

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**TERAPIA COMBINADA COM POLIMIXINA B NO TRATAMENTO DE
BACTEREMIAS CAUSADAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
PRODUTORAS DE CARBAPENEMASE (KPC-KP) – ESTUDO DE COORTE
RETROSPECTIVO**

ALUNO: GREGORY SARAIVA MEDEIROS

Porto Alegre
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**TERAPIA COMBINADA COM POLIMIXINA B NO TRATAMENTO DE
BACTEREMIAS CAUSADAS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
PRODUTORAS DE CARBAPENEMASE (KPC-KP) – ESTUDO DE COORTE
RETROSPECTIVO**

ALUNO: GREGORY SARAIVA MEDEIROS

Orientador: Prof Dr Alexandre P Zavascki
Coorientadora: Profa Dra Maria Helena Rigatto
Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Medicina:
Ciências Médicas, da Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação
em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2017

BANCA EXAMINADORA

Prof Dr Cassiano Teixeira – Programa de Pós Graduação em Ciências da Reabilitação/Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Prof Dr Diego Rodrigues Falci – Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas/Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa Dra Lessandra Michelim Rodriguez Nunes Vieira – Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde/Universidade de Caxias do Sul

Dra Juçara Gasparetto Maccari – Hospital Moinhos de Vento/RS

“In the beginning of the malady it is easy to cure but difficult to detect, but in the course of time, not having been either detected or treated in the beginning, it becomes easy to detect but difficult to cure”.

Machiavelli, 1532

DEDICATÓRIA

A minha mãe Ana, melhor contadora de histórias e primeira apreciadora dos meus escritos, pelo seu exemplo, dedicação e amor incondicionais.

A minha avó Jaja (*in memoriam*) que me legou o carinho como forma primeira de cuidar e curar.

A minha melhor amiga, esposa e colega de profissão Carolina pelo sorriso que ilumina as minhas manhãs e traz sentido a minha vida. Pelo seu auxílio inestimável para a conclusão desse trabalho.

Aos pacientes e suas famílias que todos os dias me ensinam a ser um médico melhor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof Dr Alexandre Zavascki, a quem muito admiro, pela sua confiança depositada no meu trabalho desde o primeiro momento. Pelo seu exemplo e brilhantismo como médico, educador e pesquisador.

A Profa Dra Maria Helena Rigatto pela sua dedicação e empenho. Faltam palavras para agradecer sua disponibilidade, generosidade, habilidade de compartilhar o conhecimento e bom humor transformando as dificuldades em novos desafios.

A minha querida sogra – Profa Dra Simone Travi – por ter corrigido nosso primeiro abstract durante a graduação, pelo seu apoio de todos os dias e pelo seu carinho. A toda família Travi que me acolheu desde o primeiro dia e com quem estou sempre em casa.

Aos professores da Universidade de Caxias do Sul - Dr Asdrubal Falavigna, Dr Carlos Zubarán, Dr Dino de Lorenzi, Dra Eleonora Bedin Pasqualotto, Dr Fabio Firmbach Pasqualotto e Dr José Mauro Madi – meus primeiros orientadores que me ensinaram a importância da pesquisa básica e clínica. Ao meu querido paraninfo Prof Dr Renato Luis Rombaldi e a Profa Adriana de Carli Sonda cujos ensinamentos vão além da medicina. A Profa Dra Lessandra Michelim por tudo que me ensinou, pela sua amizade e por ter sido a primeira incentivadora desde grande projeto que é a pós graduação.

Aos meus melhores amigos e colegas de profissão Jorge Alberto Menegasso Vieira e Lucas Piccoli Conzatti pela sua presença e companheirismo.

Aos meus queridos colegas e preceptores da Família MEI do Hospital Nossa Senhora da Conceição por toda a sua contribuição na minha formação técnica e humanística e à querida e competente Família do Centro de Tratamento Intensivo (CTI) do Hospital Moinhos de Vento que me acolheu de braços abertos e muito tem me ensinado.

Ao Prof Dr Juarez Barbisan, Divalei Bratz e a toda equipe do Centro de Treinamento e Simulação de Emergências Médicas (CTSEM) por acreditarem no meu trabalho e terem me proporcionado minha primeira experiência como professor.

