

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

Celisa Patrícia Moreira Tavares

***Klebsiella pneumoniae* e fatores associados que contribuem para a
resistência antimicrobiana: uma Revisão de Literatura**

Natal
Novembro/2019

***Klebsiella pneumoniae* e fatores associados que contribuem para a
resistência antimicrobiana: uma Revisão de Literatura**

por

Celisa Patrícia Moreira Tavares

Monografia Apresentada à Coordenação do
Curso de Biomedicina da Universidade
Federal do Rio Grande do Norte, como
Requisito Parcial à Obtenção do Título de
Bacharel em Biomedicina.

Orientador(a): Professor Doutor Renato Motta Neto

Co-orientador(a): Isabela Maria Fortaleza Neves Bonfim

Natal

Novembro/2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

A Monografia ***Klebsiella pneumoniae*** e fatores associados que contribuem para a resistência antimicrobiana: uma Revisão de Literatura elaborada por **Celisa Patrícia Moreira Tavares** e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

BACHAREL EM BIOMEDICINA

Natal, 20 de novembro de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Motta Neto
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

Profa. Dra. Rosely de Vasconcellos Meissner
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

MSc. Dayse Santos Arimateia
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - Centro de Biociências - CB

Tavares, Celisa Patrícia Moreira.

Klebsiella pneumoniae e fatores associados que contribuem para a resistência antimicrobiana: uma revisão de literatura / Celisa Patrícia Moreira Tavares. - Natal, 2019.

44 f.: il.

Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Curso de Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Renato Motta Neto.

Coorientadora: Isabela Maria Fortaleza Neves Bonfim.

1. Klebsiella pneumoniae - Monografia. 2. Resistência aos antimicrobianos - Monografia. 3. Fatores de virulência - Monografia. I. Motta Neto, Renato Isabela Maria Fortaleza Neves. II. Bonfim, Isabela Maria Fortaleza Neves. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. IV. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 616.98

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus Pai por guiar e iluminar o meu caminho, nesses 4 anos longe de casa.

Agradeço aos meus familiares, que mesmo distantes sempre me motivaram. De forma especial agradeço aos meus pais e minhas irmãs por acreditarem no meu sonho, pelo incentivo, pela dedicação, por serem minha base e minha fortaleza.

Gostaria de agradecer também ao Bruce Kambo, pelo apoio, confiança, paciência, força e companherismo durante este período acadêmico. Obrigada por cada palavra de incentivo.

Agradeço aos meus amigos, de forma especial a Samira, Cláudia e Bruna pelo apoio e pela palavra amiga que tornou a caminhada mais relaxante. Aproveito ainda para agradecer a minha turma. Desde 2015 trilhamos nossos caminhos lado a lado partilhando sorrisos e chorros, principalmente as meninas da “jaguaririca das bioMed’s”, em particular a Larissa, Bruna e Maria e as meninas do “#partiugalerá”, Lorena, Marília e Raquel, meu muito obrigado por toda ajuda, incentivo e amizade.

Gratidão aos professores que contribuíram para a minha formação acadêmica principalmente ao meu orientador, por ter proporcionado a oportunidade de trabalhar e conhecer o melhor grupo de laboratório que eu jamais poderia imaginar, o “K LAB” e de modo particular, agradeço à Isabela Fortaleza, pela paciência, amizade e por acreditar que dará certo no final.

RESUMO

A resistência antimicrobiana é considerada, atualmente uma crise global, é o resultado esperado da interação dos microrganismos com o ambiente, ocasionando a resistência de um ou mais antimicrobianos. O uso excessivo e inadequado dos antibióticos estão entre suas principais causas da resistência aos antimicrobianos. *Klebsiella pneumoniae* é um dos principais microrganismos que apresentam resistências aos antimicrobianos e que tem ocasionado um aumento na taxa de morbidade e mortalidade em infecções hospitalares e na comunidade. Considerando os fatos apresentados, o objectivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica, através de bases de dados científicos, a cerca dos fatores que contribuem para resistência de *K. pneumoniae* dentre os quais se destacam a produção de enzimas como as beta-lactamases e *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC). Além disso, este patógeno possui diversos fatores de virulência que permite desviar do sistema imune do hospedeiro e causar infecções, conseqüentemente é necessário um correto diagnóstico e medidas de prevenção. É extremamente necessário um controle de vigilância para limitar a disseminação de cepas de *K. pneumoniae* resistentes, além do desenvolvimento de novos antimicrobianos para o combate de infecções hospitalares.

Palavras chaves: *K. pneumoniae*, Resistência aos antimicrobianos, Fatores de virulência, Infecções, Diagnóstico, Sistema imune.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is currently considered a global crisis and is the expected result of the interaction of microorganisms with the environment, causing the resistance of one or more antimicrobials. Excessive and inappropriate use of antibiotics are amongst the leading causes of antibiotic resistance. *Klebsiella pneumoniae* is one of the major microorganisms that present resistance to antimicrobials and causes an increase in morbidity and mortality rates in hospital and community infections. The aim of this research is to perform a bibliographic review through scientific databases on the factors that contribute to resistance in the *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) enzyme-producing *Klebsiella pneumoniae* and Beta-lactamases. *K. pneumoniae* makes use of several virulence factors that allow it to bypass the host immune system and cause infections consequently requiring a correct diagnosis and relying on prevention. It is extremely necessary to limit the spread of resistant *K. pneumoniae* strains, as well as the development of new antimicrobials to combat hospital infections.

Keywords *K. pneumoniae*, Antimicrobial resistance, Virulence factors, Infections, Diagnosis, Immune system.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	Resistência Antimicrobiana (<i>Antimicrobial Resistance</i>)
ESBL	Beta-lactamases de Espectro Estendido
Hvkp	<i>K. pneumoniae</i> hipervirulenta
IRAS	Infeções Relacionadas à Assistência à Saúde
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LPS	Lipopolissacarídeos
MAC	Complexo de ataque a membrana
MBL	<i>Manose Binding Lectin</i> (Lectina ligadora de Manose)
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMPs	Proteínas da membrana externa
OMS	Organização Mundial Da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PPL	global lista global de patógeno prioritários
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
UTI	Unidades de Terapia Intensiva

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes fatores de virulência que contribui para a patogenicidade da <i>K. pneumoniae</i> (Adaptado de PACZOSA, MECSAS, 2016).....	17
Figura 2. Representação do "Teste da corda" ou "Teste de coluna" que determina o fenótipo de hipermucoviscosidade da <i>K. pneumoniae</i> (Adaptado de CATALÁN,GARZA, BARRIOS, 2017)	18
Figura 3. Representação dos diferentes sideróforos são expressos em <i>K. pneumoniae</i> (Adaptado de PACZOSA, MECSAS, 2016)	19
Figura 4. Representação do LPS	20
Figura 5. Representação da via clássica e da via da lectina do sistema complemento e a formação do MAC (Adaptado de DOORDUIJN <i>et al.</i> , 2016).....	24
Figura 6. Representação da evasão do sistema complemento por <i>K. pneumoniae</i> (Adaptado de DOORDUIJN <i>et al.</i> , 2016)	26
Figura 7. Representação da fenotipo da <i>K. pneumoniae</i> quando semeadas em ágar MacConkey (Adaptado de Pinterest).....	33
Figura 8. Representação do teste confirmatório para ESBL (Adaptado de ANVISA, 2013).....	35

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Exemplo de provas bioquímicas utilizadas na identificação da <i>K. pneumoniae</i>	33
----------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo Geral	13
2.2. Objetivos Específicos	13
3. METODOLOGIA	14
4. REFERENCIAL TEÓRICO	15
4.1. Infecções por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
4.2. Fatores de Virulência.....	16
4.2.1. Produção de cápsulas	17
4.2.2. Produção de sideróforos.....	18
4.2.3. Lipopolissacarídeos (LPS)	20
4.2.4. Fimbrias	21
4.2.5. Urease.....	22
4.2.6. Formação de Biofilmes	22
4.3. Resposta imune à infecção por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
4.3.1. Evasão do sistema imune	25
4.4. Mecanismo de Resistência aos Antimicrobianos	26
4.4.1. Produção de inativadores enzimáticos	27
4.4.2. Modificação do alvo do antibiótico.....	29
4.4.3. Diminuição da permeabilidade da membrana da célula	29
4.4.4. Produção de bombas de efluxo	30
4.5. Resistência de <i>K. pneumoniae</i> aos Antimicrobianos.....	30
4.5.1. Resistência aos β -lactâmicos.....	30
4.5.2. Resistência de <i>K. pneumoniae</i> aos carbapenêmicos	31

4.5.3. Resistência <i>K. pneumoniae</i> Produtores de Betalactamases às Quinolonas e aos Aminoglicosídeos	32
4.6. Diagnóstico laboratorial e molecular de infecção por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
4.6.1. Diagnóstico laboratorial	33
4.6.2. Diagnóstico Molecular	36
4.7. Vigilância e prevenção	36
5. DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÃO	40
7. REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana (AMR do inglês *Antimicrobial Resistance*), considerada atualmente uma crise global tem sido discutido amplamente nos últimos anos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a AMR é definida pela “capacidade de um microrganismo impedir a atuação de um antimicrobiano”, o que acarreta em tratamentos infrutíferos além de infecções persistentes e conseqüentemente insanáveis. (OPAS, 2017; ESTRELA, 2018).

A AMR representa um mecanismo de defesa, no qual os microrganismos desenvolvem competências para se defender dos antimicrobianos destinados a eliminá-las, fazendo com que o antibiótico perca sua ação bactericida e bacteriostático. Conseqüentemente, a bactéria cresce e se multiplica mesmo na presença de altas concentrações dos fármacos utilizados na terapia humana, o que ameaça o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), principalmente o terceiro objetivo que visa “assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades (BRASIL, 2015; MOBARKI; ALMERABI, HATTAN, 2019).

Dentre as principais causas da AMR, encontram-se o uso indiscriminado e inadequado dos antibióticos dentro dos hospitais, o uso de antibióticos pela população sem prescrição e acompanhamento médico, interrupção do tratamento antes do tempo de prescrição, falta de barreiras regulatórias, a venda ilegal dos antibióticos em alguns países, e o atraso no diagnóstico das infecções bacterianas (MOBARKI, ALMERABI, HATTAN, 2019). Tendo em vista os múltiplos fatores que podem ocasionar esta resistência, mesmo os antibióticos de alta potência não são eficazes no combate dos microrganismos multirresistentes (MIRANDA *et al.*, 2019).

