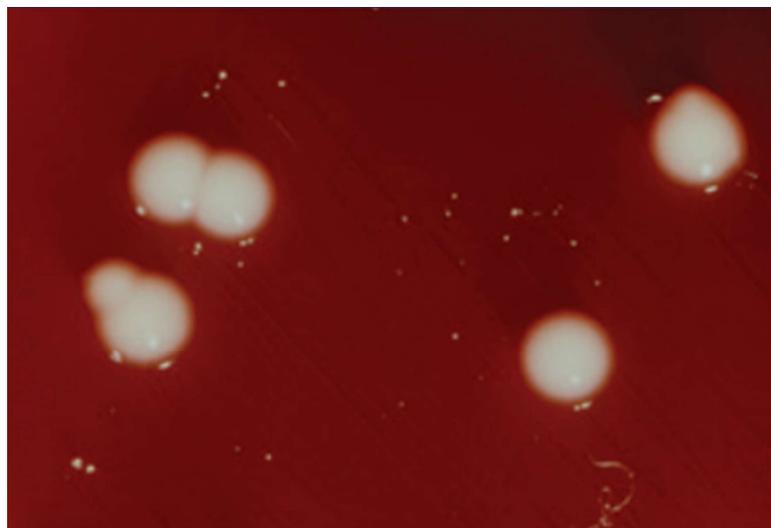
Dentre as espécies incluídas no gênero, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* destacam-se por sua relevância clínica na medicina humana, sendo, a primeira, em particular, responsável por grande parte das infecções que acometem os tratos urinário e respiratório. Inseridas nesta espécie, três subespécies merecem destaque, quais sejam, *K. pneumoniae pneumoniae*, *K. pneumoniae ozaenae* e *K. pneumoniae rhinoscleromatis* (KUMADE *et al.*, 2016; MANSOUR *et al.*, 2017).

A espécie *K. pneumoniae* é reconhecida como importante agente de IRAS (Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde), considerada um dos principais patógenos nosocomiais do mundo (CERDEIRA *et al.*, 2016). A espécie vinha sendo, há algum tempo, isolada de pacientes imunocomprometidos, mas, mais recentemente, passou a ser relatada, também, como importante patógeno associado a doenças infecciosas adquiridas comunitárias (KUMADE *et al.*, 2016).

1.2 A ESPÉCIE *K. pneumoniae*

Os representantes da espécie *K. pneumoniae* são bactérias anaeróbias facultativas, imóveis, não fastidiosas, podendo ou não expressar cápsula polissacarídica. Encontram-se distribuídos no solo, na água, no esgoto e em associação com plantas. Têm habilidade para colonizar uma grande diversidade de hospedeiros e sítios anatômicos de seres humanos, incluindo o sistema respiratório, o trato intestinal e a pele. Estão estreitamente relacionados a outros patógenos, como *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* (DOORDUIJN *et al.*, 2016; SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016; WYRES; HOLT, 2016). As colônias de *K. pneumoniae* são grandes e, frequentemente, têm aparência mucóide (ZHAO *et al.*, 2010) (FIGURA 1).

Figura 1 - *Klebsiella pneumoniae* em ágar sangue.



Fonte: Centers for Diseases Control and Prevention, 2015.

A espécie *K. pneumoniae* está entre os patógenos oportunistas mais comumente isolados de IRAS e doenças infecciosas da comunidade (RANJBAR *et al.*, 2016). Está incluída no grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*,

K. pneumoniae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), representado por espécies bacterianas de grande interesse clínico, responsáveis pelo desencadeamento de doenças infecciosas graves, que apresentam grau elevado de virulência e estão associadas à resistência a diversos antimicrobianos (REDFERN *et al.*, 2017). Em neonatos, idosos e outros indivíduos imunocomprometidos, *K. pneumoniae* pode causar, por exemplo, pneumonia, ITU e infecções da corrente sanguínea, em especial, IRAS (DOORDUIJN *et al.*, 2016). Porém, o recente surgimento e disseminação de linhagens hipervirulentas têm aumentado o número de pessoas suscetíveis à infecção pelo organismo, incluindo indivíduos saudáveis e imunocompetentes (PACZOSA; MECSAS, 2016). São relatadas, além das infecções já citadas, abscesso esplênico, empiema, endoftalmite e meningite, entre outras (LIU *et al.*, 2016; SINGH, 2017).

O genoma médio de *K. pneumoniae* é de 5,5 Mb, com, aproximadamente, 5.500 genes. O conjunto gênico comum a todas as linhagens da espécie inclui menos de 2.000 genes, sendo, os demais, adicionais ou acessórios. Tais genes podem estar relacionados com características importantes envolvidas na patogenicidade da bactéria, como fatores gerais associados à resistência a antimicrobianos, por exemplo, produção de β -lactamases, expressão de cápsula, sideróforos e adesinas e resistência a condições de estresse e a metais pesados, dentre outras. Esta variação de genes acessórios pode contribuir para a sobrevivência da espécie em diferentes *habitats* (RANJBAR *et al.*, 2016; WYRES; HOLT, 2016).

1.3 FATORES DE PATOGENICIDADE DE *K. pneumoniae*

Devido ao reconhecimento de *K. pneumoniae* como um patógeno prevalente, resistente a múltiplos antimicrobianos, é fundamental uma melhor compreensão dos mecanismos expressos pela bactéria que possibilitam sua sobrevivência no hospedeiro humano, assim como sua capacidade de causar doença. Além da

aquisição e transferência de genes de resistência a antimicrobianos, por meio de plasmídios e transpósons, vários fatores de patogenicidade têm sido considerados determinantes para o desenvolvimento da doença associada ao microrganismo, incluindo cápsula, LPS, sideróforos e adesinas, como mencionado anteriormente (DOORDUIJN *et al.*, 2016; MOEMEN; MASALLAT, 2017; RANJBAR *et al.*, 2016).

1.3.1 CÁPSULA

A cápsula de *K. pneumoniae* é composta por uma camada densa de, aproximadamente, 160 nm de espessura, formada por polissacárides. Mais de 70 tipos diferentes de polissacárides capsulares, ou antígenos K, foram descritos para o organismo, sendo eles a base para a sorotipagem K. Tem por função proteger efetivamente a bactéria em ambientes hostis. É um dos fatores mais importantes para a colonização do trato urinário, pois contribui para a evasão do sistema imune e a proteção contra a ação de antimicrobianos. Deve-se ressaltar sua relevância na formação de biofilme (CAMPOS *et al.*, 2004; CESCUTTI; BENEDETTO; RIZZO, 2016; DOORDUIJN *et al.*, 2016; REGUÉ *et al.*, 2004).

K1 e K2 são os sorotipos mais virulentos de *K. pneumoniae* no que se refere a doenças infecciosas adquiridas na comunidade e segundo dados gerados por estudos com animais. As propriedades antifagocitárias de amostras destes sorotipos podem explicar seu alto grau de virulência, contribuindo para a resistência à fagocitose por neutrófilos (LIN *et al.*, 2017). O ácido siálico presente na extremidade do polissacáride capsular pode ser o responsável pela inibição da fagocitose mediada pelo complemento, visto que sua remoção restaura a capacidade fagocitária (DOORDUIJN *et al.*, 2016).

1.3.2 ADESINAS FIMBRIAIS

A adesão bacteriana às células é, geralmente, mediada por interações específicas adesina-receptor. *In vivo*, as bactérias são normalmente expostas a forte risco de serem arrastadas pelo fluxo de fluidos, como o jato de urina, que funciona como uma defesa natural do organismo contra a colonização bacteriana (ZAKRISSON *et al.*, 2013). Estudos demonstram que a expressão de fímbria tipo 1 aumenta o grau de virulência de uropatógenos, como *E. coli* (UPEC-*Escherichia coli* uropatogênica), mediando a adesão bacteriana e a invasão de células epiteliais da bexiga (SJOSTROM *et al.*, 2009).

As fímbrias tipo 1 são organelas finas, rígidas e com superfície adesiva, encontradas em todos os membros da família *Enterobacteriaceae* (KLEMM; SCHEMBRI, 2000). Em uma bactéria fimbriada, centenas destas organelas irradiam-se, de forma peritríquea, a partir da superfície celular até uma distância de cerca de 1 µm. As fímbrias de *E. coli* são as mais extensivamente estudadas, existindo grande correspondência fenotípica e genotípica entre estas e as estruturas presentes em *K. pneumoniae* (SCHEMBRI *et al.*, 2005).

Fímbrias tipo 1 exercem as propriedades adesivas por meio da adesina FimH, um componente menor situado nas pontas das fímbrias. A subunidade FimH consiste de dois domínios, um domínio adesina amino-terminal (que se liga ao receptor celular) e um domínio *pili* carboxi-terminal (ROSEN *et al.*, 2008; STEEN *et al.*, 2013; STRUVE; BOJER; KROGFELT, 2008).

As fímbrias tipo 3 também são expressas por muitas enterobactérias, sendo capazes de mediar a ligação entre *K. pneumoniae* e várias células humanas, tais como células endoteliais e células epiteliais dos tratos respiratório e urinário (HUANG *et al.*, 2009; SAHLY *et al.*, 2008). A proteína MrkD, principal componente estrutural das fímbrias tipo 3, é fator importante na ligação do microrganismo às moléculas de colágeno. Portanto, as fímbrias tipo 3 parecem desempenhar duas funções importantes, sendo elas, promover a interação da bactéria a receptores específicos das células e tecidos do hospedeiro e facilitar a formação de biofilme (LANGSTRAAT *et al.*, 2001).

1.3.3 SIDERÓFOROS

O ferro é um elemento essencial para os organismos vivos e é utilizado para catalisar uma grande variedade de reações enzimáticas indispensáveis (WILSON *et al.*, 2016). A capacidade das bactérias de competir pelo ferro no organismo hospedeiro é de importância primordial para sua viabilidade, de forma a estar apta a promover o estabelecimento da infecção. Sendo assim, as células bacterianas desenvolvem sistemas de assimilação deste importante metal pela produção de quelantes de ferro de baixo peso molecular, chamados sideróforos (LOPES *et al.*, 2016).

Entre as enterobactérias, três sistemas de sideróforos são mais prevalentes, enterobactina, aerobactina e yersiniabactina, sendo, o primeiro, aquele mais frequentemente observado em *K. pneumoniae* (PODSCHUN; FISCHER; ULLMAN, 2000; ZHANG *et al.*, 2017). Esses sideróforos podem desempenhar papéis diferentes no metabolismo celular. Acredita-se que a enterobactina esteja associada a infecções urinárias e a yersiniabactina relacionada à invasividade. Portanto, a enterobactina parece estar ligada à patogenicidade clássica de *K. pneumoniae*, enquanto a aerobactina e yersiniabactina contribuiriam para uma maior capacidade de invasão, uma ameaça para populações vulneráveis (FERTAS-AISSANI *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2016).

1.3.4 BIOFILME

Biofilme pode ser conceituado como uma comunidade estruturada de células em uma matriz polimérica autoproduzida e aderida a uma superfície inerte ou viva (SATPATHY *et al.*, 2016). Seu desenvolvimento é um processo complexo, em que, geralmente, as primeiras células microbianas são ligadas a uma superfície, formando microcolônias que se diferenciam em macrocolônias, formando biofilmes maduros (YILMAZ; GÜVENSEN, 2016). Alguns mecanismos possuem papel importante neste processo, como, por exemplo, *quórum sensing*, que consiste na produção e liberação de moléculas de sinalização para o meio, estimulando a expressão de vários genes. Tal mecanismo desempenha função

relevante na adesão celular, conferindo ao biofilme maior proteção em relação aos agentes antimicrobianos, além de possibilitar às bactérias executarem funções biológicas relacionadas à sua patogenicidade (FARIA; PESSALACIA; SILVA, 2016).

Estima-se que os biofilmes estejam envolvidos em, pelo menos, 65% de todas as doenças infecciosas bacterianas crônicas. Assim, têm papel relevante em uma grande variedade de doenças, incluindo infecções do trato urinário, endocardite e quadros associados a uso de cateteres (VAN LAAR *et al.*, 2015).

A proteção contra drogas antimicrobianas se dá tanto pela barreira física, como pela multiplicação lenta dos microrganismos. Além disso, o biofilme promove proteção contra células do sistema imune e favorece também a transferência de genes entre bactérias, o que pode levar ao surgimento de linhagens mais virulentas e resistentes a antimicrobianos (CHENOWETH; SAINT, 2016; SATPATHY *et al.*, 2016).

Em *K. pneumoniae*, o biofilme pode estar associado a infecções dos tratos respiratório e urinário, especialmente em indivíduos com o sistema imune debilitado (CHEN *et al.*, 2014; CHILDERS *et al.*, 2013). A utilização de cateteres também é um evento que favorece a formação de biofilmes associados à infecção urinária, já que estes interferem nas barreiras de defesa naturais do corpo, como o próprio comprimento da uretra e a micção (CHENOWETH; SAINT, 2016).