RESUMO

Base Teórica: Bacteremias causadas por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemase são infecções ameaçadoras da vida e com elevadas taxas de mortalidade. As *Enterobacteriaceae* são as principais reponsáveis por bacteremias nos hospitais brasileiros. Há limitadas opções terapêuticas e o melhor tratamento para essas infecções ainda não está definido. O racional teórico para a terapia combinada nesse cenário seria o aumento da ação bactericida e a diminuição da indução de resistência. A terapia combinada com colistina parece estar relacionada com maior sobrevida. Com relação a terapia combinada com polimixina B, no entanto, as evidências são exíguas.

Objetivo: Avaliar a mortalidade em 30 dias de pacientes com bacteremias por KPC-KP com enfoque na terapia combinada.

Métodos: Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo e unicêntrico que incluiu pacientes maiores de 18 anos com diagnóstico de bacteremia por KPC-KP. O desfecho primário avaliado foi mortalidade em 30 dias. Bacteremia por KPC-KP foi definida como uma ou mais hemoculturas positivas para esse microorganismo. A identificação bacteriana e os testes de susceptibilidade foram realizados utilizando o sistema automatizado Vitek 2 (bioMérieux, France). A terapia antimicrobiana foi caracterizada como empírica (iniciada nas primeiras 48 horas) e definitiva (esquemas iniciados ou mantidos após 48 horas) e avaliada da seguinte forma: nenhuma droga ativa, monoterapia (apenas um agente ativo), terapia combinada entre uma droga ativa e uma ou mais drogas inativas e terapia combinada com duas ou mais drogas ativas. A análise estatística foi realizada com o software SPSS para Windows, versão 18.0. As análises de sobrevivência foram realizadas com curvas de Kaplan-Meier e as diferenças foram avaliadas utilizando o log-rank test. Todos os testes foram bicaudais considerando um nível de significância de 95%. Um modelo de regressão de Cox foi realizado para identificar fatores independentemente relacionados com a mortalidade em 30 dias.

Resultados: Foram incluídas 105 bacteremias por KPC-KP. A mortalidade em 30 dias foi de 63 (60%) pacientes. O tempo médio de sobrevida foi de 24 dias (95% IQR, 17-21 dias). A taxa de mortalidade em pacientes tratados com terapia combinada foi significativamente menor (16,5/1000

pacientes-dia) comparada com os pacientes recebendo outros regimes terapêuticos (57,5/1000 pacientes-dia). Terapia combinada (Hazard Ratio [HR]; 0,32; 95% IC, 0,18-0,57; $p<0,01$) e bacteremia urinária (HR; 0,29; 95% IC, 0,09-0,95; $p=0,04$) foram independentemente associados com a sobrevida em 30 dias. Em contrapartida, neoplasias (HR; 1,98; 95% IC, 1,18-3,32; $p=0,01$), admissão por patologia clínica (HR; 2,91; 95% IC, 1,56-5,42; $p<0,01$) e necessidade de tratamento com droga vasoativa (HR; 2,94; 95% IC, 1,59-5,29; $p<0,01$) foram independentemente associados com o desfecho primário.

Conclusão: O presente estudo demonstrou uma mortalidade em 30 dias de 60% nas bacteremias por KPC-KP. A terapia combinada com pelo menos dois agentes ativos *in vitro* foi consistentemente associada com sobrevida em 30 dias.

Palavras-chave: Infecções por *Klebsiella*; *Klebsiella pneumoniae*; Bacteremia; mortalidade; beta-lactamases; carbapenêmicos; amicacina

ABSTRACT

Background: BSI for KPC-KP is a life-threatening disease and compared to other sites of infection related to higher mortality rates. *Enterobacteriaceae* are the leading cause of BSI in Brazilian hospitals. There are limited treatment options and the best available treatment is still unknown. Rationale for combination therapy in this setting would be increasing bactericidal action and decreasing resistance induction. Combination therapy regimens with colistin seemed to be related with higher rates of survival. Polymyxin B combinations were studied only in a few studies.

Objective: In this study we aim to evaluate 30-day mortality in KPC-KP bacteremia with particular emphasis on combination therapy.