Assim sendo, a Organização Mundial da Saúde (OMS), elaborou uma lista global de patógenos prioritários (PPL global) de bactérias resistentes a antibióticos a fim de ajudar na pesquisa de novos e eficazes tratamentos. De acordo com essa lista, *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos; *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos; Enterobacteriaceae (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Proteus spp* e *Providencia spp*,

Morganella spp) resistentes aos carbapenêmicos e às cefalosporinas de 3^o geração, foram reconhecidas como sendo, as bactérias mais resistentes mundialmente, em risco crítico, necessitando urgentemente de novos tratamentos (SHRIVASTAVA, SHRIVASTAVA, RAMASAMY, 2018).

1.1. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae é um membro da família Enterobacteriaceae, e a principal espécie do gênero *Klebsiella*. Microscopicamente, são bacilos imóveis, não esporulados, com o tamanho entre 5-6 micrômetro, caracterizada principalmente pela presença de uma cápsula polissacarídica que confere resistência a diversos mecanismos de defesa do hospedeiro (MARTIN, BACHMAN, 2018). Bioquimicamente são descritas como fermentadoras de lactose, produzem a enzima urease e não produzem indol (propriedade que a distingue da espécie *K. oxytoca* que é indol positiva) (KONEMAN, *et al*, 2008).

O gênero *Klebsiella* foi descrito em 1885 e recebeu esta denominação em homenagem a um dos pioneiros da Microbiologia, Theodor Albrecht Edwin Klebs (STÜRCHLER, 2016). Inicialmente os critérios taxonômicos foram estabelecidos com base nas suas características fenotípicas e em função das doenças as quais as espécies estavam associadas. Porém existe uma dificuldade em identificar corretamente as espécies deste gênero, tendo em vista que várias espécies partilham um perfil bioquímico semelhante (JANDA, 2017; MARTIN e BACHMAN, 2018). No entanto, através da análise comparativa dos genes 16S rRNA confirmou-se que o gênero *Klebsiella* é heterogêneo e constituída por espécies que formam 3 grupos filogenéticos que também incluem membros de outros gêneros, incluindo *Enterobacter aerogenes*, (ARENAS *et al.*, 2009).

Atualmente o gênero *Klebsiella* compreende seis espécies: *Klebsiella pneumoniae*, que inclui três subespécies (*K. pneumoniae pneumoniae*, *K. pneumoniae ozaenae*, *K. pneumoniae rhinoscleromatis*), *Klebsiella oxytoca*, *K. variicola*, *K. granulomatis*, *K. michiganensis* e *K. quasipneumoniae* tendo como subespécies a *K. quasipneumoniae quasipneumoniae* e *K. quasipneumoniae*

Similipneumoniae. Estas espécies são ubíquas, podendo ser encontradas no solo, água e capazes de colonizar diferentes tecidos de humanos ou animais (KONEMAN, *et al*, 2008).

Com base nas informações apresentadas, *K. pneumoniae* é um dos principais microrganismos resistentes aos antimicrobianos, associada a infecções oportunistas na comunidade e em ambientes hospitalares, acometendo principalmente indivíduos imunocomprometidos das unidades de terapia intensiva (UTI) que fazem uso constante de antibióticos. Este fato leva a um aumento na taxa de morbidade e mortalidade, o que atualmente é um grande desafio à Saúde Pública, principalmente no que se refere as Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (IRAS) (CLEGG E MURPHY, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016). Baseado nestas informações, justifica-se a realização deste trabalho com o intuito de contribuir para o conhecimento acadêmico de futuros profissionais da saúde quanto a patogenicidade e resistência da *K. pneumoniae*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Realizar uma revisão bibliográfica através de bases de dados científicos sobre os fatores que contribuem para resistência em *Klebsiella pneumoniae*.

2.2. Objetivos Específicos

- Revisar sobre as infecções causadas por *Klebsiella pneumoniae* bem como, os fatores de virulência e descrever o perfil de resistência da *Klebsiella pneumoniae*;
- Revisar sobre a resposta imune à infecção por *Klebsiella pneumoniae* e o diagnóstico laboratorial e molecular.

3. METODOLOGIA

Para a realização desta revisão bibliográfica, foram pesquisadas publicações em português e inglês presentes em bases de dados científicos como a *PubMed*, *Science Direct*, *Scientific Electronic Library Online (Scielo)* e *Mendeley*. As palavras-chave utilizadas na busca em português foram: *Klebsiella pneumoniae* resistente, resistência aos antibióticos, mecanismos de resistência de *K. pneumoniae*, infecções por *K. pneumoniae*, fatores de virulência de *K. pneumoniae*, beta-lactamases, enzimas, diagnóstico laboratorial, diagnóstico molecular, enzima KPC, fármacos.

As palavras-chave em inglês utilizadas foram: *klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, *K. pneumoniae* resistance mechanisms, *K. pneumoniae* infections, *K. pneumoniae* virulence factors, beta-lactamases, enzymes, laboratory diagnosis, molecular diagnosis, KPC enzyme, drugs.

Os critérios de inclusão utilizados para a busca foram artigos científicos publicados nos últimos 10 anos incluindo manuscritos nacionais e internacionais, teses e monografias com o objetivo de descrever dados atualizados sobre os fatores que contribuem para a resistência da bactéria *K. pneumoniae*. Os critérios de exclusão incluíram anais de congressos ou conferências, relatórios técnicos ou artigos que não tratavam do tema exposto, ou artigos publicados antes de 2009.

A análise sequencial destes artigos, foi realizada primeiramente de acordo com os títulos e anos de publicação onde foram encontradas 60 artigos. Em seguida foi feita a leitura dos resumos e uma seleção de publicações que estavam de acordo com os objetivos do trabalho em questão, totalizando no final 48 artigos. Feito isso, os artigos selecionados foram acessados na íntegra no qual as informações de interesse foram extraídas, organizadas como revisão bibliográfica.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. Infecções por *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae é um patógeno oportunista que pode desenvolver-se em uma grande variedade de hospedeiros, em inúmeros ambientes, derivados de fontes tanto exógenos como endógenos. Nos últimos anos, ocorreu um aumento no índice de infecções causadas por cepas resistentes de *Klebsiella pneumoniae*, o que gerou consequências graves principalmente em ambientes hospitalares, dentre estas, encontram-se o aumento do período de internação, a escassez de opção terapêutica e o aumento da morbidade e mortalidade (MIRANDA *et al.*, 2019).

Infecções causadas por esta bactéria são assintomáticas, podendo colonizar o trato intestinal, a pele, nariz e a garganta de indivíduos saudáveis (MARQUES, 2016). Todavia, uma vez que ocorra um desequilíbrio homeostático, a *Klebsiella pneumoniae*, pode causar uma grande variedade de infecções dependendo do local colonizado, originando infecções urinárias, infecções no trato respiratório, na corrente sanguínea, abscesso hepático, meningite, sepse (PETERSON, KAUR, 2018). A infecção pode ser transmitida na maior parte das vezes por contato direto ou indireto entre pacientes, indivíduos na comunidade, profissionais da saúde, objetos contaminados, visitantes, viajantes (PACZOSA, MECSAS, 2016). A transmissão ocorre principalmente pelo contato das mãos. No hospital por exemplo, é grande o fluxo de pessoas que circulam nesse ambiente e conseqüentemente a ocorrência de bactérias resistentes é muito alta. A não higienização das mãos por profissionais de saúde e visitantes por exemplo, contribui para a disseminação das bactérias para fora do hospital e a propagação em diferentes lugares, como transportes públicos, mercados, praias, parques, entre outros (AIRES *et al.*, 2017).

Existem diversos fatores envolvidos na disseminação dos isolados de *Klebsiella pneumoniae* em ambientes hospitalares. Entre eles se destacam, o uso de cateteres, tempo de permanência em ambiente hospitalar, internação prolongada nas unidades de terapia intensiva (UTI), antibioticoterapia prolongada e um pormenor importante é que pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos com instrumentos reutilizados

ou mesmo com dispositivos ou implantes médicos têm uma via aberta para a entrada de *K. pneumoniae* (KAISER *et al.*, 2016; RUSSO *et al.*, 2018).

Grupos de risco suscetíveis a aquisição da bacteremia nosocomial por *K. pneumoniae* incluem diabéticos, indivíduos transplantados, pacientes com função hepática comprometido, e pacientes que fazem diálise. Uma característica comum entre esses grupos é a imunodeficiência que acarreta a um defeito na resposta imune contra *K. pneumoniae* o que aumentam a morbidade e mortalidade, visto que geralmente em algumas dessas condições, as células do sistema imune inato são reduzidas devido aos efeitos colaterais das terapias citotóxicas fazendo com que o indivíduo não tenha células suficientes para combater a infecção (MARTIN, BACHMAN, 2018; PACZOSA, MECSAS, 2016).

Vale salientar também que os neonatos, particularmente aqueles que são prematuros ou que se encontram nas UTIs, correm risco devido a defesas imunológicas imaturas, falta de uma microbiota estabelecida e a permeabilidade relativamente alta da mucosa no trato gastrointestinal, assim como também os idosos são suscetíveis a muitas infecções devido a alterações em suas respostas imunológicas ao longo do tempo que os tornam menos eficazes no controle dos patógenos (MARTIN, BACHMAN, 2018).

4.2. Fatores de Virulência

As bactérias utilizam mecanismos chamados de fatores de virulência que possibilitam a colonização, obtenção de recursos nutricionais e o escape do sistema imune do hospedeiro o que aumentam a patogenicidade da bactéria. (KONEMAN, *et al.*, 2008).

A *Klebsiella pneumoniae* possui vários mecanismos de virulência que contribuem para a sua patogenicidade, dentre elas se destacam à presença de cápsula, lipopolissacarídeos, adesinas que favorece a adesão às mucosas; a produção de sideróforos (Figura 1) (PACZOSA, MECSAS, 2016).