1.3.5 LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)

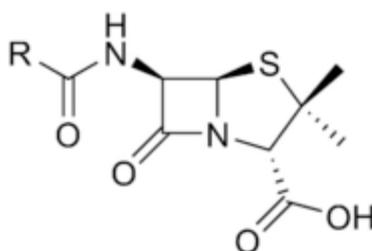
O LPS é o constituinte principal da membrana externa da parede de bactérias Gram negativas, estrutura importante para a sobrevivência bacteriana, pois estabelece uma barreira de permeabilidade eficiente contra uma variedade de compostos que apresentam ação antimicrobiana (KIM *et al.*, 2016). A molécula de LPS também desempenha papel importante na interação com o hospedeiro mamífero, pois contribui para a patogenicidade bacteriana e pode estimular a resposta imune (KIM *et al.*, 2016; SPERANDEO; MARTORA; POLISSI, 2016).

A fração mais conservada do LPS, o lipídio A, também é conhecido como endotoxina, e relaciona-se à resposta inflamatória e, eventualmente, a choque. Por sua vez, o antígeno O é o componente mais externo do LPS, projetando-se a partir da membrana externa. Além da tipagem capsular, amostras de *K. pneumoniae* podem ser classificados com base nesta molécula (tipagem O) (KIM *et al.*, 2016; SPERANDEO; MARTORA; POLISSI, 2016). O1 é o sorotipo mais prevalente entre as amostras de *Klebsiella* de origem clínica (DOORDUIJN *et al.*, 2016).

1.4 DROGAS ANTIMICROBIANAS β -LACTÂMICAS

Os β -lactâmicos representam um grupo de fármacos definidos pela presença de um anel β -lactâmico (FIGURA 2), responsável por sua atividade antimicrobiana e por sua toxicidade seletiva, visto que atuam na parede celular, estrutura ausente nas células do ser humano hospedeiro (SUAREZ; GUDIOL, 2009). Representam a classe de antimicrobianos mais amplamente utilizada na rotina médica e possuem ação bactericida (BERTONCLHELI; HORNER, 2008; KUBOYAMA, 2009). Compreendem as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenêmicos e os monobactâmicos (AMINOV, 2007; GRUMACH, 2006; ROSÁRIO *et al.*, 2006; TAVARES, 2002).

FIGURA 2 - Estrutura geral dos β lactâmicos.



Fonte: ROSÁRIO; GRUMACH (2006).

Os β -lactâmicos agem ligando-se às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), presentes na parede celular bacteriana. O efeito antimicrobiano é produzido pela inibição da síntese da parede celular, numa etapa em que ligações cruzadas são formadas entre as cadeias de peptidoglicano. Assim, as células bacterianas tornam-se permeáveis a fluidos, o que promove a lise celular (JUNIOR; FERREIRA; CONCEIÇÃO, 2004).

As penicilinas são substâncias derivadas do ácido β -aminopenicilânico e sua hidrólise permitiu a síntese de diversos β -lactâmicos por adição e/ou substituição de radicais. Assim, as penicilinas mais antigas, como a benzilpenicilina, são obtidas de culturas de *Penicillium chrysogenum*, enquanto outras, modificadas, como a amoxicilina, são semissintéticas, obtidas por incorporação de grupamentos químicos ao anel β -lactâmico (WRIGHT, 1999).

As cefalosporinas foram descobertas em 1945, quando se detectou a produção, pelo fungo *Cephalosporium acremonium*, de um composto efetivo contra diversas bactérias, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella enterica* Typhi e *Brucella*. São derivadas do ácido 7-aminocefalosporânico e seu mecanismo de ação e demais propriedades são semelhantes aos das penicilinas. São subdivididas em primeira, segunda, terceira, quarta e quinta gerações, de acordo com o espectro de atividade (YILMAZ; ÖZCENGİZ, 2017).

Da classe dos monobactâmicos, o aztreonam é o único antimicrobiano disponível no Brasil. Eles são altamente resistentes à inativação por β -lactamases, tendo sua principal indicação em casos de infecções causadas por bastonetes Gram negativos nas quais há falha terapêutica quando são empregadas cefalosporinas de terceira geração. Não são ativos contra microrganismos Gram positivos nem contra bactérias anaeróbias obrigatórias (ORLICEK, 1999).

Os carbapenêmicos possuem o espectro antibacteriano mais amplo entre os antimicrobianos β -lactâmicos, com afinidade por PBPs de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Os três principais carbapenêmicos disponíveis para uso clínico são imipenem, meropenem e ertapenem (BABIC; HUJER; BONOMO, 2006).

1.5 RESISTÊNCIA A DROGAS β -LACTÂMICAS EM *K. pneumoniae*

A resistência a antimicrobianos é um fenômeno natural e antigo, que precede o uso terapêutico de antimicrobianos em seres humanos. Muitos fatores têm papel importante no aumento das taxas de resistência a antimicrobianos, destacando-se, entre eles, o uso empírico e indiscriminado destes fármacos (BOYLE; ZEMBOWER, 2015).

Além da pressão seletiva exercida pelas condições do meio, mutações de genes associados à resistência a antimicrobianos, que ampliam seu espectro de atividade, e transferência de material genético, em que marcadores de resistência são disseminados entre microrganismos, são determinantes para o aumento das taxas de resistência observado. Ainda, a atual emergência e disseminação de clones multirresistentes, os quais podem ocorrer em nível global, também contribuem para o processo. Nos últimos anos, a multirresistência bacteriana vem sendo descrita como um problema de saúde pública mundial, com destaque para a emergência da resistência aos carbapenêmicos em enterobactérias (AGGA *et al.*, 2015; DIAS; COELHO; DORIGON, 2015; SEKAR *et al.*, 2017).

Bactérias Gram negativas combinam as estratégias de alteração de permeabilidade (porinas) e atividade de bombas de efluxo para expressar resistência de alto nível a β -lactâmicos. A modificação de alvo (PBPs) também contribui para a resistência em algumas espécies (LLARRULL *et al.*, 2010). Contudo, o principal mecanismo de resistência em enterobactérias está ligado à produção de enzimas, como as β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), AmpC e carbapenemases. Tais enzimas atuam protegendo os microrganismos dos efeitos letais dos antimicrobianos β -lactâmicos (GARCÍA-TELLO, *et al.*, 2014; MOXON, PAULUS, 2016). Os genes que codificam essas enzimas estão localizados, na maioria das vezes, em plasmídios, que podem ser transferidos para outras bactérias, facilitando a disseminação em hospitais e na comunidade (MOXON; PAULUS, 2016).

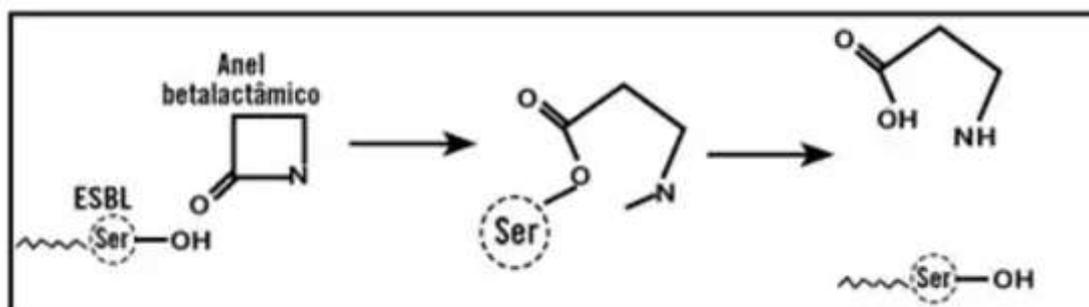
1.5.1 β -LACTAMASES

A primeira β -lactamase foi descrita por Abraham e Chaim, em 1940, antes mesmo do uso da penicilina para o tratamento de pacientes com infecções bacterianas (BERTONCHELI; HORNER, 2008). São enzimas que diferem em estrutura e preferência de substrato, cujo mecanismo de ação parte da sua associação ao anel β -lactâmico do antimicrobiano, causando hidrólise e, conseqüentemente, inativação do mesmo (SILVA; LINCOPAN, 2012).

Até então, mais de 1.600 tipos de β -lactamases foram descritas. De forma resumida, tais enzimas podem ser agrupadas, com base em sua estrutura, em quatro classes (A-D), de acordo com a classificação de Ambler (1980) ou, com base em sua função, divididas em três grupos (1-3) e múltiplos subgrupos, usando a classificação de Bush-Jacoby (2010) (QUADRO 1) (AMBLER, 1980; BUSH; JACOBY, 2010; MOXON; PAULUS, 2016).

As β -lactamases podem atuar por dois mecanismos diferentes, quais sejam, utilização de íons de zinco capazes de desencadear a ruptura do anel β -lactâmico, no caso das metalo- β -lactamases, ou utilização da via éster-serina, no caso das demais β -lactamases, que representam a maior parte das enzimas (FIGURA 3) (LIVERMORE, 1995).

Figura 3 - Mecanismo de hidrólise dos β -lactâmicos por β -lactamases de espectro estendido.



Legenda: ESBL, β -lactamases de espectro estendido; SER, serina.

Fonte: Adaptado de LIVERMORE, 1995.

Quadro 1 - Classificação das β -lactamases.

Classificação		Substratos preferenciais	Inibido por		Enzimas representativas
Bush-Jacoby	Ambler		CLA e TZB	EDTA	
1	C	Cefalosporinas, cefamicina, penicilinas	N	N	AmpC, P99, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefamicina, penicilinas, cefalosporina de espectro estendido	N	N	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	S	N	PC1
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas de espectro estreito	S	N	TEM-1, TEM-2, SHV-1, TLE-1 (TEM-90)
2be	A	Penicilina, cefalosporinas de espectro estendido, monobactâmicos	S	N	CTX-M-15, CTX-M-44, PER-1, SFO-1, SHV-5, TEM-10, TEM-26, VEB-1
2br	A	Penicilinas, cefalosporinas de espectro estreito	N	N	TEM-30, TEM-76, TEM-103, SHV-10, SHV-26
2ber	A	Penicilina, cefalosporinas de espectro estreito, monobactâmicos	N	N	TEM-50, TEM-68, TEM-89
2c	A	Carbenicilina	S	N	PSE-1, CARB-3
2d	D	Cloxacilina, oxacilina	V	N	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro estendido, penicilinas	V	N	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenêmicos, cloxacilina, oxacilina	V	N	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas	S	N	CepA
2f	A	Carbapenêmicos, cefalosporinas, penicilinas e cefamicina	V	N	IMI-1, KPC-2, KPC-3, SME-1, GES-2
3a	B	β -lactâmicos exceto monobactâmicos	N	S	IMP-1, L1, NDM-1, VIM-1
3b	B	Carbapenêmicos	N	S	CphA, Sfh-1

Legenda: CLA, ácido clavulânico; TZB: tazobactam; EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético; N: não; S: sim; V: variável.

Fonte: Adaptado de BUSH; FISHER (2011).

A partir da utilização de β -lactâmicos de amplo espectro, as ESBLs também passaram a ser detectadas. A primeira enzima deste tipo foi descrita na Alemanha, na década de 1980, logo após a introdução das cefalosporinas de terceira geração na prática clínica. Tratava-se da ESBL SHV-2, detectada, pela primeira vez, em uma amostra de *K. ozaenae* e, posteriormente, em *E. coli* (LIVERMORE, 1995; PATERSON *et al.*, 2000).

Grande parte das ESBLs surgiu a partir de mutações em genes que codificam β -lactamases clássicas, que resultaram na substituição de um ou mais aminoácidos, aumentando o espectro hidrolítico da enzima transcrita. As ESBLs conferem resistência à maioria dos antimicrobianos β -lactâmicos, incluindo fármacos de terceira e quarta gerações, cefalosporinas e monobactâmicos, mas não carbapenêmicos e cefamicinas. Podem ser inativadas por inibidores de β -lactamases, como ácido clavulânico e tazobactam (ADLER; KATZ; LIVERMORE; BROWN, 2001; MARCHAIM, 2016; VERAS *et al.*, 2011).

Entre as ESBLs que não são derivadas das β -lactamases clássicas (TEM-1, TEM-2 e SHV-1), as enzimas CTX-M são as mais prevalentes. Além destas famílias de ESBLs já bem estabelecidas, há outras enzimas que também possuem atividade de espectro estendido, porém, são detectadas em menor frequência, como GES, PER, VEB, BES, SFO e TLA (ABRAR *et al.*, 2017).

As ESBLs são expressas por grande variedade de bastonetes Gram negativos, em especial, da família *Enterobacteriaceae*, destacando-se *K. pneumoniae* e *E. coli*. Sua ampla disseminação está relacionada ao fato dos genes que as codificam estarem, geralmente, localizados em plasmídios, o que facilita a sua propagação (ABRAR *et al.*, 2017; DZIRI *et al.*, 2016).

A produção de ESBLs tem emergido como o mais importante mecanismo de resistência a drogas β -lactâmicas. Os microrganismos produtores de tais enzimas foram, inicialmente, isolados de pacientes hospitalizados que, provavelmente, faziam uso de cefalosporinas. Atualmente, estes microrganismos são encontrados também na comunidade (LUZZARO *et al.*, 2006; OLIVEIRA, 2008).