Methods: This is a single center retrospective cohort study that included patients older than 18 years diagnosed with KPC-KP BSI. The primary outcome was 30-day mortality after BSI. KPC-KP BSI was defined as one or more positive blood cultures with recovery of KPC-KP. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests were performed using Vitek 2 (bioMérieux, France) automatized system. Antimicrobial therapy was defined as empirical (started on first 48 hours) and definitive (schemes initiated or maintained after 48 hours) and evaluated as follows: no active agents, monotherapy (only one active agents), combination therapy between one active agent plus one or more non-active agents and combination with two or more in vitro active agents. Statistical analysis was performed using SPSS for Windows, version 18.0. Kaplan-Meier survival estimates were calculated and the difference was evaluated using the log-rank test. All tests were two-tailed and a p value < 0.05 were considered statistically significant. A Cox regression model were performed to identify independent factors related to 30-day mortality.

Results: A total of 105 bloodstream infections caused by KPC-KP were included. A total of 63 (60%) patients died in the first 30 days after BSI. Median time to death was 24 days (95% IQR, 17-21 days). The mortality rate in patients treated with the combination of two antibiotics with in vitro activity was significantly lower (16.5/1000 patients-day) compared with that patients receiving other regimens (57.5/1000 patients-day). Combination therapy (Hazard Ratio [HR]; 0.32; 95% CI, 0.18-0.57; $p < 0.01$) and urinary BSI (HR; 0.29; 95% CI, 0.09-

0.95; $p=0.04$) were independently associated to 30-day survival. On the other hand, having Cancer (HR; 1.98; 95% CI, 1.18-3.32; $p=0.01$), non-surgical admission (HR; 2.91; 95% CI, 1.56-5.42; $p<0.01$) and requirement of vasoactive drugs (HR; 2.94; 95% CI, 1.59-5.29; $p<0.01$) were independently associated to 30-day mortality.

Conclusion: This study showed a 60% 30-day mortality in KPC-KP BSI. Combination therapy with two in vitro active agents was independently associated with 30-day survival.

Key words: *Klebsiella* infections; *Klebsiella pneumoniae*; bacteremia; mortality; beta-lactamases; carbapenems; amikacin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma para identificação dos estudos

Figura 2 – A – Coloração de gram da *E coli* com ampliação de 1000 vezes; B – Estrutura antigênica das *Enterobacteriaceae*

Figura 3 – Classificação das betalactamases

Figura 4 – Pontos de corte clínicos e para triagem de *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases (de acordo com a metodologia do EUCAST)

Figura 5 – Pontos de corte do CLSI e EUCAST para colistina

Figura 6 – Estrutura química dos antimicrobianos com atividade *in vitro* contra as *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos

Figura 7 – Equivalência de dose da colistina entre as diferentes apresentações

Figura 8 – Doses de colistina sugeridas pelo FDA

Figura 9 – Ativação dos genes modificadores de polissacarídeos envolvidos na resistências às polimixinas em bactérias gram negativas

Figura 10 – Principais estudos clínicos avaliando terapia combinada

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AB: *Acinetobacter baumannii*

AMP-C: Ampicilinase da Classe C de Ambler

APACHE: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*

BSI: *Bloodstream Infection*

BKC-1: *Brazilian Klebsiella carbapenemase*

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CCI: *Charlson Comorbidity Index*

CIM ou MIC: Concentração inibitória mínima ou *Minimum inhibitory concentration*

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMS: Colestimetato ou colistina metassulfato

CRE: *Enterobacteriaceae* produtora de carbapenemase

CTX: Cefotaxima

ESBL: Beta-lactamases de espectro expandido

EUCAST: *European Comitee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

f AUC: Fração livre sobre a concentração inibitória mínima

FDA: *Food and Drug Administration*

GES: *Guyana extended-spectrum*

GIM: *German imipenemase*

HR: *Hazard Ratio*

IC ou CI: Intervalo de confiança ou *Confidence Interval*

IQR: Intervalo interquartil ou *Interquartile Range*

IMI: Imipenem

KP: *Klebsiella pneumoniae*

KPC: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

KPC-KP: *Klebsiella pneumoniae produtora de Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