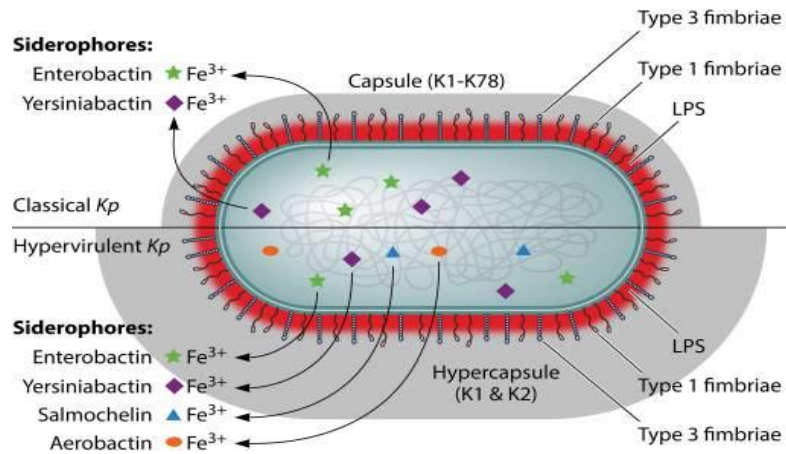


Figura 1. Diferentes fatores de virulência que contribui para a patogenicidade da *K. pneumoniae* (Adaptado de PACZOSA, MECSAS, 2016).

4.2.1. Produção de cápsulas

Klebsiella pneumoniae produz uma cápsula responsável pelo aspeto mucóide e pela coloração da colônia, que a protege do sistema imune (Figura 7) (CHUNG, 2016). A cápsula é um dos fatores de virulência mais importantes usados por *K. pneumoniae* usado principalmente para auxiliar na evasão do sistema imunológico durante a infecção, protegendo as bactérias da opsonização e da fagocitose (MARTIN, BACHMAN, 2018).

A análise bioquímica mostra que as cápsulas são compostas por polissacarídeos complexos que consiste em subunidades repetidas que confere diferentes tipos antigênicos na superfície de cada cepa (CLEGG, MURPHY, 2016). São descritas mais de 77 sorotipos capsulares distintos, sendo o sorotipo K1 e K2 os mais patogênicos e prevalentes em infecções humanas causadas por *K. pneumoniae*. O sorotipo K1 predomina na Ásia e o sorotipo K2 tem sido frequentemente isolado na América e na Europa (CATALÁN, GARZA, BARRIOS, 2017).

K. pneumoniae possuem na sua superfície antígenos com sequências específicas de resíduos de manose que são reconhecidas pelos fatores do sistema imunológico inato. Estes antígenos se ligam ao receptor de manose dos macrófagos facilitando a opsonização e conseqüentemente a fagocitose. No entanto, as cepas K1 e K2 não possuem as repetições específicas, conseqüentemente, não são

reconhecidas pelo sistema imunológico e escapam à fagocitose e à destruição o que permite que a bactéria sobreviva nos tecidos do hospedeiro (LEE *et al.*, 2017).

Atualmente, muito se fala sobre *K. pneumoniae* hipervirulenta (hvKP) com hipermucoviscosidade, que é uma distinta linhagem de *K. pneumoniae*, responsável por infecções altamente invasivas em indivíduos imunocomprometidos. Esta linhagem é caracterizada, pelo aumento da produção do polissacarídeo capsular (Figura 1) (PROKESCH *et al.*, 2016). O fenótipo de hipermucoviscosidade é determinado geralmente pelo "teste da corda" ou "teste de coluna", que é positivo quando se esticam colônias bacterianas em uma placa de ágar e há formação de uma coluna viscosa com mais de 5 mm de comprimento (Figura 2). Estudos apontam que os sorotipos K1 e K2 também estão associados ao *K. pneumoniae* hipervirulenta (hvKP), e vale salientar que essas cepas são mais resistentes à fagocitose e à morte intracelular por macrófagos e neutrófilos do que as cepas com outros sorotipos, independentemente de suas hipermucoviscosidades (LEE *et al.*, 2017; SHON, RUSSO, 2012)

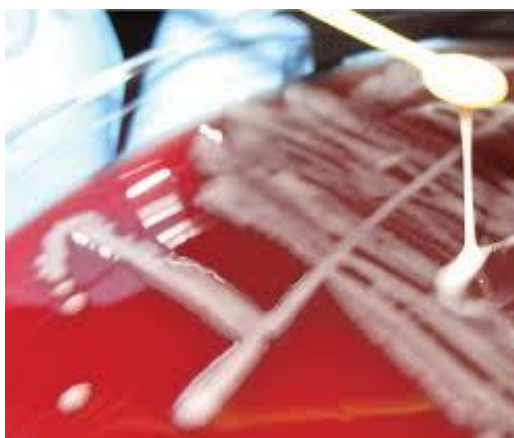


Figura 2. Representação do "Teste da corda" ou "Teste de coluna" que determina o fenótipo de hipermucoviscosidade da *K. pneumoniae* (Adaptado de CATALÁN, GARZA, BARRIOS, 2017)

4.2.2. Produção de sideróforos

O ferro (Fe) é um nutriente necessário como cofator para várias enzimas, envolvidas por exemplo no transporte de elétrons, na biossíntese de aminoácidos e DNA, além de ser essencial para o crescimento bacteriano e desempenha um papel crucial na progressão da infecção, incluindo infecções por *K. pneumoniae* (LEE *et al.*,

2017; RUNCI *et al.*, 2019). Porém, o ferro não está de imediato disponível visto que, durante a infecção o hospedeiro sequestra o ferro como parte da resposta imune inespecífica para assim restringir o crescimento de possíveis patógenos. No entanto, a *K. pneumoniae* desenvolveu estratégias para competir com as células hospedeiras e adquirir o ferro, através da síntese de compostos que possui afinidade pelo ferro, chamados sideróforos (CLEGG, MURPHY, 2016; FERREIRA *et al.*, 2016; PACZOSA, MECSAS, 2016).

Vários sideróforos são expressos em *K. pneumoniae* (Figura 3). Os sideróforos contribui para a virulência da bactéria por ser um meio de potencializar a colonização satisfatória de diferentes tecidos (PACZOSA, MECSAS, 2016).

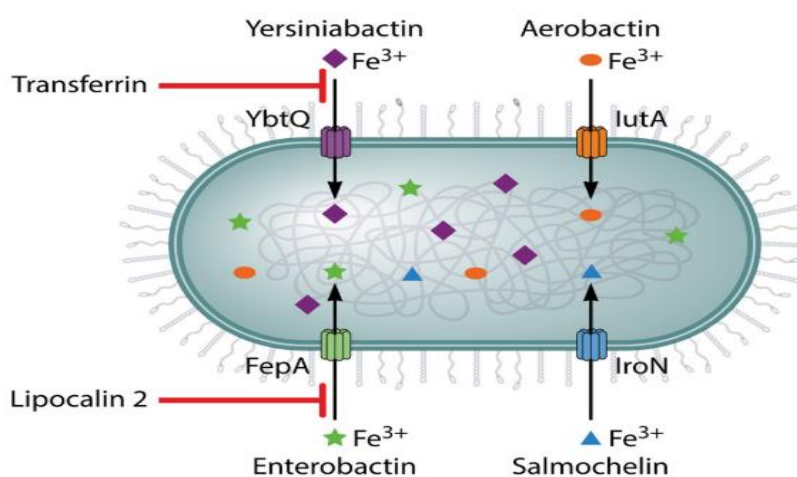


Figura 3. Representação dos diferentes sideróforos expressos em *K. pneumoniae* (Adaptado de PACZOSA, MECSAS, 2016).

A enterobactina é o principal sistema de captação de ferro utilizado por *K. pneumoniae*. Ela é neutralizada pela lipocalina-2 que é uma proteína multifuncional secretada pelo hospedeiro durante a infecção que possui capacidades antimicrobianas. Ela liga e neutraliza os sideróforos secretados impedindo a captação do ferro (CLEGG, MURPHY, 2016)

A yersiniabactina é expressa durante a infecção pulmonar e sua atividade não é inibida pela lipocalina-2 devido a diferença estrutural. Geralmente em infecções no trato respiratório são encontradas tanto as yersiniabactina como as enterobactina, o que confere uma vantagem a *K. pneumoniae* visto que, a atividade da yersiniabactina não

é inibida pela lipocalina-2 diferentemente da enterobactina, permitindo assim o crescimento da bactéria. No entanto, yersiniabactina é incapaz de adquirir o ferro necessário para o crescimento de *K. pneumoniae* na presença da proteína transferrina no plasma do hospedeiro. Assim, cepas que expressam apenas o yersiniabactina não são capazes de se disseminar pelos pulmões (FERREIRA *et al.*, 2016)

A salmochelina é uma forma de enterobactina c-glucosilada. É importante ressaltar que essa modificação impede a ligação da salmochelina pela lipocalina-2, impedindo a neutralização do sideróforo e a indução da inflamação dependente da lipocalina-2. Já a aerobactina é raramente expressa por isolados clínicos nosocomiais clássicos de *K. pneumoniae*. A presença de aerobactina está sempre associada a hiper cápsula, embora nem todas as cepas hiper capsuladas possuam esse sideróforos (FERREIRA *et al.*, 2016; PACZOSA, MECASAS, 2016).

Estudos demonstraram que as cepas de *K. pneumoniae* hipervirulenta (hvKP) têm uma capacidade aumentada de adquirir ferro através da produção amplificada de sideróforos (LEE *et al.*, 2017).

4.2.3. Lipopolissacarídeos (LPS)

É um componente da membrana celular externa de todas as bactérias Gram-negativas. É composto por três partes, o lipídio A, um oligossacarídeo central e um antígeno O, que é o componente mais externo e é uma cadeia lateral polissacarídica responsável pela resistência das bactérias à morte mediada por complemento (Figura 4). Foram observados apenas 9 tipos diferentes de antígeno «O» identificados nos isolados de *K. pneumoniae*, e O1 é o mais comum (CLEGG, MURPHY, 2016; EVRARD *et al.*, 2010).