1.5.1.1 β -LACTAMASES TIPO TEM

Em 1960, foi descoberta a primeira β -lactamase cuja síntese é mediada por gene plasmidial. A enzima foi detectada em uma amostra de *E. coli* proveniente de um paciente cujo nome era Temoniera; assim, foi denominada TEM-1 (SILVA; LICOPAN, 2012).

As enzimas TEM são codificadas pelos genes *bla*_{TEM} e pertencem à classe A do sistema de classificação de Ambler. As enzimas clássicas, TEM-1 e TEM-2, são capazes de hidrolisar penicilinas e cefalosporinas de primeira geração (JACOBY; MUNOZ-PRICE, 2005; VILLEGAS *et al.*, 2008). O grupo de enzimas TEM, especialmente TEM-1 e TEM-2, está entre as β -lactamases mais dispersas em todo o mundo, sendo detectadas frequentemente em *K. pneumoniae* e *E. coli* (COQUE, 2002).

No início de 1990, em associação ao uso excessivo de inibidores de β -lactamases, foram descritas enzimas variantes, resistentes a estes inibidores, denominadas IRT (TEM resistente a inibidor) (ROBIN *et al.*, 2007). Em meados desta mesma década, um terceiro subgrupo de enzimas TEM foi identificado. Tal subgrupo combinava características de IRT e ESBL, ou seja, uma enzima TEM com atividade de espectro estendido e resistente aos inibidores de β -lactamases. Essa nova enzima foi denominada complexo mutante TEM (CMT) (YANG, 2010). São exemplos desta categoria TEM-12, TEM-39 e TEM-125, que já foram descritas em *E. coli* e *K. pneumoniae* (ROBIN *et al.*, 2006). As variantes TEM-10 e TEM-12 foram as primeiras ESBLs tipo TEM descritas na América do Sul, reportadas por Paterson e colaboradores (2003).

1.5.1.2 β -LACTAMASES TIPO SHV

Descrita pela primeira vez em 1972, SHV-1 é uma enzima clássica, codificada pelo gene *bla*_{SHV}. Seu nome foi derivado de sua estrutura química sulfidril variável em seu sítio ativo de serina (abreviação de *sulphydril variable*). SHV-1 apresenta ação apenas contra penicilinas e cefalosporinas de primeira geração, sendo uma β -lactamase de espectro estreito. Inicialmente, foi descrita como uma enzima codificada por genes cromossômicos, em bactérias do gênero *Klebsiella*.

Em 1979, foi reportada a codificação plasmidial, o que contribuiu para a disseminação da característica (CHAVES *et al.*, 2001; POIREL; NORDMANN, 2002; THAI; PLEISS, 2010).

Em 1983, logo após a introdução das cefalosporinas de terceira geração na prática clínica, foi identificada SHV-2, a primeira variante desta β -lactamase, derivada de SHV1, com atividade hidrolítica mais ampla, sendo ativa contra cefalosporinas de espectro estendido (SILVA, LICOPAN, 2012). Novos genes têm surgido desde então, por meio de mutações nos genes clássicos. A substituição de apenas um aminoácido pode ser suficiente para tornar a enzima mais eficiente ou aumentar seu perfil de hidrólise, ampliando seu espectro de atividade (COQUE, 2002).

1.5.1.3 β -LACTAMASES TIPO CTX-M

Em 1990, Bauerfeind reportou, na Alemanha, a produção de uma cefalosporinase não pertencente às famílias TEM ou SHV, a qual denominou CTX-M-1. Tal enzima era semelhante à enzima denominada MEN-1, identificada na França, e à FEC-1, detectada no Japão, em 1986. Por sequenciamento, descobriu-se que se tratava da mesma enzima. No mesmo período, vários relatos da enzima CTX-M-2 ocorreram na Argentina. Desde então, as enzimas da família CTX-M disseminaram-se de forma acelerada nos cinco continentes. Dados da literatura sugerem que as mesmas se tornaram até mais prevalentes que as enzimas dos tipos TEM e SHV. No Brasil, a primeira enzima do tipo CTX-M foi identificada na década de 1990 (SILVA, LICOPAN, 2012).

No geral, as β -lactamases do tipo CTX-M hidrolisam cefotaxima e ceftriaxona de forma mais eficiente do que ceftazidima, assim como são inibidas com mais eficácia pelo tazobactam do que pelo ácido clavulânico (PEREZ *et al.*, 2007). No entanto, com a disseminação do uso de ceftazidima na prática clínica, surgiram variantes do gene *bla*_{CTX-M} que codificam enzima com atividade hidrolítica deste fármaco aumentada, como é o caso de CTX-M-15, identificada em espécies de enterobactérias em todo o mundo. O gene *bla*_{CTX-M-15} é comumente observado em plasmídios que, na maioria das vezes, carregam, também, genes responsáveis pela resistência a outras drogas (ROSSOLINI *et al.*, 2008).

1.5.1.4 *Klebsiella pneumoniae* CARBAPENEMASE - KPC

Os carbapenêmicos apresentam amplo espectro de atividade e constituem a terapia de escolha para pacientes com IRAS graves ou doenças infecciosas causadas por microrganismos resistentes às penicilinas e cefalosporinas disponíveis. Isso se deve à sua elevada afinidade pelas PBPs do tipo 2, estabilidade às β -lactamases, incluindo ESBLs e aquelas codificadas por genes cromossômicos (AmpC) e excelente permeabilidade através da membrana externa bacteriana (BERTONCHELI; HORNER, 2008).

Os carbapenêmicos são hidrolisados por um tipo específico de β -lactamase, as carbapenemases. Estas são divididas em três grandes grupos: classe A - serina carbapenemases, classe B - metalo- β -lactamases e classe D - oxacilinasas (BERTONCHELI; HÖRNER, 2008).

As carbapenemases da classe molecular A possuem capacidade de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos. Não são inativadas por EDTA e apenas parcialmente inibidas por ácido clavulânico e tazobactam (AMBLER, 1980; BERTONCHELI; HÖRNER, 2008; BUSH; JACOBY, 2010; DJAHMI *et al.*, 2014).

Dentre as carbapenemases de classe A, aquelas do tipo KPC destacam-se, sendo capazes de hidrolisar uma gama de β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas de terceira geração, monobactâmicos e carbapenêmicos. Isso restringe as opções terapêuticas e contribui para a elevada taxa de mortalidade dos pacientes infectados por amostras que expressam tais enzimas. As enzimas do tipo KPC não estão limitadas a linhagens de *K. pneumoniae*; atualmente, são descritas em diversas outras bactérias, tais como *E. coli*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica*, *K. oxytoca*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas putida* (CAMPOS *et al.*, 2016; VALIDI *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos tornou-se uma preocupação global, sendo a produção de carbapenemase mediada por genes denominados *bla*_{KPC}. Este é o mecanismo mais prevalente dentre os que conferem resistência a esta classe de antimicrobianos (DALMOLIN *et al.*, 2017).

O primeiro caso de *K. pneumoniae* produtora de KPC foi identificado na Carolina do Norte, em 2001. No Brasil, o grupo apresentou grande disseminação durante a última década, sendo KPC-2 a única variante da enzima reportada no País (SAMPAIO; GALES, 2016). O surgimento de enterobactérias resistentes a carbapenêmicos representa uma grave ameaça à saúde pública, já que restringe, de forma importante, as opções de tratamento (CAMPOS *et al.*, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2016; VALIDI *et al.*, 2016).

1.6 INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO

A ITU pode ser definida como a colonização e multiplicação microbiana no trato urinário, desde a uretra até os rins, principalmente através da via ascendente, mas, também, pelas vias hematogênica e linfática. É considerada uma das infecções bacterianas mais comumente relatadas e uma das principais razões para a prescrição de antimicrobianos, com 150 milhões de casos por ano em todo o mundo. Pode ocorrer em todas as idades, acometendo, principalmente, o gênero feminino (CURTISS; METHTHANANDA; DUCKETT, 2017; DIAS; COELHO; DORIGON, 2015; KUMAR *et al.*, 2016).

De forma simplificada, as ITUs são classificadas em dois tipos, com base no local acometido. Assim, a forma mais comum, localizada no trato urinário inferior, é também chamada de ITU não complicada, cistite ou infecção aguda do trato urinário inferior. Caso o quadro progrida, em especial, por consequência de tratamento inadequado, os rins podem ser acometidos e a doença denomina-se ITU complicada, pielonefrite ou infecção aguda do trato urinário superior. Pode ser acompanhada por obstrução do trato urinário e insuficiência renal, culminar

com sepse e evoluir para óbito (DIAS; COELHO; DORIGON, 2015; KUMAR *et al.*, 2016; NICOLLE, 2016).

Quando a infecção é sintomática, o quadro clínico pode ser bastante sugestivo para o diagnóstico, incluindo disúria, polaciúria, dor lombar e/ou suprapúbica, febre e calafrios (na pielonefrite), urgência miccional, nictúria, urina turva (pela presença de piúria) e/ou avermelhada (pela hematúria). Contudo, a confirmação requer urocultura, considerada padrão-ouro no diagnóstico da doença (PAULA *et al.*, 2015).

A maior prevalência da ITU no gênero feminino ocorre por características como a própria anatomia da uretra, mais curta e próxima ao ânus, favorecendo a infecção. No gênero masculino, além da uretra ser mais longa e distante do ânus, os fluidos prostáticos bactericidas contribuem para dificultar a infecção. Portanto, quando observada neste grupo de pacientes, a ITU está associada, frequentemente, a fatores predisponentes (DIAS; COELHO; DORIGON, 2015; KUMAR *et al.*, 2016). As características relacionadas ao hospedeiro que podem predispor à ITU incluem, além do gênero, fatores de risco gerais, tais como, fatores anatômicos ou funcionais que bloqueiam o fluxo normal da urina, uso de cateteres uretrais e imunidade (KÖVES; WULLT, 2016).

Segundo Paula *et al.* (2015), a ITU acomete de 1 a 3% das meninas em idade escolar, com aumento acentuado da incidência no início da atividade sexual. Calcula-se uma incidência anual de 7% em mulheres de todas as idades, atingindo um pico máximo entre 15 e 24 anos de idade e entre mulheres com mais de 65 anos.

No que se refere ao gênero masculino, a incidência da infecção urinária aumenta após os 50 anos de idade (HEAD, 2008). A instrumentação das vias urinárias, incluindo o cateterismo vesical, e a ocorrência de doença prostática são os fatores mais implicados no aumento da incidência no grupo. Entre idosos e em indivíduos hospitalizados, as taxas também são elevadas, tanto pelos fatores previamente citados como pela presença de comorbidades que aumentam a suscetibilidade às infecções. As taxas de ocorrência da doença são maiores em homossexuais masculinos, principalmente pela prática de sexo anal sem proteção, nos indivíduos com prepúcio intacto e em portadores de infecção pelo HIV (LOPES; TAVARES, 2004).

O diagnóstico da ITU é realizado, inicialmente, por exame clínico, seguido pela propedêutica laboratorial. A urocultura que, como já mencionado, é o padrão-ouro para diagnóstico da doença, é um procedimento trabalhoso, cujas principais desvantagens são custo e tempo necessário para liberação do resultado. Como a maioria dos uropatógenos são bactérias Gram negativas, Ágar Sangue e Ágar MacConkey são frequentemente utilizados (KUMAR *et al.*, 2016).

A terapia antimicrobiana empírica de amplo espectro deve ser orientada para mitigar o risco de emergência de resistência (WEISS *et al.*, 2015). No tratamento de pacientes com ITU, a escolha da terapia antimicrobiana deve ser baseada no conhecimento de: a) prevalência dos agentes etiológicos mais frequentemente observados para cada faixa etária e gênero na região e b) perfil de suscetibilidade antimicrobiana destes uropatógenos, que pode ser variável em cada comunidade e ao longo do tempo (CHIU, *et al.*, 2016; SWEI-LO *et al.*, 2013).

1.6.1 AGENTES ETIOLÓGICOS DE ITU

Na maioria dos casos, a ITU é causada por bactérias Gram negativas provenientes do intestino, em especial, *E. coli*. Os dados indicam que o uropatógeno é responsável por 70-95% das ITUs não complicadas. Outras enterobactérias são também agentes relevantes da doença, como *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* e *K. pneumoniae*, objeto deste estudo (BOYLE; ZEMBOWER, 2015; KÖVES; WULLT, 2016; KUMAR *et al.*, 2016; MOORE *et al.*, 2008).

A ITU é, mais frequentemente, associada a um único agente microbiano, mas, em especial no caso de IRAS, mais de um organismo pode ser detectado. Nesse caso, é importante a avaliação da possibilidade de contaminação e uma cultura de repetição pode ser necessária. Em pacientes com cateter permanente ou fístula colovesical, a presença de várias espécies bacterianas é um achado frequente (KÖVES; WULLT, 2016).

Entre os fatores que possibilitam a colonização do trato urinário por uropatógenos, sua permanência e capacidade de lesar o hospedeiro, citam-se a

expressão de adesinas, presença de flagelo e LPS, produção de toxinas, capacidade de formação de biofilme e sistema de sideróforos (KÖVES; WULLT, 2016).