LPS: Lipopolissacarídeo

L-Ara4N: 4-amino-4-deoxy-L-arabinose

MALDI-TOF: *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometria*

NDM: *New Delhi metallo- β -lactamase*

NP: *Nordmann-Poirel*

OR: *Odds Ratio*

OXA: Oxacillinase

PA: *Pseudomonas aeruginosa*

PCR: Reação em cadeia de polymerase ou *Polymerase Chain Reaction*

PMB: Polimixina B

PBS: *Pitt Bacteremia Score*

SHV: Sulfidril variante

SIM: *Seoul imipenemase*

SME: *Serratia marcescens* β -lactamase de espectro expandido

SPM: São Paulo metalo- β -lactamase

TEM: TEMoniera

UNIFESP: Universidade Federal de São Paulo

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

VEB: Verona codificada por íntegron metalo- β -lactamase

VIM: Verona codificada por íntegron

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. ESTRATÉGIA DE BUSCA DE INFORMAÇÕES PARA REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Busca de dados.....	19
2.2 Resultado da busca de dados.....	19
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	21
3.1 Enterobacteriaceae.....	21
3.1.1 Microbiologia.....	21
3.1.2 Epidemiologia.....	24
3.1.3 Detecção da produção de carbapenemases.....	28
3.1.4 Testes de susceptibilidade para Polimixinas.....	30
3.1.5 Descolonização.....	31
3.2 Tratamento.....	32
3.2.1 Considerações gerais.....	32
3.2.2 Polimixinas.....	35
3.2.3 Terapia combinada.....	40
4. JUSTIFICATIVA.....	51
5. OBJETIVO.....	52
5.1 Objetivo Geral.....	52
5.2 Objetivos Específicos.....	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
7. ARTIGO 1.....	68
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
9. ANEXOS.....	90
9.1 Instrumento de coleta de dados.....	90

9.2	Charlson Comorbidity Index.....	94
9.3	Pitt Bacteremia Score.....	95

1. INTRODUÇÃO

Klebsiella pneumoniae é um bacilo gram negativo, anaeróbio facultativo, fermentador de glicose e oxidase negativo que pertence à família das *Enterobacteriaceae* e pode ser comumente encontrado na microbiota do trato gastrointestinal de humanos e animais.¹ É um dos germes mais comumente implicados em infecções nosocomiais podendo causar infecções urinárias, do sítio cirúrgico, de partes moles, em dispositivos implantados, pneumonias com extensas consolidações necrotizantes e bacteremias.²⁻⁶

Nas últimas décadas, a emergência de bacilos gram negativos com resistência adquirida a múltiplas drogas tem modificado os indicadores epidemiológicos das infecções hospitalares, tornando-se um relevante problema de saúde pública.⁷ Países em desenvolvimento, com carência de recursos humanos e financeiros, tendem a taxas mais elevadas de infecções hospitalares e um maior número de microorganismos multirresistentes. A mortalidade hospitalar das infecções causadas por bacilos gram negativos multi-resistentes chega a 70%.⁸

São inúmeros os mecanismos de resistência dos bacilos gram negativos, como por exemplo: síntese de beta-lactamases, hiperexpressão de bombas de efluxo, mutações em proteínas ligadoras de penicilinas e mutações de porinas.⁹ As beta-lactamases são enzimas que inativam os antimicrobianos a partir da degradação do anel beta-lactâmico e impedindo que eles tenham ação sobre a parede celular bacteriana. As beta-lactamases mais preocupantes no contexto de resistência a múltiplas drogas são as beta-lactamases de espectro expandido (ESBL) e as carbapenemases.¹⁰

Os genes dos grupos *blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM*, *blaNdm* e *blaOxa*, são os reponsáveis pela síntese das carbapenemases mais prevalentes.¹¹ A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é uma betalactamase pertencente a classe A de Ambler e ao grupo 2f de Bush,¹² que é resistente à ação de todos os betalactâmicos. Dentre as 22 carbapenemases caracterizadas, as KPC-2 e KPC-3 são as mais comumente encontradas globalmente.¹³ No Brasil, a KPC-2 é a mais prevalente. O isolamento dessas cepas é mais frequente em pacientes críticos com múltiplas comorbidades, status nutricional

precário, submetidos a intervenção cirúrgica, em hemodiálise e com internações prolongadas.¹⁴