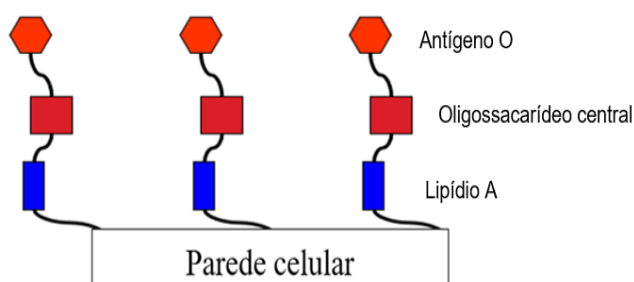


Figura 4. Representação do LPS (FONTE PRÓPRIA)

O LPS pode ser tanto benéfico como um problema para *K. pneumoniae* durante uma infecção, pois ela protege a bactéria contra as defesas humorais como também pode ser um ativador imunológico. O lipídio A, por exemplo é bem conhecida por ser um ligante do TLR4, um receptor de reconhecimento de padrões, por este motivo, algumas cepas utilizam a cápsula para proteger parcialmente seu LPS da detecção por TLRs. O que algumas bactérias tem usado como mecanismo, inclusive a *K. pneumoniae* é a modificação do LPS para uma forma que não é mais reconhecível por certos receptores imunes fazendo com que o LPS seja o principal meio de proteção contra o complemento (CAHILL *et al.*, 2015).

4.2.4. Fimbrias

Para infectar o hospedeiro, os microrganismos têm de se aderir à superfícies mucosas através de adesinas e receptores. As adesinas podem incluir fimbrias, componentes da cápsula, proteínas da membrana externa ou outros antígenos da superfície (CLEGG, MURPHY, 2016).

As fimbrias são importantes mediadores da adesão da *K. pneumoniae*, sendo descritas as fimbrias tipo 1 e 3 como as principais estruturas adesivas que foram caracterizadas como fatores de patogenicidade (Figura 1) (PACZOSA, MECSAS, 2016). As fimbrias do tipo 1, são saliências finas expressas em 90% dos isolados clínicos e ambientais de *K. pneumoniae*. Elas têm a capacidade de se ligar à manose como inibidor competitivo da ligação e facilitam a colonização e a sobrevivência da bactéria no trato urinário “in vitro” (CLEGG, MURPHY, 2016). As fimbrias do tipo 3 são filamentos em forma de hélice, insensíveis a manose e são capazes de ligarem a proteínas da matriz extracelular, como colágenos do tipo IV e V, além de desempenhar um papel importante na formação de biofilmes de *K. pneumoniae* in vitro, tanto na superfície abiótica quanto na biótica (PACZOSA, MECSAS, 2016).

4.2.5. Urease

Várias espécies do genero *Klebsiella* produzem a enzima urease que é responsável pela hidrólise da ureia em amônia e carbamato. Apesar de ainda não estar elucidado o papel da produção de urease por *K. pneumoniae* na virulência é sugerido que está associada a bactérias que crescem no trato urinário e contribuem para a formação de cálculos infecciosos (CLEGG, MURPHY, 2016). Com a hidrólise da uréia em amônia, ocorre um aumento no pH, acarretando na precipitação de sais inorgânicos que são insolúveis em pH relativamente alto, levando à formação de cálculos infecciosos. Sabe-se que cálculos infecciosos se formam quando o pH da urina é superior a 7,2 e há saturação de magnésio, amônia e de íons fosfato. Conseqüentemente, o fluxo de urina é prejudicada levando a deficiência na eliminação bacteriana do local da infecção (CLEGG, MURPHY, 2016; ORTIZ, AMBROGINI, 2014)

4.2.6. Formação de Biofilmes

Biofilmes são comunidades microbianas que vivem como uma fina camada em superfícies bióticas ou abióticas, implantadas em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares criadas pelos próprios biofilmes. A formação de biofilmes de *K. pneumoniae* foi associado como sendo uma etapa importante na patogênese dessas bactérias, particularmente associado ao uso de cateteres. A matriz dos biofilmes fornece condições necessárias para atenuar a atividade dos fármacos. Trata-se de uma matriz densa de proteínas e polissacarídeos, que impede a difusão eficiente de antibióticos, resultando em uma exposição significativamente reduzida de bactérias o que aumenta a persistência e o estabelecimento de infecções crônicas no trato urinário (CLEGG, MURPHY, 2016; PACZOSA, MECSAS, 2016; SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016).

4.3. Resposta imune à infecção por *Klebsiella pneumoniae*

O funcionamento do sistema imune baseia-se na resposta de muitos componentes estruturais, moleculares e celulares diante dos agentes infecciosos. Pode se dizer que a infecção é uma consequência de interações específicas entre o patógenos e o hospedeiro (BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019b). De modo geral, o número de indivíduos que manifestam a doença/ infecção é menor que o número de

indivíduos que são expostos a infecção, o que leva a crer que o sistema imune da maior parte dos indivíduos consegue combater e impedir o avanço dos agentes infecciosos. Vale salientar que é importante conhecer os mecanismos de defesa do sistema imune para assim entender a patogenia das doenças infectoparasitárias e as estratégias utilizadas tanto pelo hospedeiro como pelo microrganismo (PACZOSA, MECSAS, 2016).

A *K. pneumoniae* é considerada uma bactéria extracelular com mecanismos de defesa relacionado as barreiras mecânicas, químicas e celulares do hospedeiro (pele, mucosas, pH do estômago, saliva), a imunidade inata e a produção de anticorpos. No entanto Cano et al, (2015) no seu trabalho, investiga a interação entre *K. pneumoniae* e macrófagos, apresentando dados que sugerem que *K. pneumoniae* sobrevive dentro de macrófagos, desviando-se da via endocítica e residindo em um compartimento intracelular único que não se funde com lisossomos e é capaz de controlar a maturação do fagossomo e desencadeia uma morte celular programada em macrófagos, exibindo características de apoptose 10 h após a infecção.

As bactérias, quando conseguem superar essas barreiras mecânicas, elas enfrentam o desafio de defesas químicas, principalmente o sistema complemento que é uma das principais linhas de defesa imunológica. São mais de 20 proteínas, algumas das quais são numeradas de C1 até C9 que desencadeiam uma cascata proteolítica mediante o reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que leva assim a ativação dos demais mecanismo da imunidade inata e adaptativa. Existem 3 vias que ativam o sistema complemento e em todas, o evento principal é a fragmentação da proteína C3 (PACZOSA, MECSAS, 2016; SCUTTI, 2016).

Na via clássica a proteína C1q do complemento reconhece complexos antígeno-anticorpo e desencadeia a formação da C3 convertase que cliva a proteína C3 em C3b e esta se liga à superfície da bactéria (DOORDUIJN *et al.*, 2016). A via da lectina é ativada pela ligação das lectinas ligantes de manose (MBL, manose binding lectin) ou lectinas que reconhecem N-acetilglicosamina (ficolinas) aos resíduos de glicoproteínas ou carboidratos na superfície dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) dos microrganismos, ou seja, a lectina de ligação a manose, reconhece o açúcar específico na superfície bacteriana levando à ativação do C4b2b,

que posteriormente ativa o C3 em seus fragmentos ativos C3a e C3b (Figura 5) (BENGOECHEA, SA PESSOA, 2019B; SCUTTI, 2016).

A via alternativa, é ativada diretamente pela presença de patógenos, mediante o reconhecimento de componentes da parede celular como o LPS amplificando ainda mais a resposta do complemento pela deposição do C3b o que leva a formação de mais C3 convertase e consequentemente a clivagem de mais C3 em C3b. (BENGOECHEA, SA PESSOA, 2019B; SCUTTI, 2016).

As células fagocitárias possuem receptores que reconhecem a deposição de C3b na bactéria levando a fagocitose. A deposição de C3b também desencadeia a formação de convertase C5 que clivam C5 em C5b e esta se liga aos outros componentes do sistema complemento (C6-C9) dando origem a um complexo de ataque a membrana (MAC), que tem como alvo a membrana externa de bactérias Gram-negativas, levando a formação de poros e consequentemente a lise celular (Figura 5) (DOORDUIJN *et al.*, 2016). Além disso, os fatores de complemento são quimioatraentes e atraem os neutrófilos, macrófagos e monócitos para os locais de infecção, produção de quimiocinas e citocinas (BENGOECHEA, SA PESSOA, 2019b).

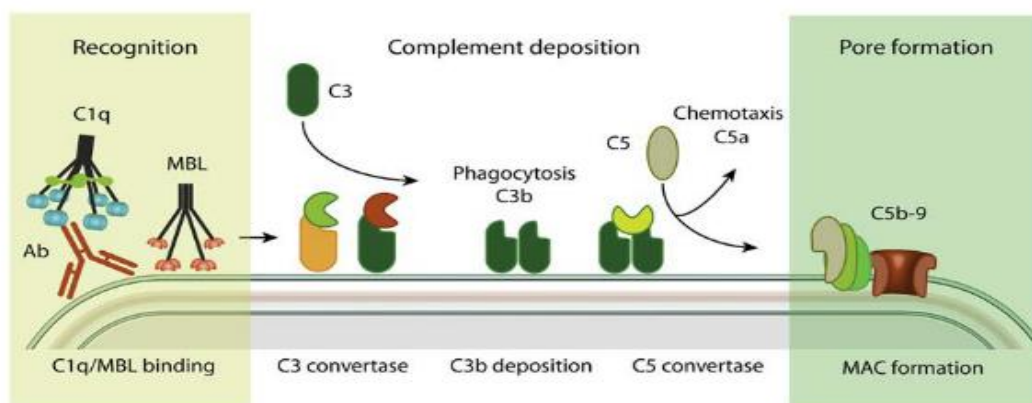


Figura 5. Representação da via clássica e da via da lectina do sistema complemento e a formação do MAC (Adaptado de DOORDUIJN *et al.*, 2016).

Em infecções por *K. pneumoniae*, os padrões polissacarídicos capsulares podem induzir a ativação da via de lectina por meio da interação com MBL pelo reconhecimento de polissacarídeos capsulares contendo manobiose ou ramnobiase. As proteínas da membrana externa (OMPs) e o LPS de *K. pneumoniae* ativam a via

clássica do sistema complemento onde a proteína C1q reconhece complexos antígeno-anticorpo e desencadeia a formação da C3 convertase que cliva a proteína C3 em C3b e está se liga à superfície da bactéria e expõe outras proteínas. O LPS ainda ativa a via alternativa do complemento (DOORDUIJN *et al.*, 2016).