1.6.2 INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO COMUNITÁRIA

A ITU está entre as doenças infecciosas mais prevalentes na comunidade (KÖVES; WULLT, 2016), representando um fardo para a saúde pública e para a sociedade, já que cerca de 40% das mulheres e 12% dos homens apresentam pelo menos um caso de ITU durante a sua vida adulta. A doença está associada a taxas elevadas de recorrência e, quando não estabelecida antibioticoterapia adequada, pode evoluir para sepse e óbito (BLANCO *et al.*, 2015). As enterobactérias são as principais causadoras de ITUs comunitárias. Há grande predomínio de *E. coli*, mas, o envolvimento de *K. pneumoniae* tem sido cada vez mais frequentemente relatado (CHIU *et al.*, 2016; LEE, *et al.*, 2013; RANJBAR *et al.*, 2016).

A detecção de enterobactérias produtoras de ESBLs associadas à etiopatogenia de ITU comunitária é cada vez mais frequente e o declínio da sensibilidade a antimicrobianos tem representado um desafio para a saúde pública. Apesar disso, em comparação com as IRAS, existem poucos estudos relacionados ao tema (CHIU *et al.*, 2016; GARCÍA-TELLO *et al.*, 2014; PIRES *et al.*, 2007).

A antibioticoterapia realizada de forma empírica, como ocorre na maioria dos casos de ITU, precisa ser embasada em dados epidemiológicos locais de prevalência e suscetibilidade antimicrobiana e, quando realizada de forma incorreta, pode predispor a uma hospitalização prolongada e resultar em custos médicos elevados (CHIU *et al.*, 2016). Considerando as taxas crescentes de resistência a antimicrobianos, torna-se essencial a monitoração local da prevalência da resistência, visando à orientação da melhor opção terapêutica empírica, auxiliando, assim, no controle da doença (SEKAR *et al.*, 2017).

2 JUSTIFICATIVA

A espécie *K. pneumoniae* compõe um dos grupos bacterianos de maior relevância clínica, o ESKAPE, e está classicamente associada a IRAS. Mais recentemente, seu envolvimento na etiopatogenia da ITU comunitária tem sido cada vez mais comumente observado. Este microrganismo apresenta um arsenal amplo de fatores de patogenicidade e expressa habilidade de acumular marcadores de resistência a antimicrobianos, em especial, a drogas β -lactâmicas. Os estudos cujo alvo é *K. pneumoniae* concentram-se em IRAS, havendo poucos dados relativos ao papel do organismo como agente de infecções comunitárias. No que se refere à ITU, deve-se destacar que, na maioria das vezes, o tratamento antimicrobiano é prescrito de forma empírica, o que torna fundamental o conhecimento dos agentes uropatogênicos mais prevalentes e do seu perfil de suscetibilidade a drogas antimicrobianas. Considerando-se os inúmeros fatores que interferem no estabelecimento do regime de tratamento a ser adotado, dados obtidos localmente contribuem para o sucesso da antibioticoterapia empírica, embasando sua escolha. Além disso, como a disseminação de marcadores de resistência a antimicrobianos é um processo dinâmico, a avaliação periódica desta propriedade é imprescindível. Assim, a escassez de dados relativos ao tema, a relevância clínica de *K. pneumoniae*, sua crescente associação com ITU comunitária e a disseminação da resistência antimicrobiana motivaram-nos a conduzir este estudo, que pretende contribuir para o melhor conhecimento do tema, gerando dados epidemiológicos locais que poderão auxiliar no delineamento de abordagem clínica, em especial, antibioticoterapia mais adequada.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a suscetibilidade antimicrobiana de amostras de *K. pneumoniae* isoladas de pacientes com ITU comunitária, com ênfase em antimicrobianos β -lactâmicos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a presença de genes associados à resistência a drogas β -lactâmicas - *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC-1,2,3} - em amostras de *K. pneumoniae* isoladas de pacientes com ITU comunitária.
- Analisar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das amostras de *K. pneumoniae* estudadas revelado por antibiograma.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A proposta foi aprovada pela Coordenação de Pesquisa & Desenvolvimento do Hermes Pardini e submetida ao COEP/UFMG.

4.1 ORIGEM E MANUTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram incluídas no estudo 519 amostras de *K. pneumoniae*, provenientes da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios (Departamento de Microbiologia, ICB, UFMG), conservadas em freezer -80 °C, em *Brucella Broth*¹ acrescido de glicerol² à concentração de 10%. As amostras (1 amostra/indivíduo) foram recuperadas da urina de pacientes diagnosticados com ITU comunitária pelo Hermes Pardini (Belo Horizonte, MG), no período de novembro de 2014 a abril de 2015. Entre elas, 453 (87,3%) e 66 (12,7%) foram obtidas de indivíduos dos gêneros feminino (média de idade: 46 anos) e masculino (média de idade: 64 anos), respectivamente.

Os procedimentos de isolamento, identificação e caracterização das amostras foram realizados pelo Hermes Pardini, seguindo os protocolos empregados para diagnóstico de ITU. As amostras de jato médio de urina foram semeadas em *chromID*TM *CPS*[®] *Elite Agar*³, com o auxílio de alça calibrada de 1 µL. Após incubação a 37 °C, em atmosfera de aerobiose, por 18 a 24 h, as placas foram examinadas. As culturas com contagem superior a 10⁵ UFC/mL foram encaminhadas para identificação, empregando-se testes bioquímicos convencionais. O perfil de suscetibilidade a antimicrobianos foi estabelecido pelo método de disco-difusão (CLSI, 2014). Quando necessário, a identificação e a

¹BBL, Sparks, MD, EUA

²Sciavicco, Belo Horizonte, MG, Brasil

³BioMérieux, Marcy l'Etoile, França

determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foram realizadas por método automatizado (*Vitek 2[®]Compact*)⁴.

Para desenvolvimento deste estudo, as amostras criopreservadas foram cultivadas em *Tryptic Soy Agar* (TSA)⁵, a 37 °C, por 24 h, em aerobiose. Foi realizado um repique inicial, para reativação das bactérias e obtenção de colônias isoladas. Após confirmação da pureza da cultura, foi feito um segundo repique, a partir de cinco colônias, para garantir a representatividade da amostra.

4.2 EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA das amostras bacterianas foi extraído conforme descrito por Martins e colaboradores (2014), com algumas modificações. Uma alíquota das culturas bacterianas foi suspensa em 350 µL de água Milli-Q^{®6} estéril até completa homogeneização. A suspensão foi fervida a 100 °C, por 15 min. A seguir, o material foi centrifugado por 3 min, a 3.622 x g, a 4 °C. A concentração de DNA foi determinada em espectrofotômetro NanoDrop 1000⁷, empregando-se comprimento de onda de 260 nm. A relação DNA/proteína também foi estimada, realizando-se leitura a 280 nm. As amostras de DNA foram diluídas em água Milli-Q[®] estéril, à concentração de 50 ng/µL. O material foi armazenado a -20 °C até o momento de sua utilização.

⁴BioMérieux

⁵BBL

⁶Millipore, Molsheim, França

⁷ThermoScientific, Wilmington, DE, EUA

4.3 PESQUISA DE MARCADORES GENÉTICOS ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A DROGAS β -LACTÂMICAS

O ensaio de PCR foi utilizado para pesquisa dos marcadores *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC-1,2,3}, associados à resistência a drogas β -lactâmicas, empregando-se *primers* e protocolos previamente descritos (QUADRO 2).

Um volume de 5 μ L dos produtos de PCR acrescido de 0,001% de *Gel Red*TM *Nucleic Acid Gel Stain*⁸ foi submetido à eletroforese em gel de agarose⁹ 1%, empregando-se marcador de peso molecular 100 pb¹⁰. Em todos os lotes de reação, foram empregados controles positivo (amostras gentilmente cedidas pela Prof.a Simone Gonçalves dos Santos, previamente isoladas de pacientes infectados) e negativo (água Milli-Q[®]). Os géis foram analisados em fotodocumentador *Gel Doc*TM *EZ Gel Documentation System*¹¹.

⁸Biotium, Fremont, CA, EUA

⁹Kasvi, São José dos Pinhais, Paraná

¹⁰Kasvi

¹¹Bio-Rad, Hercules, CA, EUA

Quadro 2 - Sequências dos *primers* e condições das reações de amplificação para pesquisa de determinantes genéticos de resistência a antimicrobianos β -lactâmicos em *Klebsiella pneumoniae*.

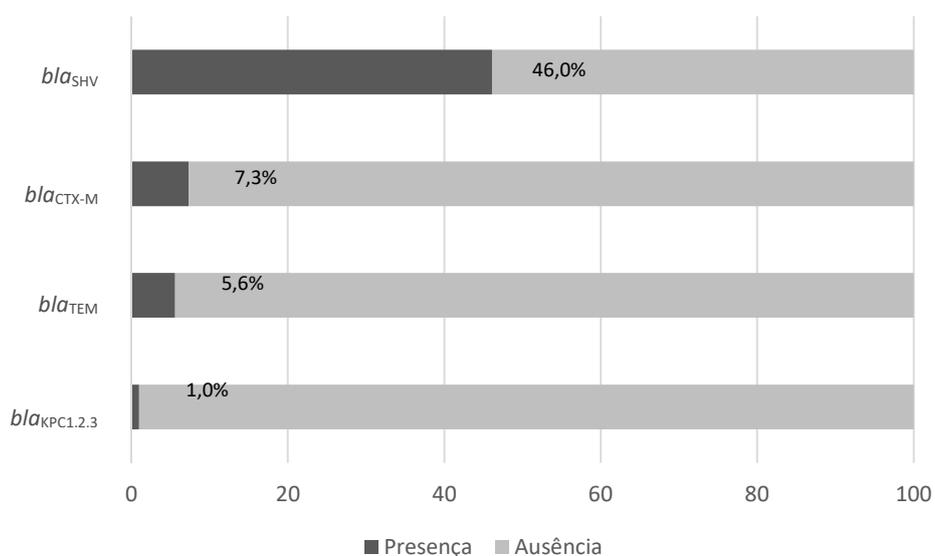
Gene	Resistência a	Primer (5'-3')	Amplicon (pb)	Condições da reação	Referência
<i>bla</i> _{CTX-M}		CGCTTTGCGATGTGCAG ACCGCGATATCGTTGGT	551		Paterson <i>et al.</i> , 2003
<i>bla</i> _{SHV}	β -lactâmicos	CTTTACTCGCCTTTATCGGC TTACCGACCGGCATCTTTCC	982	94°C, 5 min 30x: 56°C/1 min, 72°C/1 min, 94°C/1 min	
<i>bla</i> _{TEM}		GTGCGCGGAACCCCTATT TTACCAATGCTTAATCAGTGAGGC	968	45°C, 1 min 75 °C/5 min	Jones <i>et al.</i> , 2009
<i>bla</i> _{KPC-1,2,3}	Carbapenêmicos	ATGTCACTGTATCGCCGTCT TTTTTCAGAGCCTTACTGCCC	892		

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} E *bla*_{KPC-1,2,3}

Das 519 amostras analisadas, 268 (51,6%) apresentaram ao menos um dos quatro genes avaliados. Entre as amostras positivas, 31 (11,6% das amostras positivas e 6,0% do total de amostras) albergavam dois genes e 06 amostras (2,2% das amostras positivas e 1,2% do total de amostras) carregavam três dos genes investigados simultaneamente. *bla*_{SHV} foi o gene mais comumente observado, presente em 46,0% das amostras estudadas. As frequências de detecção de cada gene estão apresentadas no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Frequência relativa de *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC1,2,3} em amostras de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária.



De acordo com os laudos relativos aos testes microbiológicos fornecidos pelo Hermes Pardini, 33 (6,4%) amostras foram classificadas como produtoras de ESBLs, com base no teste de disco-aproximação (JARLIER *et al.*, 1988). Entre elas, 29 (87,9%) apresentaram pelo menos um dos genes pesquisados. Ainda nesse grupo, 22 (66,7%) albergavam *bla*_{CTX-M}, o que corresponde a 4,2% das amostras estudadas. O gene foi detectado também em 16 amostras triadas como ESBL negativas pelo teste fenotípico (frequência total de detecção de *bla*_{CTX-M} = 7,3%). Quatro amostras classificadas pelo teste de disco-aproximação como produtoras de ESBLs não apresentaram nenhum dos genes pesquisados.

Com base no fenótipo de resistência, que incluía resistência total ou intermediária aos carbapenêmicos, três amostras foram classificadas como possíveis produtoras de carbapenemases. No que se refere ao resultado da PCR, cinco amostras albergavam *bla*_{KPC}, entre elas, duas das três amostras triadas pelo antibiograma. A amostra *bla*_{KPC} negativa que foi classificada como possível produtora de carbapenemase pelo método fenotípico albergava os marcadores *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} e *bla*_{TEM}.

5.2 PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A DROGAS ANTIMICROBIANAS AVALIADO POR MÉTODO FENOTÍPICO

Os dados relativos ao perfil fenotípico de suscetibilidade antimicrobiana, conforme determinado pelo procedimento diagnóstico realizado pelo Hermes Pardini, estão apresentados nas Tabelas 1 (drogas β -lactâmicas) e 2 (demais classes de antimicrobianos). Na Tabela 1, estão apresentados, também, os resultados referentes à detecção de *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC1,2,3}.