A disseminação de enterobactérias produtoras de KPC (CRE) tem sido um desafio clínico e epidemiológico em várias instituições de saúde brasileiras. Recentemente Seco et al demonstraram que 96,2% das cepas de *K pneumoniae* de 10 hospitais privados do Estado de São Paulo eram resistentes aos carbapenêmicos.¹⁵ As principais drogas com atividade contra esse grupo de bactérias são as polimixinas, tigeciclina, aminoglicosídeos, fosfomicina e temocilina (utilizada principalmente no Reino Unido).¹⁶ As propriedades farmacocinéticas e efeitos adversos dos fármacos disponíveis tornam o seu tratamento ainda mais desafiador.¹⁷

O tratamento ideal para as infecções por CRE ainda não está completamente definido por uma série de razões. Primeiramente, a maior parte das evidências incluem pacientes com múltiplas comorbidades o que, por si, poderia resultar em piores desfechos. Além disso, quando os microorganismos isolados provêm de sítios não estéreis como o trato respiratório e urina torna-se difícil diferenciar entre colonização e infecção. Ainda, a coinfeção é frequente, o tratamento costuma ser iniciado mais tardiamente e múltiplos antibióticos são frequentemente utilizados, muitas vezes em combinação.

O racional teórico para a combinação de drogas seria o aumento da ação bactericida e a diminuição da indução de resistência. Embora ainda não completamente compreendido, sugere-se que as polimixinas permeabilizariam a membrana plasmática favorecendo a ação intracelular de um segundo ou terceiro antimicrobiano.¹⁸ A definição de terapia combinada é variável na literatura. Alguns autores definem como terapia combinada a utilização de dois ou mais antimicrobianos com ação possível contra os bacilos gram negativos, por um período de pelo menos 48h, a despeito dos testes de susceptibilidade *in vitro*. Na definição de Tumbarello¹⁹ e Zarkotou,²⁰ entretanto, há necessidade do uso de dois ou mais antimicrobianos suscetíveis *in vitro* de acordo com os critérios do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para definir terapia combinada. Já Lopez-Cortes²¹ e Paul M²² consideram regimes terapêuticos específicos como terapia combinada a despeito do perfil de sensibilidade. Rigatto *et al* em estudo recente realizado em Porto Alegre demonstraram que a terapia combinada com Polimixina B está associada a diminuição da mortalidade

em trinta dias em infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* multirresistentes.²³ No entanto, outros estudos observacionais e uma metanálise não conseguiram verificar melhores desfechos da terapia combinada quando comparada à monoterapia.^{6,24–26}

Considerando a relevância da *Klebsiella pneumoniae* nas infecções nosocomiais, as altas taxas de mortalidade relacionadas aos seus mecanismos de resistência e a exígua evidência científica sobre a melhor opção terapêutica, o presente estudo visa elucidar aspectos da terapia antimicrobiana combinada com polimixina B em infecções de corrente sanguínea por KPC-KP.

2. ESTRATÉGIA DE BUSCA DE INFORMAÇÕES PARA REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Busca de dados

Os estudos foram selecionados nas bases eletrônicas de dados Embase, Pubmed, e LILACS. As palavras-chave deveriam estar contidas no corpo do resumo dos artigos. Não houve restrição do idioma, tipo ou data de publicação. Posteriormente, foram selecionados de acordo com a sua relevância e pertinência, conforme sumarizado na tabela 1.

2.2 Resultado da busca de dados

- Estratégia Embase - 151 artigos

((('klebsiella infection'/exp OR 'klebsiella infection' OR 'klebsiella infections' OR 'klebsiella pneumoniae'/exp OR 'klebsiella pneumoniae' OR 'k. pneumoniae' OR 'klebsiella pneumonia' OR 'pneumoniae, klebsiella') AND ('cancer mortality'/exp OR 'cardiovascular mortality'/exp OR 'hospital mortality'/exp OR 'maternal mortality'/exp OR 'mortality rate'/exp OR 'standardized mortality ratio'/exp OR 'surgical mortality'/exp OR 'mortality or' OR death) AND (carbapenem* OR kpc*)) AND [embase]/lim NOT [medline]/lim.

- Estratégia Pubmed - 427 artigos

“Klebsiella Infections/mortality”[Mesh] OR (“Klebsiella pneumoniae” AND (mortality OR death*)) AND (“beta-Lactamases”[Mesh:noexp] OR carbapenemas* OR kpc*).