4.3.1. Evasão do sistema imune

K. pneumoniae, desenvolveu estratégias para escapar das respostas do sistema imunológico, o que acaba contribuindo para a sua patogenicidade, logo é fundamental compreender os mecanismos pelos quais a *K. pneumoniae* consegue “driblar” o sistema imune e assim sobreviver no hospedeiro humano (DOORDUIJN *et al.*, 2016; PACZOSA, MECSAS, 2016; BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019B).

A evasão do complemento por *K. pneumoniae* é estabelecida principalmente pela modificação da cápsula, LPS ou proteínas da membrana externa (PACZOSA, MECSAS, 2016). Sabe-se que a cápsula de *K. pneumoniae* protege a bactéria, funcionando como barreira, impedindo a morte bacteriana. A deposição do C3b depende da espessura da cápsula da *K. pneumoniae*, visto que a cápsula mascara epítomos de anticorpos na superfície bacteriana o que impede assim a ativação do complemento (Figura 6A). Como observado no sorotipo K2, que tem sua composição capsular modificada para impedir o reconhecimento pela via da lectina impedindo assim a deposição de C3b e MAC por exemplo (BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019B; PACZOSA, MECSAS, 2016).

Alterações na estrutura do LPS também afeta a capacidade de estimular complemento. Uma vez que o antígeno “O” é reconhecido por anticorpos, sendo assim o LPS permanece exposta a superfície. Modificações na composição do antígeno “O” e o alongamento deste, são alterações que permitem que a bactéria não ative o sistema complemento. Estudos sugerem que as cepas de *K. pneumoniae* com um antígeno “O” longo produzem um LPS de alto peso molecular (fenótipo liso), que protege a ligação direta a C1q ou a anticorpos direcionados contra as moléculas da superfície de *K. pneumoniae*, o que leva a uma deposição do C3b, mais distante da superfície e evita também a deposição adequada do MAC e conseqüentemente formação de poros reduzida. Enquanto que as cepas sem o alongamento de cadeias laterais do antígeno O têm um LPS de baixo peso molecular (fenótipo rugoso), levando

a deposição do C3b próximo a membrana, assim como também a deposição do MAC e formação de poros (Figura 6B) (DOORDUIJN *et al.*, 2016; PACZOSA, MECSAS, 2016; BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019b).

Logo, podemos observar que a *K. pneumoniae*, pode bloquear a formação do MAC por dois mecanismos. O primeiro é inibindo a deposição de complemento na superfície bacteriana bloqueando epítomos de moléculas de superfície reconhecidas por anticorpos ou diretamente por C1q modificando a composição capsular (Figura 6A). O segundo mecanismo é impedindo que o MAC alcance a membrana externa através do alongamento da cadeia lateral do antígeno "O" do LPS (Figura 6B) (BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019b).

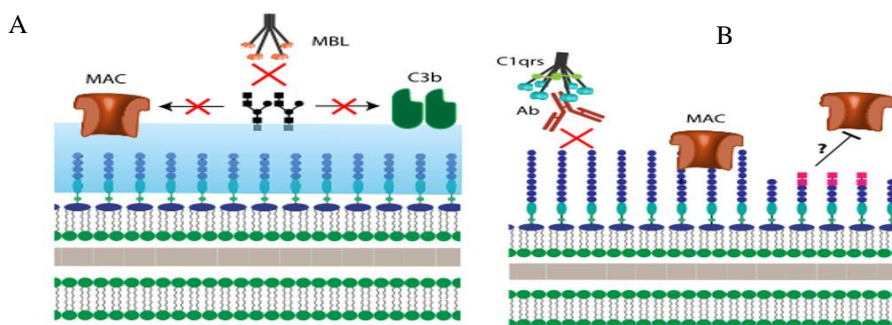


Figura 6. Representação da evasão do sistema complemento por *K. pneumoniae* (Adaptado de DOORDUIJN *et al.*, 2016)

4.4. Mecanismo de Resistência aos Antimicrobianos

Os antimicrobianos são fármacos de origem natural ou semi-sintética capaz de destruir bactérias ou inibir seu crescimento. Apresentam diferentes mecanismos de ação, atuando principalmente na parede celular ou ribossomos, além de poderem atuar na membrana, citoplasmática, ácidos nucleicos e no metabolismo bacteriano (MOSQUITO, RUIZ, OCHOA, 2011).

A resistência antimicrobiana foi reconhecida pela primeira vez em 1945 por Alexander Fleming. A sua orientação de que o uso incorreto dos antimicrobianos poderia ocasionar seleção de bactérias resistentes, é utilizada até hoje (HENGEL, MARIN, 2019). De fato, este fenômeno tem sido acelerado pelo uso inadequado dos antibióticos em contextos variados como em humanos, animais e na agricultura o que

provoca uma pressão seletiva permitindo a seleção de bactérias naturalmente resistentes (MOREHEAD; SCARBROUGH, 2018).

A resistência aos antimicrobianos pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca à bactéria é naturalmente resistente a um ou mais antimicrobianos levando a transmissão das características inatas da bactéria ao longo das gerações. Já a resistência adquirida os microrganismos que inicialmente expressavam como sensíveis frente a determinados fármacos desenvolve competências para se defender dos antimicrobianos destinados a elimina-las. A resistência adquirida é resultado de mutações em genes cromossômicos ou da aquisição de elementos genéticos externos obtidos de variadas maneiras, entre elas, das bactérias intrinsecamente resistentes presentes no meio ambiente (MOBARKI, ALMERABI, HATTAN, 2019).

É importante compreender os mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos na resistência antimicrobiana e interiorizar que a resistência é o resultado já esperado da interação de muitos organismos com o meio ambiente acarretando assim numa resistência a um ou mais antimicrobianos (MUNITA, ARIAS, 2016). Atualmente, a produção de inativadores enzimáticos, modificação do sitio alvo do antibiótico, produção de bombas de efluxo, alteração da permeabilidade da membrana externa da célula bacteriana, são descritos como os principais mecanismos que acarretam em resistência antimicrobiana (SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016).

4.4.1. Produção de inativadores enzimáticos

As bactérias produzem enzimas que modificam e inativam irreversivelmente os antibióticos. Uma das enzimas bem caracterizadas é as β -lactamases que são altamente prevalentes e agem hidrolisando o anel β -lactâmico fazendo com que o fármaco perca sua ação (CLEGG, MURPHY, 2016). Essas enzimas são classificadas em dois sistemas principais (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016):

- Sistema Ambler: as β -lactamases foram divididas em classes moleculares denominadas de A, B, C e D, levando em conta a estrutura molecular das enzimas.

- Sistema Bush-Jacoby-Medeiros: as β -lactamases são divididas em 4 grupos com subdivisões de acordo com os seus substratos e com o perfil de inibição dos inibidores dessas enzimas

As enzimas de classe A de Ambler contém várias enzimas significativas, incluindo ESBLs (principalmente do tipo TEM, SHV e CTX-M) e KPCs. Eles podem inativar penicilinas, cefalosporinas de terceira geração (por exemplo, ceftazidima, cefotaxima e ceftriaxona), aztreonam, cefamandol, cefoperazona e metoxi-cefalosporinas (por exemplo, cefenicinas e carbamidas). As enzimas da classe A também podem ser inibidas pelos inibidores da β -lactamase, como ácido clavulânico, sulbactam ou tazobactam (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016).

Os β -lactamases da classe B incluem metalo- β -lactamases (MBLs). As bactérias que produzem essas enzimas apresentam resistência a todos os β -lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e inibidores da β -lactamases, exceto o aztreonam. Os genes que codificam MBLs são encontrados nos plasmídeos, portanto, eles são facilmente transmitidos a outros microrganismos. As metalo- β -lactamases mais comuns (MBLs) são as metalo- β -lactamases da imipenemase (IMP), metalo- β codificado pelo integrão de Verona-lactamases (VIM) e as recém-descritas enzimas metalo- β -lactamases-1 (NDM-1) de Nova Delhi (MARQUES, 2016)

Da classe C incluem as cefalosporinases AmpC. Essa classe degrada as cefamicinas, as cefalosporinas de 1° e 2° gerações e não são inibidas pelos inibidores de β -lactamases. E os da classe D do ambler consiste em uma variedade de enzimas, como as enzimas hidrolisantes da oxacilina (OXA). Os membros mais comuns desta classe, como OXA-11, OXA-14 e OXA-16, demonstram propriedades ESBL e são normalmente encontrados em *P. aeruginosa*. Essas enzimas são eficazes contra a penicilina, cloxacilina, oxacilina e meticilina (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016)

4.4.2. Modificação do alvo do antibiótico

Os antibióticos podem se ligar a um ou mais alvos na célula bacteriana. No entanto, modificações na estrutura do alvo impede a ligação ou a afinidade do antibiótico. Ou seja bactérias resistentes evitam o reconhecimento por agentes antimicrobianos modificando seus locais de destino (MUNITA, ARIAS, 2016).

Entre as modificações, temos as que ocorrem no precursor do peptidoglicano da parede celular bacteriana que é o sítio alvo de glicopeptídeos que atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana. Outra modificação por exemplo, temos mutações do gene que codifica as proteínas ligadores de penicilina (PBPs do inglês *Penicillin Binding Proteins*), que são enzimas ancoradas na membrana citoplasmática da parede celular bacteriana que atuam na síntese e controle dos últimos estágios da construção da parede celular. Modificações nas PBPs são uma forma de causar resistência ao β -lactâmicos, tendo em vista que essas proteínas são o alvo desses fármacos (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016). Mutações que alteram as enzimas topoisomerase IV ou DNA girase, atuam na duplicação do DNA bacteriano, alvos das quinolonas são outro exemplo das modificações do alvo do antibiótico (MUNITA, ARIAS, 2016).

4.4.3. Diminuição da permeabilidade da membrana da célula

A membrana externa da bactéria Gram-negativa contém proteínas chamadas porinas que formam canais que permitem a passagem de substâncias hidrofílicas, incluindo antibióticos. Porém, mutações nessas proteínas faz com que percam sua função e moléculas hidrofílicas como β -lactâmicos, não conseguem adentrar na célula bacteriana, perdendo assim sua ação antimicrobiana (MUNITA, ARIAS, 2016). As cepas de *K. pneumoniae* resistentes exibem suscetibilidade reduzida a β -lactâmicos (como cefalosporinas e carbapenêmicos) pela perda de proteínas da membrana externa conhecidas como OmpK35 e OmpK36 (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016).