No que se refere a drogas β -lactâmicas, observa-se que todas as amostras testadas expressaram resistência à ampicilina. Taxas elevadas de suscetibilidade a amoxicilina + ácido clavulânico, ceftriaxona, cefalotina e cefoxitina, variando entre 88,4 a 95,0%, foram detectadas.

Tabela 1 - Perfil de suscetibilidade a drogas β-lactâmicas de amostras de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária determinado por métodos fenotípico (antibiograma) e genotípico (PCR).

G	Amostras (n/%)	PCR				P	Antibiograma																
		<i>blaSHV</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaKPC1,2,3</i>		AMP	ASB	AMC	PPT	TIC	CRO	CEF	CFZ	CTX	CFO	CPM	ATM	IPM	MER	ERT		
1	6/1,2%	+	+	+	-	R	6/100%	2/33,3%	2/33,3%	2/33,3%	2/33,3%	5/83,3%	4/66,7%	5/83,3%	5/83,3%	1/16,7%	2/33,3%	5/83,3%			1/16,7%		
						S					1/16,7%	2/33,3%			2/33,3%						3/50,0%	2/33,3%	2/33,3%
						NT		4/66,7%		4/66,7%	4/66,7%					1/16,7%	1/16,7%	3/50,0%	4/66,7%	1/16,7%	3/50,0%	4/66,7%	3/50,0%
2	14/2,7%	+	+	-	-	R	14/100%	1/7,1%	1/7,1%	1/7,1%	1/7,1%	8/57,1%	7/50,0%	8/57,1%	8/57,1%		3/21,4%	8/57,1%					
						I					1/7,1%	2/14,3%											
						S		12/85,7%	1/7,1%		6/42,9%	7/50,0%			7/50,0%						3/21,4%	3/21,4%	3/21,4%
3	9/1,7%	+	-	+	-	R	9/100%		2/22,2%			1/11,1%	2/22,2%	1/11,1%	1/11,1%	2/22,2%		1/11,1%					
						S			7/77,8%	1/11,1%		8/88,9%	7/77,8%			7/77,8%	1/11,1%			1/11,1%	1/11,1%	1/11,1%	
						NT		9/100%	8/88,9%	9/100%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	8/88,9%	
4	6/1,2%	-	+	+	-	R	6/100%	1/16,7%				5/83,3%	5/83,3%	5/83,3%	5/83,3%		1/16,7%	5/83,3%					
						I			1/16,7%														
						S		5/83,3%			1/16,7%	1/16,7%			1/16,7%						2/33,3%	2/33,3%	2/33,3%
5	8/1,5%	-	-	+	-	R	8/100%		1/12,5%			1/12,5%	1/12,5%	1/12,5%	1/12,5%			1/12,5%					
						I			1/12,5%			1/12,5%											
						S		7/87,5%			7/87,5%	6/75,0%			8/100%	1/12,5%			1/12,5%	1/12,5%	1/12,5%	1/12,5%	
6	12/2,3%	-	+	-	-	R	12/100%	2/16,7%	2/16,7%	1/8,3%	1/8,3%	3/25,0%	3/25,0%	3/25,0%	3/25,0%		1/8,3%	3/25,0%					
						I			1/8,3%														
						S		9/75,0%	2/16,7%	2/16,7%	9/75,0%	9/75,0%			9/75,0%			9/75,0%			3/25,0%	3/25,0%	3/25,0%
7	208/40,1%	+	-	-	-	R	208/100%	1/0,5%	4/1,9%	1/0,5%	1/0,5%	5/2,4%	15/7,2%	5/2,4%	5/2,4%	3/1,4%	1/0,5%	5/2,4%					
						I			3/1,4%	1/0,5%	1/0,5%		5/2,4%			1/0,5%							
						S		201/96,6%	1/0,5%	1/0,5%	203/97,6%	188/90,4%			197/94,7%	1/0,5%			3/1,4%	3/1,4%	3/1,4%		
8	251/48,4%	-	-	-	-	R	251/100%	2/0,8%	5/2,0%	1/0,4%	2/0,8%	4/1,6%	14/5,6%	5/2,0%	5/2,0%	3/1,2%		5/2,0%					
						I			2/0,8%				2/0,8%										
						S		244/97,2%	2/0,8%	1/0,4%	247/98,4%	235/93,6%			242/96,4%	1/0,4%	1/0,4%	3/1,2%	3/1,2%	3/1,2%			
9	3/0,6%	-	-	-	+	R	3/100%	1/33,3%		1/33,3%	1/33,3%	1/33,3%		1/33,3%	1/33,3%			1/33,3%	1/33,3%	1/33,3%			
						S		3/100%			2/66,7%	3/100%			3/100%								
						NT		2/66,7%	2/66,7%	2/66,7%			2/66,7%	2/66,7%			3/100%	2/66,7%	2/66,7%	2/66,7%	2/66,7%		
10	2/0,4%	+	-	-	+	R	2/100%		1/50,0%			1/50,0%	1/50,0%	1/50,0%	1/50,0%			1/50,0%					
						S		1/50,0%			1/50,0%	1/50,0%			2/100%								
						NT		2/100%	2/100%	2/100%			1/50,0%	1/50,0%			2/100%	1/50,0%	2/100%	2/100%	2/100%		
TOTAL						R	519/100%	10/1,9%	18/3,5%	9/1,7%	10/1,9%	34/6,5%	52/10,0%	35/6,7%	35/6,7%	9/1,7%	8/1,5%	35/6,7%	1/0,2%	1/0,2%	2/0,4%		
						I			8/1,5%	3/0,6%	3/0,6%		8/1,5%			3/0,6%							
						S		493/95,0%	7/1,3%	4/0,8%	485/93,4%	459/88,4%			478/92,1%	4/0,8%	1/0,2%	19/3,7%	18/3,5%	18/3,5%			
						NT	509/98,1%			500/96,3%	502/96,7%			484/93,3%	484/93,3%	29/5,6%	507/97,7%	483/93,1%	499/96,1%	500/96,3%	499/96,1%		

Legenda: PCR, reação de polimerização em cadeia; G, grupo; n, número; P, padrão; R, resistência; I, resistência intermediária; S, suscetibilidade; NT, não testado; AMP, ampicilina; ASB, ampicilina + ácido sulbactâmico; AMC, amoxicilina + ácido clavulânico; PPT, piperacilina + tazobactam; TIC, ticarcilina + ácido clavulânico; CRO, ceftriaxona; CEF, cefalotina; CFZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CFO, ceftoxitina; CPM, ceftipime; ATM, aztreonam; IPM, imipenem; MER, meropenem; ERT, ertapenem.

Tabela 2 - Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de amostras de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de indivíduos com infecção do trato urinário comunitária.

Classe	Antimicrobiano	Número de amostras testadas	Resistência	Resistência intermediária	Suscetibilidade
	Levofloxacino	9	7/77,8%	0	2/22,2%
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino	519	52/10,0%	1/0,2%	466/89,8%
	Norfloxacino	519	51/9,8%	0	468/90,2%
Nitrofurânicos	Nitrofurantoína	519	113/21,8%	44/8,5%	362/69,7%
Sulfonamidas	Sulfametoxazol+Trimetoprima	519	81/15,6%	0	438/84,4%
Aminoglicosídeos	Amicacina	519	1/0,2%	2/0,4%	516/99,4%
Tetraciclinas	Tetraciclina	13	3/23,1%	1/7,7%	9/69,2%
Polipeptídicos	Polimixina B	2	0	0	2/100%

Relativo aos antimicrobianos das demais classes, os dados demonstram grande predomínio de suscetibilidade aos fármacos testados, à exceção de levofloxacino, para o qual se observou frequência de resistência de 77,8%. Ainda, considerando-se a soma das frequências de resistência e resistência intermediária, taxas próximas de 30% de resistência a nitrofurantoína e tetraciclina foram detectadas.

Para a classificação das amostras como multirresistentes, resistência intermediária foi considerada como resistência. Assim, foram observadas 51 amostras multirresistentes, definidas como aquelas que apresentaram resistência a pelo menos um agente de três ou mais classes de drogas antimicrobianas, de acordo com o preconizado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC) e pelo Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC) (MAGIORAKOS *et al.*, 2012).

6 DISCUSSÃO

Considerando que a ITU é uma das doenças de ocorrência mais frequente na comunidade, que o aumento das taxas de resistência a antimicrobianos é uma realidade preocupante e que o envolvimento de bactérias produtoras de β -lactamases no quadro é cada vez mais comumente observada, a vigilância regular dos padrões de suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos, no nível local, é fundamental para a orientação do tratamento empírico, realizado na maioria das vezes (BARRY *et al.*, 2017; CHERVET *et al.*, 2017; CHIU *et al.*, 2016). Neste contexto, realizou-se este estudo, que incluiu 519 amostras de *K. pneumoniae* provenientes de pacientes com ITU adquirida na comunidade, obtidas durante um período de cinco meses (novembro de 2014 a abril de 2015). O objetivo principal foi avaliar a presença de genes que codificam β -lactamases (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC}) nas amostras do microrganismo.

No que se refere ao grupo de estudo, como esperado (CHERVET *et al.*, 2017; ENA *et al.*, 2006; KINOUBANI *et al.*, 2017), a grande maioria dos pacientes acometidos por ITU era do gênero feminino. A própria anatomia da genitália feminina e características da uretra, mais curta e próxima ao ânus, favorecem a infecção neste grupo. Além dos pacientes do gênero masculino representarem a minoria do grupo, possuíam média de idade superior à dos indivíduos do gênero feminino (64 x 46 anos). Segundo dados da literatura, nos homens, a ITU está relacionada com situações específicas, como hipertrofia prostática e manipulação da uretra pelo uso sondas, por exemplo (DIAS; COELHO; DORIGON, 2015; KUMAR *et al.*, 2016).

Considerando a maior prevalência de *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} e *bla*_{TEM} em *K. pneumoniae*, estes genes foram selecionados para o estudo. É relevante mencionar que *bla*_{CTX-M} codifica apenas ESBLs, ao passo que *bla*_{SHV} e *bla*_{TEM} codificam tanto β -lactamases de espectro restrito quanto ESBLs e os *primers* empregados na presente investigação não permitem a diferenciação do subtipo de gene presente, o que seria, certamente, desejável.

Investigou-se, ainda, *bla*_{KPC1,2,3}, que codificam carbapenemases, devido à sua emergência na última década. Amostras bacterianas que exibem a habilidade de hidrolisar uma gama tão ampla de agentes β -lactâmicos, incluindo

carbapenêmicos, despertam grande preocupação, por reduzirem drasticamente as opções de tratamento e contribuírem para uma taxa elevada de mortalidade dos pacientes (VERAS *et al.*, 2011).

Deve-se ressaltar que, embora a síntese de ESBLs venha sendo cada vez mais comumente detectada em amostras bacterianas associadas à etiopatogenia de infecções adquiridas na comunidade, os estudos relativos ao tema ainda são muito mais escassos do que aqueles com enfoque em amostras associadas a IRAS (SILVA; LICOPAN, 2012).

A presença de pelo menos um dos marcadores de resistência foi observada em mais da metade das amostras estudadas (51,6%), com predominância de *bla*_{SHV}, (46,0%), sendo os percentuais de detecção de *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{KPC} bastante inferiores. Como o resultado do teste de disco-aproximação revela a presença de 6,4% de amostras produtoras de ESBL, é plausível inferir que a maior parte dos genes detectados codificam β-lactamases de espectro restrito, o que era esperado, por se tratar de amostras da comunidade.

A alta prevalência de *bla*_{SHV} pode estar associada ao fato de que, segundo alguns autores, *bla*_{SHV-1} é amplamente distribuído na espécie, observado na grande maioria das amostras de *K. pneumoniae* não produtoras de ESBLs, no cromossomo ou em plasmídio. Sua presença está associada com resistência à ampicilina (BRADFORD, 2001; PATERSON; BONOMO, 2005).

De acordo com a literatura, a distribuição das β-lactamases varia muito geograficamente e entre instituições de assistência à saúde. Os dados indicam que as ESBLs da família CTX-M são predominantes na América do Sul e na Espanha (PATERSON; BONOMO, 2005; SILVA; LINCOPAN, 2012). Seguindo *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} foi o segundo marcador genético mais comumente identificado neste estudo.

É importante destacar algumas limitações importantes relativas à análise dos resultados deste trabalho. A primeira delas refere-se à escassez de publicações relativas a *K. pneumoniae* como agente de infecções comunitárias. Ainda, a maior parte destes relatos discutem, especificamente, ESBLs e não β-lactamases de forma geral, como avaliado na presente investigação. O monitoramento de amostras bacterianas produtoras de ESBLs é, obviamente, de

extrema importância, mas, tratando-se de amostras da comunidade, a prevalência de β -lactamases de espectro estreito é superior, sendo interessante monitorar também sua distribuição. Cefalosporinas de primeira geração (por exemplo, cefalexina), assim como algumas penicilinas (por exemplo, amoxicilina), são empregadas na rotina clínica e sua eficácia pode ser comprometida mesmo pela ação de enzimas β -lactamases de espectro restrito. Deve-se lembrar, ainda, que genes responsáveis pela codificação destas enzimas são constantemente transferidos entre amostras bacterianas, o que aumenta a relevância do monitoramento de forma rotineira (ANVISA 2007; REMUME, 2018).