- Estratégia LILACS – 131 artigos

(tw:(Klebsiella)) AND (tw:(carbapenem*)) (filtrar por LILACS).

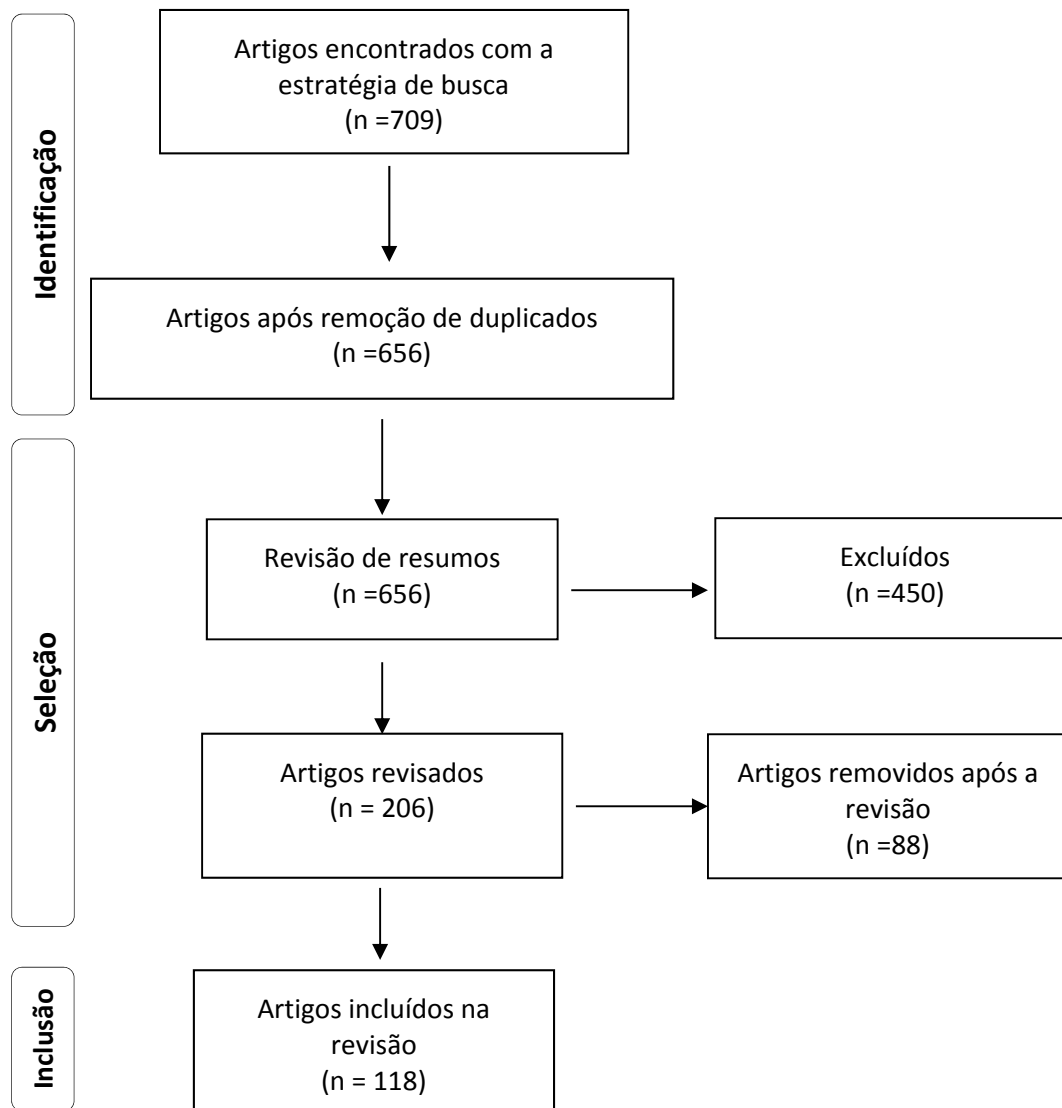


Figura 1. Fluxograma para identificação dos estudos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Enterobacteriaceae