4.4.4. Produção de bombas de efluxo

As bombas de efluxo são proteínas da membrana que funcionam como exportadoras. Ela faz a remoção de antibióticos do compartimento intracelular, o que significa que as concentrações do fármaco não são suficientemente altas para provocar um efeito antibacteriano (MUNITA, ARIAS, 2016). Foram descritas cinco famílias de bombas de efluxo, sendo o RND (do inglês *Resistance Nodulation Division*) a mais comum e está relacionada com a transferência por plasmídeos do complexo AcrAB-TolC formado por 2 proteínas (AcrA e AcrB) e um canal externo (TolC) que juntos podem bombear diversos fármacos (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016) .

4.5. Resistência de *K. pneumoniae* aos Antimicrobianos

Dois tipos principais de resistência a antibióticos têm sido comumente observados em *K. pneumoniae*. Um mecanismo envolve a expressão de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), que tornam as bactérias resistentes às cefalosporinas e monobactamas. O outro mecanismo de resistência, ainda mais preocupante, é a expressão de carbapenemases por *K. pneumoniae*, que torna as bactérias resistentes a quase todos os β -lactâmicos disponíveis, incluindo os carbapenêmicos. *K. pneumoniae* é naturalmente resistente à ampicilina e carbenicilina pela produção de SHV-1 β -lactamase codificada no cromossomo (MUNITA, ARIAS, 2016).

4.5.1. Resistência aos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos são os antibióticos mais utilizados mundialmente por conta da sua boa atividade, baixa toxicidade e grande variedade dos compostos disponíveis. Todos os antibióticos β -lactâmicos interferem no estágio final da biossíntese do peptidoglicano da parede celular bacteriana (responsável pela integridade da parede bacteriana), interrompe a constituição fisiológica normal do peptidoglicano da parede celular e induz a lise e morte celular (CABRAL *et al.*, 2012)

Um dos principais mecanismos de resistência que impossibilita o uso dos β -lactâmicos para o tratamento de infecções bacterianas certamente é a inativação destes fármacos pelas β -lactamases que podem ser codificadas tanto por genes presentes nos cromossomos ou nos plasmídeos (BLAIR *et al.*, 2015).

TEM-1 foi a primeira β -lactamase identificada em bactérias Gram negativas, originalmente encontrada em uma cepa de *Escherichia coli*. Posteriormente, foi descrita a enzima SHV-1 (de sulfidril variável) encontrada em isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli*. Ambas mediada por plasmídeo. Tão logo, houve a necessidade de produzir novos β -lactâmicos, porém a cada novo β -lactâmicos, novas β -lactamases foram aparecendo acarretando na resistencia a novos β -lactâmicos. A enzima isolada capaz de hidrolisar esses novos antibioticos SHV-2, foi isolada em *Klebsiella ozaenae* e devido a sua grande eficácia frente a esses antibioticos β -lactâmicos, elas foram denominadas de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL). São enzimas que hidrolisam as penicilinas, ceftazidima, cefotaxima e o aztreonam e são sensíveis às cefamicinas e aos inibidores de β - lactamases, como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam, bem como aos carbapenens (THOMSON, 2010).

As ESBLs surgiram a partir de mutações nos genes *bla* SHV e *bla* TEM, que codificam as β -lactamases. Essas mutações resultam em substituição de aminoácidos das enzimas, o que favorece a produção de novas enzimas com maior afinidade por β -lactâmicos de espectro estendido. Outra enzima descrita é a CTX-M, detectada em vários países e com frequência em isolados de *K. pneumoniae*. A análise cinética dessa enzima demonstrou que é mais ativa para a hidrólise de cefotaxima e ceftriaxona do que de ceftazidima, embora algumas mutações possam aumentar a hidrólise para a ceftazidima (CABRAL *et al.*, 2012).

Dessa forma, tem sido encontrado em isolados de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL as enzimas do tipo TEM, SHV, CTX-M, β -lactamases do tipo AmpC de origem plasmidial (SANTAJIT E INDRAWATTANA, 2016). Os genes AmpC plasmidiais são derivados dos genes cromossômicos de várias espécies da família Enterobacteriaceae que conferem resistência às cefalosporinas de terceira geração, cefamicinas e inibidores de β -lactamases (THOMSON, 2010).

4.5.2. Resistência de *K. pneumoniae* aos carbapenemicos

Os carbapenêmicos foram uma alternativa terapêutica encontrada para o tratamento de infecções graves, causadas por bactérias Gram-negativas produtoras de ESBL. Porém com o uso abusivo destes fármacos pode se dizer que a bactéria encontrou uma alternativa de desenvolver resistência contra esses antibióticos e

dentre os mecanismos associados à resistência bacteriana aos carbapenêmicos destaca-se a produção de carbapenemases. As carbapenemases degradam os antibióticos β -lactâmicos do grupo carbapenêmico (imipenem, meropenem, ertapenem e doripenem). Essas carbapenemases podem ser divididas em dois grupos segundo as categorias de Ambler em serino carbapenemases (classes A e D de Ambler) e metalo- β -lactamases (classe B de Ambler) (MARTINS *et al.*, 2016).

4.5.3. Resistência *K. pneumoniae* Produtores de Betalactamases às Quinolonas e aos Aminoglicosídeos

É notável que uma grande variedade de genes muitos em plasmídeos são capazes de codificar as ESBL e esses mesmos genes podem codificar resistência para outros antimicrobianos como os aminoglicosídeos, quinolonas, trimetopim, sulfonamidas, tetraciclina e clorofenicol, o que contribui para que os isolados produtores de ESBL possuam como característica atual um espectro de resistência a múltiplas classes de antimicrobianos (CABRAL *et al.*, 2012, ESTRELA, 2018).

As quinolonas correspondem a uma classe de antimicrobianos sintéticos com ação bactericida de amplo espectro tanto contra bactérias Gram-negativas como bactérias Gram-positivas. Mais precisamente, a sua ação reside na inibição da DNA girase (alvo principal das quinolonas em bactérias Gram negativas) ou da topoisomerase IV (alvo principal em bactérias Gram positivas) que são fundamentais para replicação, recombinação e reparo do DNA bacteriano (MUNITA, ARIAS, 2016). No entanto, mutações nos genes cromossômicos que codificam as enzimas DNA-girase e topoisomerase IV são destacados como os principais mecanismos de resistência as quinolonas para além da hiper expressão de bombas de efluxo e diminuição da permeabilidade da membrana que leva assim a redução da concentração do antimicrobiano no interior da célula bacteriana (COSTA, SILVA JUNIOR, 2017)

Os aminoglicosídeos, também são empregados no combate de infecções de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Sua ação consiste na inibição da síntese de proteínas por ligação irreversível às proteínas da subunidade 30S do ribossomo. Em bactérias Gram-negativas por exemplo, elas comprometem a semipermeabilidade da membrana favorecendo a morte das bactérias (BLAIR *et al.*, 2015). A resistência

bacteriana aos aminoglicosídeos pode ocorrer devido a mutações no sítio de ligação do ribossomo, efluxo dos fármacos, alterações enzimáticas do antimicrobiano. Foi identificado um grupo de enzimas que confere resistência pela metilação sítio específico do RNA ribossômico 16S, denominadas de metilases 16S rRNA, capazes de conferir resistência aos aminoglicosídeos usados clinicamente como amicacina, gentamicina e tobramicina (CAPUTO *et al.*, 2015).

4.6. Diagnóstico laboratorial e molecular de infecção por *klebsiella pneumoniae*

4.6.1. Diagnóstico laboratorial

A identificação de um microrganismo é baseada na comparação entre os dados sobre os gêneros e espécies conhecidos e os dados bioquímicos que refletem as atividades metabólicas dos microrganismos (KONEMAN, *et al.*, 2008).

A identificação da *K. pneumoniae*, é caracterizada pelas provas bioquímicas que permitem a sua identificação (Quadro 1) (BRASIL, 2013). Quando semeadas em ágar MacConkey as colônias apresentam-se elevadas e de consistência mucóide, cor rósea brilhante e com aspecto viscoso (Figura 7) devido à cápsula polissacarídica (KONEMAN, *et al.*, 2008).

Provas bioquímicas	Reação
Reação de oxidase; Indol; Ornitina	Negativa
Fermentação da glicose; Redução à nitrato; Lisina; Citrato; TSI; Metabolização da lactose, hidrolise da ureia	Positiva

Quadro 1. Exemplo de provas bioquímicas utilizadas na identificação da *K. pneumoniae* (Fonte PRÓPRIA)



Figura 7. Representação do fenótipo da *K. pneumoniae* quando semeadas em ágar MacConkey (Adaptado de Pinterest)

Após o isolamento e a identificação da *K. pneumoniae* é realizada o Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA). Em situações em que se depara com uma cepa com um perfil de resistência amplo aos antimicrobianos mais recentes, este deve ser confirmada antes de ser liberado como resistente, através de testes confirmatórios para a detecção da resistência. É de realçar que, o TSA serve como um teste de triagem para a detecção de cepas multirresistentes (KAISER *et al.*, 2016).

Os testes confirmatórios para a detecção da resistência de *K. pneumoniae* na rotina laboratorial em microbiologia segue orientações de comitês internacionais, como exemplo do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (FLORES *et al.*, 2016)

4.6.1.1. Diagnóstico de ESBL

Bactérias produtoras de ESBL são identificadas a partir de um teste inicial que, se positivo, deverá ser confirmado. Através da técnica de disco difusão em ágar Mueller Hinton, utilizando discos de 30 µg de Ceftriaxone ou 30 µg de fármacos como ceftazidima e aztreonam. Após 16 a 18 horas em uma temperatura $35 \pm 2^\circ \text{C}$, analisa-se o halo. Se houver formação de halo para: ceftriaxone $\leq 25\text{mm}$, ceftazidima $\leq 22\text{mm}$, aztreonam $\leq 27\text{mm}$, faz-se necessário o teste fenotípico confirmatório (DOLINSKY, 2017). O teste confirmatório se dá utilizando um disco de ceftazidima 30µg e outro de ceftazidima + ácido clavulânico na concentração de 30/10µg, juntamente com cefotaxima 30µg e cefotaxima + ácido clavulânico 30/10µg (Figura 8). É confirmada a resistência quando há um aumento $\geq 5\text{mm}$ no halo do antibiótico associado ao ácido clavulânico em relação ao obtido no antibiótico sem associação (DOLINSKY, 2017).