Foram detectadas, ainda, amostras que albergavam mais de um dos genes investigados. Observou-se predomínio da combinação *bla*_{SHV} + *bla*_{CTX-M} (14 amostras), seguida por *bla*_{SHV} + *bla*_{TEM} (9 amostras), *bla*_{CTX-M} + *bla*_{TEM} (6 amostras), *bla*_{SHV} + *bla*_{CTX-M} + *bla*_{TEM} (6 amostras) e *bla*_{SHV} + *bla*_{KPC} (2 amostras). Tais grupos apresentaram 21,4%, 44,4%, 83,3%, 83,3% e 0% de multirresistência (dados não apresentados), respectivamente, o que sugere que a combinação *bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM} está relacionada a essa característica.

Entre as amostras triadas como produtoras de ESBLs pelo teste de disco-aproximação, quatro não apresentaram nenhum dos genes pesquisados. Possivelmente, estas amostras albergam outros genes que codificam ESBLs, não investigados neste estudo. Ainda, 16 amostras ESBL negativas pelo teste fenotípico eram *bla*_{CTX-M} positivas, o que demonstra discordância entre os testes fenotípico e genotípico empregados. Considerando a especificidade da PCR, o resultado pode sugerir sensibilidade baixa do teste de disco-aproximação.

Ainda no grupo classificado como produtor de ESBL pelo teste fenotípico, os genes *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} também foram encontrados, o que pode indicar que o subtipo dos referidos genes devem corresponder àqueles relacionados a ESBLs, como, por exemplo, TEM-3, TEM-10, TEM-26, SHV-2, SHV-3 e SHV-115 (BUSH; JACOBY, 2010).

Relativo a carbapenemases, o método fenotípico (análise da resistência total ou intermediária aos carbapenêmicos) indicou sua possível produção por três amostras bacterianas. Por PCR, *bla*_{KPC} foi detectado em cinco amostras, demonstrando, mais uma vez, a sensibilidade mais elevada do método genético.

Como mencionado, uma amostra triada como positiva para carbapenemases pelo antibiograma foi negativa para a pesquisa de *bla*_{KPC1,2,3}. É possível que o fenótipo de resistência observado deva-se à presença de marcadores de resistência associados à síntese de carbapenemases não investigados nesta oportunidade, como *bla*_{GES}, que codifica as enzimas da família GES (Guiana Extended-Spectrum β -lactamase). Estas enzimas, embora tenham sido reconhecidas inicialmente como ESBLs, atualmente são classificadas como carbapenemases, devido a mudanças no perfil hidrolítico de suas variantes, que passou a incluir os carbapenêmicos. São exemplos de variantes da família GES com ação hidrolítica contra carbapenêmicos as GES-2, GES-4, GES-5, GES-6, GES-11, GES-14 e GES-18 (BEBRONE et al., 2013; BUSH & JACOBY, 2010). Tais enzimas (KPC e GES) são, geralmente, detectadas em amostras de *K. pneumoniae* associadas a IRAS (CHEN et al., 2014; NAAS, POIREL & NORDMANN, 2008).

Os testes fenotípicos para rastreio de ESBLs apresentam vantagens, como simplicidade e acessibilidade em relação aos testes genéticos. Assim, são muito úteis na rotina laboratorial. No entanto, ratificamos a importância de métodos de genética molecular confirmatórios, já que existe diferença na sensibilidade de testes fenotípicos e genotípicos. Em casos, por exemplo, em que a expressão da enzima seja fraca, a acurácia do teste fenotípico pode ser prejudicada (MACKENZIE, 2002; WIEGAND *et al.*, 2007).

Os dados do antibiograma são de grande importância para a estimativa e monitoramento da resistência de *K. pneumoniae* aos diferentes antimicrobianos utilizados na prática clínica. Tais dados costumam variar de uma região para a outra e, neste trabalho, como a grande maioria das amostras é de Minas Gerais, admite-se que os valores encontrados representam a realidade local.

Para esta análise, o perfil correspondente a resistência intermediária e resistência foram considerados. Mas, deve-se lembrar que, na rotina clínica, o mais seguro é evitar o emprego de drogas antimicrobianas para as quais um determinado organismo apresente resistência intermediária, porque as chances de sucesso terapêutico são reduzidas. Isto é feito sempre que possível.

O fato de que nem todos os antimicrobianos foram testados para todas as amostras estudadas dificulta a análise mais ampla do perfil de suscetibilidade

antimicrobiana observado. Assim, por exemplo, no que se refere aos fármacos β -lactâmicos, apenas ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, ceftriaxona, cefalotina e cefoxitina foram incluídos no antibiograma da maior parte das amostras. Em relação às demais classes de antimicrobianos, os dados obtidos para polimixina B, levofloxacino e tetraciclina são pouco representativos, visto que um número muito reduzido de amostras foi testado.

Entre os β -lactâmicos, observou-se resistência de 100% à ampicilina, dado relatado também por Oliveira *et al.* (2017), em Sete Lagoas, e por Alves, Edelweiss e Botelho (2016), em Florianópolis, para estudos que incluíram amostras de *K. pneumoniae* associadas à ITU de origem comunitária coletadas nos anos de 2015 e 2014, respectivamente. O resultado é semelhante àquele obtido por Ferreira *et al.* (2017), na cidade de Divinópolis, em investigação realizada em 2015, que detectou taxa de resistência de 84,3%.

Ainda entre os β -lactâmicos, a resistência detectada a amoxicilina + ácido clavulânico - 3,5% resistência e 1,5% resistência intermediária, foi menor do que observado nos trabalhos de Ferreira *et al.* (2017), em Divinópolis, e de Dias, Coelho e Dorigon (2015), em Santa Catarina. Esses autores relataram frequências de resistência de 21,3% e 50,0%, respectivamente. Em investigação conduzida em Florianópolis, Alves, Edelweiss e Botelho (2016) reportaram resistência de 17,7%. Assim, observa-se grande variação entre os resultados publicados.

Considerando que o procedimento adotado pelo Hermes Pardini, resultante de acordo com serviços de saúde, prevê a liberação do resultado do antibiograma como resistente a cefalosporinas e aztreonam, sempre que a amostra for triada como produtora de ESBL por meio do teste de disco-aproximação e o resultado sem edição não está disponível, não há como fazer uma análise acurada do perfil de suscetibilidade a esses fármacos nem avaliar a relação entre perfis genotípico e fenotípico. O objetivo do procedimento é evitar a indicação desses antimicrobianos para diminuir a pressão seletiva e por ser considerado que há grande chance de falha terapêutica.

Ainda, pela mesma razão, embora os dados sugiram que as amostras que albergavam *bla*_{CTX-M} e *bla*_{TEM} simultaneamente apresentavam frequência de resistência às drogas β -lactâmicas, em especial, ceftriaxona, cefalotina,

ceftazidima, cefotaxima e aztreonam, mais elevada, há uma limitação importante a essas análises. Em relação à análise de multirresistência, tais antimicrobianos citados não foram considerados, utilizando-se para o grupo dos β -lactâmicos, a resistência à ampicilina, que foi de 100%.

Entre os antimicrobianos de outras classes testados para todas as amostras, amicacina foi aquele para o qual a menor taxa de resistência foi relatada - 0,2% resistência e 0,4% resistência intermediária. Valores reduzidos também foram observados em investigações de Ferreira *et al.* (2017) e Oliveira *et al.* (2017), 3,8% e 1,6% de resistência, respectivamente. No entanto, trata-se de uma medicação de uso injetável, que não está disponível na relação municipal de medicamentos (REMUME) de 2018, sendo classificada como componente estratégico e reservada para uso restrito em infecções por microrganismos resistentes à gentamicina. Além disso, apresenta efeitos colaterais importantes, como nefrotoxicidade e ototoxicidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012; RENAME, 2017).

Para sulfametoxazol + trimetoprima, taxa de resistência de 15,6% foi observada, valor semelhante ao descrito por Oliveira *et al.* (2017), que relatou percentual de resistência de 17,2% para *K. pneumoniae*. Para *E. coli*, o valor foi bastante superior, chegando a 31,1%. No trabalho de Ferreira e colaboradores (2017), valores ainda mais elevados foram encontrados, quais sejam, 24,8% para *K. pneumoniae* e 38,6% para *E. coli*.

Em relação às quinolonas ciprofloxacino e norfloxacino, índices de resistência inferiores àqueles já reportados, cerca de 10,0%, foram observados. Reis *et al.* (2016), estudando amostras de *K. pneumoniae* isoladas de ITU comunitária, nos anos de 2010 a 2014, na cidade de Salvador, Bahia, detectaram taxa de 14,6%. Oliveira *et al.* (2017), relataram, para amostras isoladas em Sete Lagoas, resistência de 15,5% e, em investigação conduzida por Santana *et al.* (2012) em São Luiz, Maranhão, também com uropatógenos isolados de pacientes com ITU comunitária, 19% das amostras de *K. pneumoniae* expressou resistência ao ciprofloxacino. Ferreira e colaboradores (2017) reportaram frequência bastante superior de resistência, 29,5%. No que se refere a norfloxacino, Oliveira *et al.* (2017) e Alves, Edelweiss e Botelho (2016), correspondentes a 18,0% e 19,5%, respectivamente.

A maior taxa de resistência a antimicrobianos não incluídos no grupo de β -lactâmicos foi observada para nitrofurantoína (21,8% resistência e 8,5% resistência intermediária; total 30,3%). Este dado é muito importante, visto que o protocolo de tratamento de pacientes com ITU elaborado pela Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (2016) traz destacada a informação relativa à eficiência deste antimicrobiano para o tratamento da doença, considerando a suscetibilidade de *E. coli*, uropatógeno mais prevalente. Este mesmo protocolo reforça que a ITU não complicada deve receber tratamento empírico, sendo a urocultura indicada apenas na suspeita de resistência ou outras complicações. Sendo assim, é plausível supor que o tratamento empírico realizado com nitrofurantoína pode resultar em falha terapêutica em casos de ITU causada por *K. pneumoniae*, um uropatógeno de reconhecida importância.

De fato, Ferreira e colaboradores (2017) relataram taxa de resistência à nitrofurantoína de 65,7% para o gênero *Klebsiella*, que representava 13,1% das amostras relacionadas à ITU estudadas pelo grupo. Os pesquisadores reportaram, ainda, 90,0% de resistência para *Proteus*, que compunha 5,4% da amostragem, e 9,0% de resistência para *E. coli*, que representava 72,8% das amostras. Brunton *et al.* (2012) reforçam que, segundo dados epidemiológicos, *E. coli* e *Enterococcus* são geralmente suscetíveis à nitrofurantoína, enquanto a resistência ao antimicrobiano entre amostras de *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterobacter* pode comprometer o sucesso terapêutico.

Pontuamos que, segundo dados da literatura, enterobactérias produtoras de ESBLs, frequentemente, abrigam plasmídios que também carregam genes que codificam resistência a aminoglicosídeos, sulfametoxazol + trimetoprim e quinolonas (PATERSON; BONOMO, 2005). O fato indica que, apesar da antibioticoterapia empírica ser praticada, pode predispor ao aumento das taxas de resistência a antimicrobianos (FARIA; PESSALACIA; SILVA, 2016).

Sobre a análise de multirresistência, em que 51 amostras foram classificadas como tal, existe a possibilidade de que este resultado esteja subestimado, já que nem todas as amostras foram testadas para todos os antimicrobianos, havendo amostras com um número maior de testes em relação às outras. Porém, o padrão destes testes segue a lógica de que, sendo a amostra sensível aos principais antimicrobianos testados, não há necessidade de se estender estes

testes para outros antimicrobianos menos utilizados e, sendo assim, tais amostras teriam pouca probabilidade de serem de fato multirresistentes, o que sugere que o resultado apresentado esteja bem próximo à realidade.

7 SÍNTESE DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Em síntese, a análise dos dados gerados por esta investigação e fornecidos pelo Hermes Pardini indicam que:

- A maioria dos pacientes acometidos por ITU era do gênero feminino. Os pacientes do gênero masculino, além de representarem a minoria do grupo, possuíam média de idade superior à dos indivíduos do gênero feminino (64 x 46 anos).
- Mais de metade (51,6%) das amostras albergava ao menos um dos genes pesquisados, sendo *bla_{SHV}* o gene mais prevalente (46,1%); *bla_{CTX-M}* (7,3%), *bla_{TEM}* (5,6%) e *bla_{KPC}* (0,96%) foram observados em percentual bastante inferior. Foram detectadas amostras que albergavam dois (6,0%) e três (1,2%) genes simultaneamente; os dados sugerem associação entre a combinação *bla_{CTX}/bla_{TEM}* e maior resistência antimicrobiana.
- O resultado do teste de disco-aproximação revelou a presença de 6,4% de amostras produtoras de ESBLs, indicando que, provavelmente, a maior parte dos genes detectados neste estudo codificam β -lactamases de espectro estreito, o que era esperado, por se tratar de amostras da comunidade.
- Em relação ao perfil de suscetibilidade antimicrobiana, observou-se ótima atividade de amicacina (0,6% quando resistência e resistência intermediária são consideradas), enquanto para ampicilina houve 100% de resistência. Apesar dos dados indicarem, no geral, ampla suscetibilidade, a taxa de resistência/resistência intermediária elevada à nitrofurantoína (30,3%) merece atenção.
- Frequência relativa de multirresistência de 9,8% foi observada. Neste grupo, 80,4% das amostras albergavam pelo menos um dos marcadores investigados, o que sugere que estes genes estejam relacionados ao perfil observado.