3.1.1 Microbiologia

Enterobacteriaceae é uma família de bacilos gram negativos de estrutura antigênica complexa, comumente flagelados, anaeróbios facultativos e fermentadores de carboidratos, que habitam o trato gastrointestinal. É composta por 63 gêneros e 25 espécies associadas à produção de endotoxinas e inúmeros fatores de virulência. Os gêneros mais relevantes são *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Proteus*.¹ Costumam ter crescimento no meio ágar MacConkey, são catalase positivos e oxidase negativos, sendo encontrados em 50% das infecções hospitalares e em 80% dos isolados de gram negativos.²⁷

Klebsiella spp é o segundo gênero mais importante nesta família, sendo a *K pneumoniae* a espécie mais estudada e de maior relevância clínica. Chama a atenção por ser imóvel, formar colônias mucóides que coalescem e frequentemente ser multiresistente. Os sítios de infecção mais comumente relacionados a esse microorganismo são: urinário, cirúrgico, partes moles, dispositivos implantados, pneumonias com extensas consolidações necrotizantes e bacteremias.

A sua estrutura antigênica é composta de antígenos capsulares (K), lipopolissacarídicos (O) e flagelares (H). Os antígenos (K) são externos aos antígenos (O) na maior parte das Enterobacteriaceae. K1 e K2 costumam estar associados a infecções do trato respiratório, enquanto os subtipos 8, 9, 10 e 24 causam infecções do trato urinário. Os antígenos (O) estão presentes na parede celular conferindo resistência ao calor e ao álcool. Também produzem exotoxinas que são capazes de lesar a membrana celular, inibir a síntese proteica e alterar vias metabólicas²⁸. O lipopolissacarídeo, por sua vez, é composto de 3 regiões sendo a porção interna, denominada lipídeo A, a mais importante, por conferir estabilidade à membrana externa.

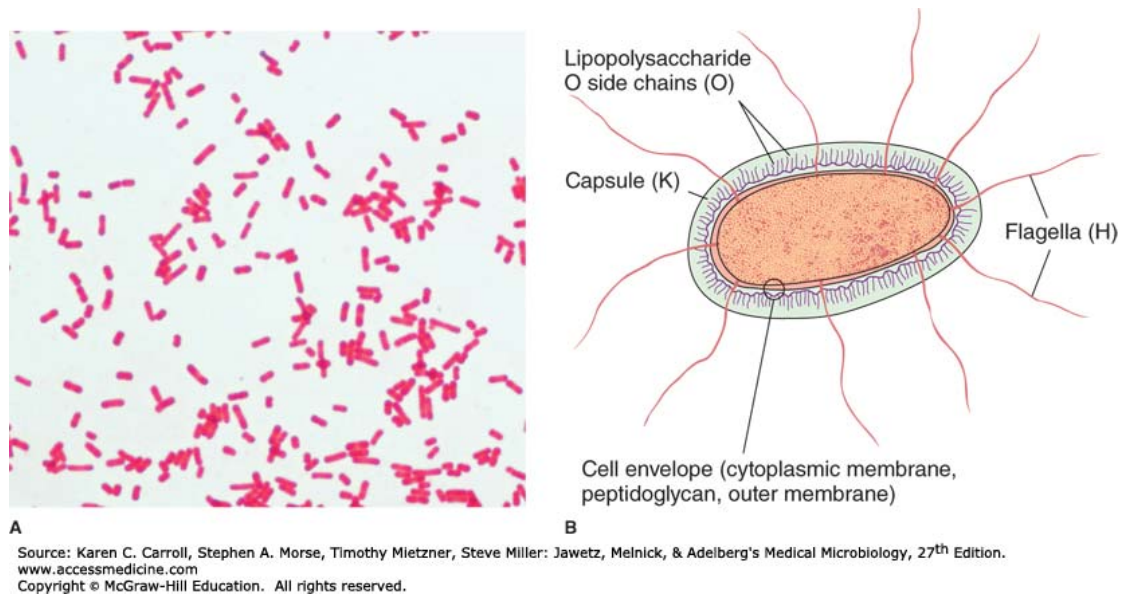


Figura 2. A – Coloração de gram da *E coli* com ampliação de 1000 vezes
 B – Estrutura antigênica das *Enterobacteriaceae*.¹