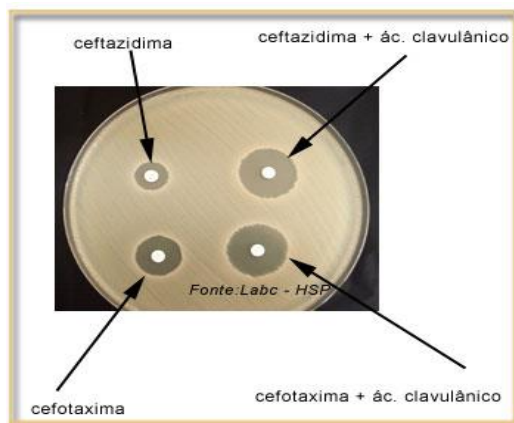


Figura 8. Representação do teste confirmatório para ESBL (Adaptado de ANVISA, 2013)

4.6.1.2. Diagnóstico de KPC

O *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) recomenda a pesquisa de KPC em bactérias que apresentam resistência a cefalosporinas de terceira geração e sensibilidade diminuída a carbapenems. A não susceptibilidade ao ertapenem é o indicador mais sensível da produção de carbapenemase. Hoje a triagem fenotípica se dá pela análise de antibiograma, onde a metodologia é a disco-difusão, empregando discos de imipenem, meropenem, ertapenem e cefalosporinas de terceira geração, concentração inibitória mínima, além do CarbaNP Test (DOLINSKY, 2017).

O teste de Carba NP por exemplo, surgiu como uma alternativa útil para detectar a produção de carbapenemase em *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* e *Acinetobacter spp.* O teste é baseado na acidificação do vermelho de fenol quando o imipenem é hidrolisado, evidenciado pela mudança de cor da solução de teste de vermelho para amarelo (KUMAR *et al.*, 2018).

4.6.1.3. Diagnóstico de MBLs

Os testes utilizados para detecção fenotípica de MBLs são os testes de aproximação em disco, os discos com combinação de substratos com e sem EDTA e também fitas de E-test MBL. O primeiro, utiliza discos de ceftazidima 30µg imipenem 10 µg e aztreonam 30 µg. O segundo teste utiliza imipenem ou ceftazidima como antibióticos, colocando-os no ágar e em um deles adicionado 10 µL de EDTA. E o

terceiro, utilizada a fita de E-test, onde em uma das pontas da fita possui imipenem e na outra ponta Carbapenêmicos + EDTA. Esses testes são manipulados com inóculos bacterianos suspensos em soro fisiológico a partir de colônias com 24 horas de crescimento, ajustadas na escala 0,5 de McFarland. Como controle dos testes, utiliza-se *K. pneumoniae* positivas MBL (DOLINSKY, 2017).

4.6.2. Diagnóstico Molecular

As abordagens moleculares permitem caracterizar os isolados bacterianos envolvidos em infecções hospitalares ou em surtos epidêmicos, como na detecção de genes que codificam resistência aos antimicrobianos e determinação de genes relacionados a fatores de virulência (MARQUES, 2016). Metodologias moleculares como PCR convencional, PCR em Tempo Real, *PCR-Restriction Fragment Length Polymorphisms* (PCR-RFLP), análise do perfil do DNA genômico utilizando *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR* (ERIC-PCR) têm sido usadas em estudos de caracterização de ESBL e KPC. A PFGE por exemplo, tem sido utilizada para o estudo de surtos hospitalares na comparação de populações bacterianas o que tem sido útil para elucidar a transmissão de clones de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL e KPC em ambiente hospitalar em diversos países (FLORES *et al.*, 2016).

4.7. Vigilância e prevenção

As circunstâncias de resistência bacteriana aos antimicrobianos no ambiente hospitalar se agrava progressivamente com o passar dos anos (PACZOSA, MECSAS, 2016). A evolução dos genes que codificam ESBL e KPC e conseqüentemente a disseminação, representa um impacto nas opções terapêuticas para o tratamento de infecções uma vez que há escassez de desenvolvimento de novos medicamentos pela indústria farmacêutica (MARQUES, 2016). A identificação de ESBL e KPC, bem como sua análise através da biologia molecular, fornece informações que favoreçam o controle da disseminação desse tipo de resistência bacteriana (VERAS, 2010)

Os isolados de origem hospitalar devem ser relatados ao Centro de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH), para monitoramento e prevenção de surtos

infecciosos. Nesse contexto é bom realçar a importância do laboratório de microbiologia, bem como o papel do microbiologista na identificação correta para alertar possíveis surtos e desenvolver estratégias de controle que impeçam a disseminação de isolados resistentes aos antimicrobianos nos hospitais e na comunidade (OPAS, 2017).

A prevenção é a arma principal no combate a infecções por *K. pneumoniae*, levando em conta que o tratamento tem sido difícil devido a sua alta resistência a antimicrobianos, a prevenção depende da incorporação de práticas corretas às rotinas de assistência ao paciente, exigindo um esforço coordenado pelas partes envolvidas (MS, 2018). Portanto, a ANVISA instituiu normas para identificação, prevenção e controle de infecção tais como: o uso racional de antimicrobianos e venda somente com a retenção de receita médica, higienização das mãos de todos os profissionais de saúde, acompanhantes e visitantes, higienização do ambiente, cuidados no manuseio de dispositivos invasivos. Desta forma, profissionais da saúde, devem tomar cuidados quanto à higienização das mãos, assim como os visitantes, além do uso de equipamento de proteção individual (MIRANDA *et al.*, 2019).

O isolamento de pacientes com suspeita de contaminação e a preocupação com a limpeza dos locais é outro problema a ser resolvido para evitar a disseminação da bactéria nas UTI's ou nos locais de atendimento do pronto-socorro, sendo necessária a constituição de uma rede eficiente de informações que devem ser passadas a população e elaboração de medidas de contingência (SHRIVASTAVA, RAMASAMY, 2018)

5. DISCUSSÃO

A *Klebsiella pneumoniae* pertence ao grupo “ESKAPE” (um acrônimo utilizado para designar um grupo de bactérias composta por *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter*), que causam a maioria das infecções hospitalares acometendo principalmente indivíduos imunocomprometidos (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016). É importante lembrar que esta bactéria, é classificada como um organismo prioritário, que causa infecções hospitalares significativas e difíceis de tratar, além de infecções na comunidade, portanto é recomendada e justificável a constante vigilância deste patógeno (WYRES *et al.*, 2019).

As bactérias possuem uma imensa plasticidade genética a qual é uma característica evolutiva que resulta na sobrevivência do mais apto, que pode ser vista a partir de eventos mutacionais, aquisição de material genético ou alteração da expressão gênica (MUNITA, ARIAS, 2016).

Deste modo, são necessários vários estudos que possam contribuir para vigilância epidemiológica, além de observar, conhecer qual a incidência bacteriana e o perfil de utilização dos antimicrobianos no tratamento das infecções, além das medidas preventivas e o teste adequado para diagnóstico para que sejam tomadas medidas efetivas no combate às infecções nosocomiais (COSTA, SILVA JUNIOR, 2017).

Uma das barreiras existentes no combate da resistência antimicrobiana é a ausência de inovação. Segundo Oliveira *et al* (2016) o desenvolvimento de novas tecnologias de saúde não tem acompanhado a velocidade da adaptação dos microrganismos. Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) até 2050, dez milhões de óbitos anuais serão atribuídos à resistência antimicrobiana além do impacto na economia global. Esta estimativa baseia-se na realidade atual de uso excessivo de antibióticos, tratamentos incompletos, saneamento precário e a globalização que permite a distribuição dos microrganismos facilmente pelo mundo (OPAS, 2017). De fato, a infecção hospitalar causada por *Klebsiella pneumoniae*

prolonga a permanência do paciente gerando custos públicos (GUIMARÃES, VIEIRA, 2013).

Desde então, governantes de diversos países, especialmente de países desenvolvidos, estão planejando estratégias para o desenvolvimento de novos antimicrobianos para combater bactérias resistentes (ESTRELA, 2018). No entanto, é evidente que pesquisas e desenvolvimento de novos compostos farmacológicos demanda tempo e dinheiro para serem concretizados, do mesmo modo que é notório que é mais lucrativo para as indústrias farmacêuticas desenvolverem fármacos destinados ao tratamento de doenças crônicas ao invés de fármacos com atividade antimicrobiana, que geralmente são utilizados por um curto período de tempo quando comparados a outras aplicações terapêuticas (SILVA, AQUINO, 2018).

Porém, é necessário compreender que o uso excessivo de antibióticos na medicina, na agricultura é um fator agravante e determinante para o desenvolvimento de bactérias resistentes e de certa forma, somos responsáveis por tal calamidade. É imprescindível administrar os antibióticos de maneira adequada, na dosagem, horários e períodos determinados o que beneficiará não só o usuário como a população de forma abrangente. Deve-se adotar estratégias básicas de prevenção, como a higienização adequada das mãos, a desinfecção de objetos de uso coletivo ou privados, isolamento do contato com pessoas infectadas e a prática da educação continuada pelos profissionais da área são de extrema valia para assegurar que haja uma maior veracidade neste controle (SILVA, AQUINO, 2018).

6. CONCLUSÃO

Klebsiella pneumoniae é um bacilo Gram-negativo de grande importância médica e sua resistência a antimicrobianos tem se tornado um problema de saúde pública e preocupação em todos os campos da saúde. Causa infecções em vários locais nos seres humanos, incluindo pulmões, bexiga, fígado, cérebro e corrente sanguínea, acometendo principalmente indivíduos imunocomprometidos e que apresenta problemas significativos em relação a eliminação do hospedeiro. (PACZOSA, MECSAS, 2016). A capacidade desta bactéria por exemplo, de formar biofilme apresentou novos desafios no manejo de infecções principalmente infecções associadas a cateteres. Além que que ela dispõe de vários fatores de virulência que possibilitam a colonização, obtenção de recursos nutricionais e escapar do sistema imune do hospedeiro o que aumentam a patogenicidade da bactéria. (KONEMAN, *et al.*, 2008).