- Os testes fenotípicos para rastreio de ESBLs e KPC apresentam vantagens, como simplicidade e acessibilidade. Entretanto, o teste genético é importante para a detecção da presença de possíveis marcadores que possam não estar se expressando, ou ter expressão fraca no momento da avaliação.

As β -lactamases pesquisadas são importantes marcadores de resistência carregados por *K. pneumoniae* associada à ITU comunitária, presentes na maior parte das amostras. Mesmo β -lactamases de espectro estreito, mais comuns em amostras comunitárias, são capazes de comprometer a eficácia da antibioticoterapia, considerando os fármacos comumente utilizados para tratamento de pacientes com infecções comunitárias nos serviços de atenção primária à saúde, que conta com os β -lactâmicos, como cefalosporinas de primeira geração e penicilinas, sendo importante seu monitoramento, juntamente com a avaliação das taxas de resistência a tais antimicrobianos.

A continuação desta investigação é desejável, incluindo a pesquisa de genes que codificam outras β -lactamases, a tipagem dos genes já detectados e a pesquisa de marcadores associados a outros mecanismos de resistência antimicrobiana, bem como o estudo da expressão da característica. Assim, seria possível a construção de um perfil mais completo relativo a amostras de *K. pneumoniae*, considerado um organismo de grande relevância clínica, mas, ainda tão pouco conhecido no que se refere a infecções de origem comunitária.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAR, S. *et al.* Distribution of CTX-M group I and group III β -lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* in Lahore, Pakistan. *Microbial Pathogenesis*, v.103, p. 8-12, 2017.

ADLER, A.; KATZ, D. E.; MARCHAIM, D. The Continuing Plague of Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 30, n. 2, p. 347-375, 2016.

AGGA, G. E. *et al.* Antimicrobial-Resistant Bacterial Populations and Antimicrobial Resistance Genes Obtained from Environments Impacted by Livestock and Municipal Waste. *Plos One*, v. 10, n. 7, p. 1-19, 2015.

ALVAREZ, M. *et al.* Epidemiology of conjugative plasmid mediated AmpC beta-lactamases in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 48, n. 2, p. 533-7, 2004.

ALVES, D. M. S.; EDELWEISS, M.K.; BOTELHO, L. J. Infecções comunitárias do trato urinário: prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos na cidade de Florianópolis. *Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade*, v.11, n. 38, p.1-12, 2016.

AMBLER, R. P. The Structure of Beta-Lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980.

AMINOV, R. I.; MACKIE, R. I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*, v. 271, n. 2, p. 147-161, 2007.

ANVISA. *Antimicrobianos – Bases Teóricas e Uso Clínico*: III Antimicrobianos: principais grupos disponíveis para uso clínico. 1 B-lactâmicos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/pas_web/modulo1/lactamicos.htm>. Acesso em: 28 de janeiro de 2017.

BABIC, M.; HUJER, A. M.; BONOMO, R. A. What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resistance Updates*, v. 9, n. 3, p. 142-156, 2006.

BEBRONE, C.; *et al.* GES-18, a new carbapenem hydrolyzing GES-type β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* that contains Ile80 and Ser170 residues. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.57, n.1, p.396-401, 2013.

BARRY, M.S.*et al.* Antimicrobial susceptibility profile of community-acquired urinary tract infection in adults: A seven months prospective cross-sectional study in Dakar Town, Senegal. *African Journal of Urology*, v. 23, n. 2, p. 166–171, 2017.

BERTONCHELI, C. M.; HÖRNER, R. Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 4. p. 577-599, 2008.

BLANCO, V. M. *et al.* Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 34, n. 9, p. 559-565, 2016.

BOYLE, D. P.; ZEMBOWER, T. R. Epidemiology and Management of Emerging Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria: Extended-Spectrum β -Lactamases and Beyond. *Urologic Clinics of North America*, v. 42, n. 4, p. 493-505, 2015.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. *Relação Nacional de medicamentos essenciais: RENAME 2017*. Brasília, 2017. 210p. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_renome_2017.pdf>. Acesso em: 28 de janeiro de 2018.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated Functional Classification of Beta - Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 3, p. 969-976, 2010.

CAMPOS, A. C. *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K pneumoniae*: A systematic review. *American Journal of Infection Control*, v. 44, n. 11, p. 1374-1380, 2016.

CAHILL, S.T. *et al.* Cyclic Boronates Inhibit All Classes of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 24, n.61, p.1-39, 2017.

CAMPOS, M. A. *et al.* Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and Immunity*, v. 72, n. 12, p. 7107-7114, 2004.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Facility Guidance for Control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). Disponível em: <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf>. Acesso em 10 de janeiro de 2018.

CERDEIRA, L. *et al.* Draft Genome Sequence of a Hospital-Associated Clone of *Klebsiella pneumoniae* ST340/CC258 Coproducing RmtG and KPC-2 Isolated from a Pediatric Patient. *Genome Announcements*, v. 4, n. 6, p.1-2, 2016.

CESCUTTI, P.; BENEDETTO, G.; RIZZO, R. Structural determination of the polysaccharide isolated from biofilms produced by a clinical strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Carbohydrate Research*, v. 430, p. 29–35, 2016.

CHAVES, J. *et al.* SHV - 1 β -lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 45, n. 10, p. 2856-2861, 2001.

CHEN, P. *et al.* Activity of imipenem against *Klebsiella pneumoniae* biofilms in vitro and in vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 58, n. 2, p.1208 – 1213, 2014.

CHEN, L.; *et al.* Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends in Microbiology*, v.22, n.12, p.686-696, 2014.

CHENOWETH, C. E.; SAINT, S. Urinary Tract Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 30, n. 4, p. 869-885, 2016.

CHERVET, D.*et al.* Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. *Médecine et Maladies Infectieuses*, p. 1-5, 2017.

CHILDERS, B. M. *et al.* MrkD1P from *Klebsiella pneumoniae* strain IA565 allows for coexistence with *Pseudomonas aeruginosa* and protection from protease-mediated biofilm detachment. *Infection and Immunity*, v. 81, n. 11, p. 4112–4120, 2013.

CHIU, C. C. *et al.* Etiologies of community-onset urinary tract infections requiring hospitalization and antimicrobial susceptibilities of causative microorganisms. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 8, n.16, p.1684-1182, 2016.

COQUE, M. T. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M -10 extended-spectrum β - lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 46, n. 2, p. 500-510, 2002.

CURTISS, N.; METHTHANANDA, I.; DUCKETT, J. Urinary tract infection in obstetrics and gynaecology. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*, v. 27, n. 9, p. 261-265, 2017.

DALMOLIN, T. V. *et al.* Detection and analysis of different interactions between resistance mechanisms and carbapenems in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 48, n. 3, p. 493-498, 2017.

DAMACENO, N. B.; FARIAS, L. R. Relação existente entre biofilmes bacterianos, quorum sensing, infecções e resistência a antibióticos: uma revisão bibliográfica. *Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde*, v. 3, n. 1, p. 46-51, 2016.

DIAS, I. O. V.; COELHO, A. M.; DORIGON, I. Infecção do trato urinário em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em estudo realizado de 2009 a 2012. *Revista Saúde (Santa Maria)*, v. 41, n. 1, p. 209-218, 2015.

DJAHMI, N. *et al.* Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *BioMed Research International*, v. 2014, n. 2014, p. 1-11, 2014.

DOORDUIJN, D. J. *et al.* Complement resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae*. *Immunobiology*, v. 221, n. 10, p. 1-8, 2016.

DZIRI, R. *et al.* Characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Citrobacter* obtained in environmental samples of a Tunisian hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 86, n. 2, p.190-193, 2016.

ENA, J. *et al.* Epidemiology of urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Urology*, v. 68, n. 6, p. 1169-1174, 2006.

EUZÉBY, J. P. Genus *Klebsiella*. *List of prokaryotic names with standing in nomenclature*: 2018. Disponível em: <http://www.bacterio.net/klebsiella.html>. Acesso em: 09 de janeiro de 2018.

FARIA, T. V.; PESSALACIA, J. D. R.; SILVA, E. S. Fatores de risco no uso de antimicrobianos em uma instituição hospitalar: reflexões bioéticas. *Acta Bioethica*, v. 22, n. 2, p. 321-329, 2016.

FERREIRA, V. M. *et al.* Infecções comunitárias do trato urinário em Divinópolis, MG: avaliação do perfil de resistência bacteriana e do manejo clínico. *Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade*, v.12, n. 39, p. 1-13, 2017.

FERTAS-AISSANI, R. *et al.* Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie (Paris)*, v. 61, n. 5, p. 209-216, 2013.

GARCÍA-TELLO, A. *et al.* Extended-spectrum beta-lactamases in urinary tract infections caused by *Enterobacteria*: Understanding and guidelines for action. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*, v. 38, n. 10, p. 678-684, 2014.

GONÇALVES, R. L. *et al.* Outbreaks of colistin-resistant and colistin-susceptible KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Brazilian intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, v. 94, n. 4, p. 322-329, 2016.

GRUMACH, S.; ROSÁRIO, N. Alergia a beta-lactâmicos na clínica pediátrica: uma abordagem prática. *Journal of Pediatrics*, v. 82, n. 5, p. 181-182, 2006.

HANSON, N. D. *et al.* Surveillance of community-based reservoirs reveals the presence of CTX-M, imported AmpC, and OXA-30 beta-lactamases in urine isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a U.S. community. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 52, n.10, p. 3814-6, 2008.

HEAD, K. A. Natural approaches to prevention and treatment of infections of the lower urinary tract. *Alternative Medicine Review*, v.13, n. 3, p. 227-244, 2008.

HUANG, Y. J. *et al.* MrkF is a component of type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae*. *Research in Microbiology*, v. 160, n. 1, p. 71-79, 2009.

JACOBY, G. A.; MUNOZ-PRICE, L. S. The new beta-lactamases. *The New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 4, p. 380–391, 2005.

JAPONI-NEJAD, A. GHAZNAVI-RAD, E. VAN-BELKUM, A. Characterization of Plasmid-Mediated AmpC and Carbapenemases among Iranain Nosocomial Isolates of *Klebsiella pneumoniae* Using Phenotyping and Genotyping Methods. *Osong Public Health and Research Perspectives*, v. 5, n. 6, p. 333-338, 2014.

JARLIER, V., *et al.* Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Disease*, v.10, n.4, p.867-878. 1988.

JUNIOR, M. A. S.; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua Detecção no Laboratório Clínico. *NewsLab* - edição 63. 2004.

KIM, J. O. *et al.* Outbreak of KPC-2-producing Enterobacteriaceae caused by clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* ST307 carrying an IncX3-type plasmid harboring a truncated Tn4401a. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, v. 87, n.4, p.343-348, 2017.

KINOUE, S. *et al.* Diagnostic strategies for urinary tract infections in French general practice. *Medicine Et Maladies Infectieuses*, v.47, n. 6, p. 401-408, 2017.

KLEMM, P.; SCHEMBRI, M. A. Bacterial adhesins: function and structure. *International Journal of Medical Microbiology*, v. 290, n.1, p. 27–35, 2000.

KÖVES, B.; WULLT, B. The Roles of the Host and the Pathogens in Urinary Tract Infections. *European Urology Supplements*, v.15, n. 4, p. 88–94, 2016.

KUMADE, E. *et al.* A case of lobar pneumonia and sepsis with death caused by invasive *Klebsiella rhinoscleromatis* infection. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v. 22, n.10, p. 707-711, 2016.

KUMAR, M. S. *et al.* Recent advances in biosensor based diagnosis of urinary tract infection. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 80, n. 15, p. 497–510, 2016.

KUMAR, R. *et al.* Prediction of β -lactamase and its class by Chou's pseudo-amino acid composition and support vector machine. *Journal of Theoretical Biology*, v. 365, n. 21, p. 96-103, 2015.

LANGSTRAAT, J.; BOHSE M.; CLEGG, S. Type 3 fimbrial shaft (MrkA) of *Klebsiella pneumoniae*, but not the fimbrial adhesin (MrkD), facilitates biofilm formation. *Infection and Immunity*, v. 69, n. 9, p. 5805–5812, 2001.

LEE, C.H. *et al.* Risk factors of community-onset urinary tract infections caused by plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 48, n. 3, p. 269-75, 2015.

LIN, H. A. *et al.* Regulator of the mucoid phenotype A gene increases the virulent ability of extended-spectrum beta-lactamase producing serotype non-K1/K2 *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 49, n. 4, p. 494–501, 2016.