Atualmente, além da ESBL, são descritas outras três enzimas de interesse clínico e com espectro de ação distinto: *Klebsiella pneumoniae* carbapenase (KPC); metalobetalactamase (MBL) e betalactamase classe C (AmpC) (OLIVEIRA *et al.*, 2016). A resistência aos carbapenêmicos é conferida por carbapenases presentes em KPC e MBL que perdem proteínas da membrana externa que são usadas pelo fármaco como via de entrada para o seu interior, entre outros mecanismos. A KPC é resistente a todos os betalactâmicos, mesmo àqueles associados a inibidores de betalactamases (MUNITA, ARIAS, 2016).

A ampla resistência destas bactérias mostra a necessidade de restringir ao máximo o uso de antibióticos beta-lactâmicos, bem como a realização de ações que visam prevenir infecções hospitalares, além de medidas básicas de higiene como lavagem de mãos e cuidados com os pacientes imunossuprimidos, objetivando sempre evitar surtos epidêmicos (PEREIRA, VANETTI, 2015).

Portanto, é essencial ter protocolos em vigor para administração antimicrobiana e esforços aprimorados de controle de vigilância para limitar a disseminação de cepas de *K. pneumoniae* resistentes, além de ser necessário o desenvolvimento de novos fármacos para combater infecções por este microrganismo (BENGOCHEA, SA PESSOA, 2019b).

7. REFERÊNCIAS

- ARENAS, N. E. *et al.* **Construcción de una filogenia molecular para las especies de los géneros *Klebsiella* y *Raoultella* basada en los genes ARNr 16S y ARN polimerasa subunidad.** Revista Ciencias de la Salud, v. 7, n. 2, p. 22–29, 2009.
- BENGOECHEA, J. A.; SA PESSOA, J. ***Klebsiella pneumoniae* infection biology: Living to counteract host defences.** FEMS Microbiology Reviews, v. 43, n. 2, p. 123–144, 2019b.
- BLAIR, J. M. A. *et al.* **Molecular mechanisms of antibiotic resistance.** Nature Reviews Microbiology, 2015.
- BRASIL. **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, v. 1º, p. 1–154, 2013.
- CABRAL, A. B. *et al.* **Multidrug resistance genes, including blaKPC and blaCTX-M-2, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 45, n. 5, p. 572–578, 2012.
- CAHILL, B. K. *et al.* ***Klebsiella pneumoniae* O antigen loss alters the outer membrane protein composition and the selective packaging of proteins into secreted outer membrane vesicles.** Microbiological Research, v. 180, p. 1–10, 2015.
- CAIO AUGUSTO MARTINS AIRES, MARISE DUTRA ASENSI; COLABORADORES: NATÁLIA MARIA LANZARINI, BRUNO GOUVEIA MOTTA, P. S. P. **Resistência bacteriana aos antibióticos: o que você deve saber e como prevenir.** p. 15, 2017.
- CAPUTO, A. *et al.* **Pan-genomic analysis to redefine species and subspecies based on quantum discontinuous variation: The *Klebsiella* paradigm.** Biology Direct, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2015.
- CATALÁN-NÁJERA, J. C.; GARZA-RAMOS, U.; BARRIOS-CAMACHO, H. **Hypervirulence and hypermucoviscosity: Two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes?** Virulence, v. 8, n. 7, p. 1111–1123, 2017.
- CHUNG, P. **The emerging problems of *Klebsiella pneumoniae* infections: Carbapenem resistance and biofilm formation.** FEMS Microbiology Letters, v. 363, n. 20, p. 1–6, 2016.
- CLEGG, S.; MURPHY, C. N. **Epidemiology and Virulence of *Klebsiella pneumoniae*.** Microbiology Spectrum, v. 4, n. 1, 2016.
- COSTA, A. L. P. DA; SILVA JUNIOR, A. C. S. **Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura.** Estação Científica (UNIFAP), v. 7, n. 2, p. 45, 2017.
- DOLINSKY, A. L. **M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.**

[s.l: s.n.], v. 8, 2018

DOORDUIJN, D. J. *et al.* **Complement resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae***. Immunobiology, 2016.

ESTRELA, T. S. **Resistência antimicrobiana : enfoque multilateral e resposta brasileira.** Saúde e Política Externa: os 20 anos da Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde (1998-2018), p. 307–327, 2018.

EVARD, B. *et al.* **Roles of capsule and lipopolysaccharide O antigen in interactions of human monocyte-derived dendritic cells and *Klebsiella pneumoniae***. Infection and Immunity, v. 78, n. 1, p. 210–219, 2010.

FERREIRA, D. *et al.* **Targeting human pathogenic bacteria by siderophores: A proteomics review.** Journal of Proteomics, v. 145, p. 153–166, 2016.

FLORES, C. *et al.* **Detection of antimicrobial resistance genes in betalactamase- and carbapenemase-producing *klebsiella pneumoniae* by patient surveillance cultures at an intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 52, n. 5, p. 284–292, 2016.

GUIMARÃES, P. D. C.; VIEIRA, F. O. **A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC): Bactérias multirresistentes.** Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, 2013.

JANDA, J. M. **Taxonomic update on proposed nomenclature and classification changes for bacteria of medical importance, 2016.** Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v. 88, n. 1, p. 100–105, 2017.

KAISER, T. D. L. *et al.* **Isolados De Enterobactérias Provenientes De Um Hospital Da Região De Santa Teresa-Es.** p. 3–7, 2016.

KONEMAN, E.W.; ALLE, N S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W. **. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido.** 6.ed ed. Rio de Janeiro, 2008.

KUMAR, N. *et al.* **Modified Carba NP Test: Simple and rapid method to differentiate KPC- and MBL-producing *Klebsiella* species.** Journal of Clinical Laboratory Analysis, v. 32, n. 7, p. 2–6, 2018.

LEE, C. R. *et al.* **Antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, hypervirulence-associated determinants, and resistance mechanisms.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 7, n. NOV, 2017.

MARQUES, P. B. **Caracterização Molecular de *Klebsiella pneumoniae* Produtoras de β -lactamases de Espectro Ampliado e Carbapenemase tipo KPC isoladas de pacientes hospitalizados em belém, estado do pará.** Belém2016.

MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. **Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae***. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018.

MARTINS, W. M. B. S. *et al.* **Frequency of BKC-1-producing *Klebsiella* species isolates**. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 60, n. 8, p. 5044–5046, 2016.

MIRANDA, A. L. *et al.* **Resultados da implementação de um protocolo sobre a incidência de infecção do trato urinário em unidade de terapia intensiva**. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 24, 2016.

MIRANDA, I. F. *et al.* ***Klebsiella pneumoniae* Produtora de Carbapenemase do tipo KPC : disseminação mundial e situação atual no Brasil**. v. 25, p. 113–119, 2019.

MOBARKI, N.; ALMERABI, B.; HATTAN, A. **Antibiotic Resistance Crisis**. *International Journal of Medicine in Developing Countries*, v. 40, n. 4, p. 561–564, 2019.

MS. **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos, no Âmbito da Saúde Pública**. *Saude.Gov.Br*, n. Primeira edição, p. 25, 2018.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. **Biochemical of sodium fluoride and arsenic trioxide toxicity and their reversal in the brain of mice**. *Fluoride*, v. 37, n. 2, p. 80–87, 2016.

OLIVEIRA, C. G. *et al.* **Perfil de Resistência e Incidência de *Klebsiella* Resistance Profile and Incidence of *Klebsiella pneumoniae***. v. 25, p. 36–40, 2016.

OPAS. OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente Organização Pan-Americana da Saúde, 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812>

ORTIZ, V.; AMBROGINI, C. **Fisiopatologia e Tratamento Clínico da Litíase Urinária**. *Fundamentos da Urologia*, v. 1, n. 1, p. 7, 2014.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. ***Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense**. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, v. 80, n. 3, 2016.

PEREIRA, S. C. L.; VANETTI, M. C. D. **Potential virulence of *Klebsiella sp.* Isolates from enteral diets**. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 48, n. 9, p. 782–789, 2015.

PETERSON, E.; KAUR, P. **Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens**. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, n. NOV, p. 1–21, 2018.

PROKESCH, B. C. *et al.* **Primary osteomyelitis caused by hypervirulent *Klebsiella***

pneumoniae. The Lancet Infectious Diseases, v. 16, n. 9, p. e190–e195, 2016.

RUNCI, F. *et al.* **Contribution of active iron uptake to *Acinetobacter baumannii* pathogenicity**. Infection and Immunity, v. 87, n. 4, p. 1–16, 2019.

RUSSO, T. A. *et al.* **Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae***. Journal of Clinical Microbiology, v. 56, n. 9, 2018.

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

SCUTTI, J. **Fundamentos da Imunologia**. R2. ed. São Paulo; 2016.

SHON, A. S.; RUSSO, T. A. **Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: The next superbug?** Future Microbiology, v. 7, n. 6, p. 669–671, 2012.

SHRIVASTAVA, S. R.; SHRIVASTAVA, P. S.; RAMASAMY, J. **World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**. JMS - Journal of Medical Society, v. 32, n. 1, p. 76–77, 2018.

SILVA, M. O. DA; AQUINO, S. **Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento**. Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, v. 8, n. 4, p. 472–482, 2018.

STÜRCHLER, D. ***Klebsiella* and Klebs the person behind the name**. Travel Medicine and Infectious Disease, v. 14, n. 6, p. 654, 2016.

THOMSON, K. S. **Extended-spectrum- β -lactamase, AmpC, and carbapenemase issues**. Journal of Clinical Microbiology, 2010.

VERAS, R. P. **Relatório Mundial de Saúde_ Financiamento Dos Sistemas De Saúde**. Relatório Mundial da Saúde, p. 1–119, 2010.

WYRES, K. L. *et al.* **Distinct evolutionary dynamics of horizontal gene transfer in drug resistant and virulent clones of *Klebsiella pneumoniae***. PLoS genetics, v. 15, n. 4, p. e1008114, 2019.