LIN, T. H. *et al.* IscR Regulation of Type 3 Fimbriae Expression in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. 1984, p. 1-12, 2017.

LIU, C. *et al.* Photodynamic inactivation of *Klebsiella pneumoniae* biofilms and planktonic cells by 5-aminolevulinic acid and 5-aminolevulinic acid methyl ester. *Lasers in Medical Science*, v. 31, n. 3, p. 557-565, 2016.

LIVERMORE, D. M.; BROWN, D. F. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 48, n. 1, p. 59-64, 2016.

LIVERMORE, D. M. β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 8, n. 4, p. 557–584, 1995.

LLARRULL, L. I. *et al.* The future of the β -lactams. *Current Opinion in Microbiology*, v. 13, n. 5, p. 551–557, 2010.

LOPES, H. V.; TAVARES, W. Projeto Diretrizes - Associação Médica Brasileira (AMB) e Conselho Federal de Medicina (CFM); Sociedade Brasileira de Infectologia e Sociedade Brasileira de Urologia. Infecções do Trato Urinário: Diagnóstico, 2004.

LOPES, A. C. S. *et al.* Occurrence and analysis of irp2 virulence gene in isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. from microbiota and hospital and community-acquired infections. *Microbial Pathogenesis*, v. 96, p. 15-19, 2016.

LUZZARO, F. *et al.* Trends in production of extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteria* of medical interest: report of the second Italian nationwide survey. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, n. 5, p. 1659-64, 2006.

MACKENZIE, F. M.; MILLER C. A.; GOULD, I.M. Comparison of screening methods for TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamase detection. *Clinical Microbiology Infection*, v. 8, n. 11, p.715-724, 2002.

MAFRA, A. A. *et al.* *Protocolos de atenção à saúde: infecção urinária*. Secretaria Municipal de Belo Horizonte. Belo Horizonte, 2016. 44p. Disponível em: <http://portalpbh.pbh.gov.br/pbh/ecp/files.do?evento=download&urlArqPlc=protocolo_infeccao_urinaria_CP.pdf>. Acesso em: 28 de janeiro de 2018.

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 Infections*, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.

MAISONNEUVE, E. *et al.* An observational study of phagocytes and *Klebsiella pneumoniae* relationships: different behaviors. *Microbes and Infection*, v. 19, n. 4-5, p. 259-266, 2017.

MANSOUR, W. *et al.* Outbreak of colistin-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Tunisia. *Global Antimicrobial Resistance*, v. 10, p. 88-94, 2017.

MOEMEN, D.; MASALLAT, D.T. Prevalence and characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from intensive care units of Mansoura University hospitals. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 4, n. 1, p. 7-41, 2017.

MOORE, E. E. *et al.* Sexual intercourse and risk of symptomatic urinary tract infection in post-menopausal women. *Journal of General Internal Medicine*, v. 23, n. 5, p. 595-9, 2008.

MOXON, C. A.; PAULUS, S. Beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* infections in children. *Journal of Infection*, v. 72, p. S41-S49, 2016.

NAAS, T.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 14, n. 1, p. 42–52, 2008.

NICOLLE, L. E. Urinary Tract Infections in the Older adult. *Clinics in Geriatric Medicine*, v. 32, p. 523–538, 2016.

OLIVEIRA, A. A. *et al.* Persistência do efeito otoprotetor. Qual a duração da otoproteção à amicacina?. *Jornal Brasileiro de Otorrinolaringologia*, v. 78, n. 6, p. 47-50, 2012.

OLIVEIRA, C. F. *et al.* Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de β -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.

OLIVEIRA, C. X. *et al.* Perfil de resistência dos microrganismos mais prevalentes em uroculturas no laboratório de análises clínicas Laboranálise em Sete Lagoas, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Ciências da Vida*, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2017.

ORLICEK, S. L. Aztreonam. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, v. 110, n. 1, p. 45-50, 1999.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 80, p. 629–661, 2016.

PATERSON, D. L. *et al.* Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended spectrum β – lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, n. 30, p. 473-480, 2000.

PATERSON, D. L. *et al.* Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 47, p. 3554–3560, 2003.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R.A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology*, v.18, n4, p. 657-86, 2005.

PAULA, M. L. A. *et al.* Infecção do trato urinário em mulheres com vida sexual ativa. *Journal of Basic Microbiology*, v. 103, n. 2, p. 37-41, 2015.

PIRES, M. C. S. *et al.* Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 6, p. 643-647, 2007.

PODSCHUN, R. *et al.* Serotypes, hemagglutinins, siderophore synthesis, and serum resistance of *Klebsiella* isolates causing human urinary tract infections. *Journal of Infection Diseases*, v. 168, n. 6, p. 1415-1421, 1993.

PODSCHUN, R.; FISCHER, A.; ULLMAN, U. Expression of putative virulence factors by clinical isolates of *Klebsiella planticola*. *Journal of Medical Microbiology*, v. 49, p. 115–119, 2000.

PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE. Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte. Gerência de Assistência Terapêutica. Comissão de Farmácia e terapêutica. *Relação Municipal de medicamentos*: REMUME. Belo Horizonte, 2018. 46p. Disponível em: <<http://portal6.pbh.gov.br/dom/iniciaEdicao.do?method=DetalheArtigo&pk=1189687>>. Acesso em: 28 de janeiro de 2018.

RANJBAR, R. *et al.* Distribution of virulence genes and genotyping of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-UTI). *Microbial Pathogenesis*, v. 100, p. 244-249, 2016.

POIREL, L.; NORDMANN, P. Emerging carbapenemases in Gram – negative aerobes. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 8, n. 6, p. 321-333, 2002.

REDFERN, J.*et al.* Application of Cu-FAU nanozeolites for decontamination of surfaces soiled with the ESKAPE pathogens. *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 253, p. 233-238, 2017.

REGUÉ, M. *et al.* A gene, *uge*, is essential for *Klebsiella pneumoniae* virulence. *Infection and Immunity*, v. 72, n. 1, p. 54–61, 2004.

REIS, A. C. C. *et al.* Ciprofloxacin resistance pattern among bacteria isolated from patients with community-acquired urinary tract infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v. 58, n. 53, p. 1-6, 2016.

RICE, L. B.; BONOMO, R. A. Mechanism of resistance to antibacterial agents. In: MURRAY P.R., (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. 9. ed. Washington, D. C: *American Society for Microbiology*, p. 1114-1145, 2007.

ROBIN, F. *et al.* CMT-type beta-lactamase TEM-125, an emerging problem for extended-spectrum beta-lactamase detection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, n. 7, p. 2403-2408, 2006.

ROBIN F. *et al.* Evolution of TEM-type enzymes: Biochemical and genetic characterization of two new complex mutant TEM enzymes, TEM -51 and TEM -152, from a single patient. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, n. 4, p. 1304-1309, 2007.

ROSEN, D. A. *et al.* Utilization of an intracellular bacterial community pathway in *Klebsiella pneumoniae* urinary tract infection and the effect of fimK on type 1 pilus expression. *Infection and Immunity*, v. 76, n. 7, p. 3337-3345, 2008.

ROSSOLINI, G. M.; D'ANDREA, M. M.; MUGNAIOLI, C. The spread of CTX-M type extended-spectrum b-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 14, n. 1, p.33-41, 2008.

SAHLY, H. *et al.* Extended-spectrum beta-lactamase production is associated with an increase in cell invasion and expression of fimbrial adhesins in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 52, n. 9, p. 3029-3034, 2008.

SAMPAIO, J. L. M.; GALES, A. C. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brazil: focus on β -lactams and polymyxins. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 47, n. 1, p. 31–37, 2016.

SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, v. 2016, n. 2016, p. 1-9, 2016.

SANTANA, T. C. F. S. *et al.* Prevalência e resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos de primeira escolha nas infecções do trato urinário no município de São Luís-MA. *Revista de Patologia Tropical*, v. 41, n. 4, p. 409-418, 2012.

SATPATHY, S. *et al.* Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 7, p. 56-66, 2016.

SCHEMBRI, M. A. *et al.* Capsule and Fimbria Interaction in *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Immunity*, v. 73, n. 8, p. 4626–4633, 2005.

SEDIGHI, M. *et al.* Molecular detection of β -lactamase and integron genes in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* by multiplex polymerase chain reaction. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 50, n. 3, p. 321-328, 2017.

SEKAR, R. *et al.* Prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in rural South India. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, v. 5, p. 80-85, 2016.

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SINGH, S. K. *et al.* Antibiotic resistance determinants and clonal relationships among multidrug-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial Pathogenesis*, v. 110, p. 31-36, 2017.

SJOSTROM, A. E. *et al.* The SfaXII protein from newborn meningitis *E. coli* is involved in regulation of motility and type 1 fimbriae expression. *Microbial Pathogenesis*, v. 46, n. 5, p. 243–252, 2009.

SOARES, L. A.; NISHI, C. Y. M.; WAGNER, H. L. Isolamento das bactérias causadoras de infecções urinárias e seu perfil de resistência aos antimicrobianos. *Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade*, v. 2, n. 6, p. 84-92, 2006.

SPERANDEO, P.; MARTORANA, A. M.; POLISSI, A. Lipopolysaccharide biogenesis and transport at the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1862, n. 11, p. 1451-1460, 2017.

STAHLHUT, S. G. *et al.* Population Variability of the FimH Type 1 Fimbrial Adhesin in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Bacteriology*, v. 191, n. 6, p. 1941-1950, 2009.

STAHLHUT, S. G. *et al.* Structural and Population Characterization of MrkD, the Adhesive Subunit of Type 3 Fimbriae. *Journal of Bacteriology*, v. 195, n. 24, p. 5602–5613, 2013.

STRUVE, C.; BOJER, M.; KROGFELT, K.A. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infection and Immunity*, v. 76, n. 9, p. 4055-4065, 2008.

SUAREZ, C.; GUDIOL, F. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 27, n. 2, p. 116–129, 2009.

SWEI LO, D. *et al.* Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 35, n. 2, p. 93-98, 2013.

THAI, Q. K; PLEISS, J. SHV Lactamase Engineering Database: a reconciliation tool for SHV β -lactamases in public databases. *BMC Genomics*, v. 11, p. 1-8, 2010.

TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antinfeciosos. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1216 p. 2002.

VALIDI, M. *et al.* Identification of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* in Clinical Isolates in Tehran Hospitals, Iran by Chromogenic Medium and Molecular Methods. *Osong Public Health and Research Perspectives*, v. 7, n. 5, p. 301-306, 2016.

VAN LAAR, T. A. *et al.* Sublethal Concentrations of Carbapenems Alter Cell Morphology and Genomic Expression of *Klebsiella pneumoniae* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 59, n. 3, p. 1707-1717, 2015.

VERAS, D. L. *et al.* Prevalence of the blaSHV gene in *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from hospital and community infections and from the microbiota of healthy individuals in Recife, Brazil. *Current Microbiology*, v. 62, n. 5, p. 1610-1616, 2011.

WANG, H. *et al.* Role of Capsular Polysaccharides in Biofilm Formation: An AFM Nanomechanics Study. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 7, n. 3, p. 13007–13013, 2015.

WEISS, E. *et al.* Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of β -lactams. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 21, n. 7, p. 649, 2015.

WIEGAND, I. *et al.* Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamases among *Enterobacteriaceae* by Use of Semiautomated Microbiology Systems and Manual Detection Procedures. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 4, p. 1167–1174, 2007.

WILSON, B. R. *et al.* Siderophores in Iron Metabolism: From Mechanism to Therapy Potential. *Trends in Molecular Medicine*, v. 22, n. 12, p. 1077-1090, 2016.

WRIGHT, A. J. The Penicillins. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 74, n. 3, p. 290–307.

WYRES, K. L.; HOLT, K. E. *Klebsiella pneumoniae* Population Genomics and Antimicrobial-Resistant Clones. *Trends in Microbiology*, v. 24, n. 12, p. 944-956, 2016.

YANG, Q. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of *Enterobacteriaceae* with decreased susceptibility to carbapenems: Results from large hospital bases surveillance studies in China. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 1, p. 573-577, 2010.

YILMAZ, E. S.; GÜVENSEN, N. C. *In vitro* biofilm formation in ESBL producing *Escherichia coli* isolates from cage birds. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 9, n. 11, p. 1069–1074, 2016.

YILMAZ, C.; ÖZCENGİZ, G. Antibiotics: pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochemical Pharmacology*, v. 1, n. 133, p. 43-62, 2017.

ZAKRISSON, J. *et al.* The shaft of the type 1 fimbriae regulates an external force to match the FimH catch bond. *Biophysical Journal*, v. 104, n. 10, p. 2137–2148, 2013.

ZEBA, B. Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African Journal of Biotechnology*, v. 4, n. 13, p. 1559-1562, 2005.

ZHANG, W. *et al.* Siderophores in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* promote ciprofloxacin resistance by inhibiting the oxidative stress. *Biochemical Biophysical Research Communications*, v. 491, n. 3, p. 855-861, 2017.

ZHAO, F. *et al.* Sequencing and genetic variation of multidrug resistance plasmids in *Klebsiella pneumoniae*. *Plos One*, v. 5, n. 4, p. 1-9, 2010.