As betalactamases são um grupo de enzimas sintetizadas pelas *Enterobacteriaceae* que inativam os antibióticos beta-lactâmicos a partir da hidrólise da sua ligação com o amido. Podem ser codificadas por genes cromossomais ou por genes transferíveis como os plasmídeos e transposons. Os genes codificantes das beta-lactamases são denominados *bla*. De acordo com a sua estrutura química, são classificadas em quatro grupos (A a D), pela classificação de Ambler. Ainda, o sistema de Bush-Jacoby-Medeiros as subclassifica de acordo com seu substrato e inibição pelo ácido clavulânico. As classes A, C e D hidrolizam o anel beta-lactâmico a partir da serina; portanto, são serino- β -lactamases. A classe B é também conhecida como metalo- β -lactamase por usar o zinco como substrato.

As carbapenemases são betalactamases de grande relevância epidemiológica em virtude de sua ampla disseminação global e dividem-se em três grandes grupos: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC), metalo- β -lactamases - NDM, VIM, IMI, por exemplo - e oxa- β -lactamases -OXA-48, por exemplo. A causa enzimática mais comum para a resistência aos carbapenêmicos é a produção das *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC). A KPC é uma serino betalactamase da classe A de Ambler e grupo 2f de Bush. As KPC-2 e KPC-3 são as mais frequentemente encontradas

globalmente.² As principais *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases (CRE) são a *Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP), *Escherichia coli* e *Enterobacter spp.*²⁹

Sistema Bush-Jacoby-Medeiros	Tipo enzimático	Inibição pelo ácido clavulânico	Sistema Ambler	Principais representantes e características
1	Cefalosporinase	Não	C	Cromosomal; AMP-C; resistente a todos os betalactâmicos, exceto carbapenêmicos
2a	Penicilinase	Sim	A (serina)	Penicilinases estafilocócicas; <i>Bacillus cereus</i>
2b	Amplo espectro	Sim	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	Espectro estendido	Sim	A (serina)	TEM- e SHV variantes; CTX-M-derivada; GES-1, 2; VEB-1, 2
2br	Resistente a inibidores	Fraca	A	TEM-30
2c	Carbencilinase	Sim	A	Carbencilina hidrolizantes
2d	Cloxacilinase	Sim	D ou A	Oxacilina hidrolizantes (OXA)
2e	Cefalosporinase	Sim	A	Cefalosporinases
2f	Carbapenemase	Sim	A	Carbapenemases inibidas pelo ácido clavulânico (IMI, KPC, SME-1)
3	Metaloenzimas	Não	B (Zn ²⁺)	Carbapenemases dependentes do zinco (VIM, NDM-1, GIM, SPM, SIM)
4	Penicilinase	Não	Não classificado	Variável

Figura 3. Classificação das betalactamases. AMP-C, ampicilinase da Classe C; CTX, cefotaxima; GES, *Guyana extended-spectrum*; GIM, *German*

imipenemase; IMI, imipenemase; KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; NDM, *New Delhi metallo-β-lactamase*; OXA, oxacillinase; SIM, *Seoul imipenemase*; SHV, sulfidril variante; SME, *Serratia marcescens* β-lactamase de espectro expandido; SPM, São Paulo metallo-β-lactamase; TEM, TEMoniera; VEB, Verona codificada por íntegron metallo-β-lactamase; VIM, Verona codificada por íntegron. Adaptado de Opal SM et al.³⁰

3.1.2 Epidemiologia

Do ponto de vista epidemiológico, a incidência de infecções pelas *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemase (CRE) tem crescido vertiginosamente.^{29,31} Até meados dos anos 2000, esse mecanismo de resistência era raramente relatado. Uma revisão sistemática de estudos observacionais verificou um aumento na prevalência da resistência aos carbapenêmicos de 2% em 1988 para 53% em 2014.³²

A primeira cepa de KPC-KP foi isolada na Carolina do Norte, em 1996.³³ Posteriormente, a partir de 2001, surtos hospitalares desse germe passaram a ser notificados em hospitais de Nova Iorque. Nos anos seguintes, países como Israel,³⁴ China³⁵ e Grécia³⁶ também passaram a reportar surtos de KPC-KP. Na América do Sul, a Colômbia foi o primeiro país a notificar uma cepa produtora de carbapenemase, em 2006.³⁷

No Brasil, os estados de São Paulo, Recife e Rio de Janeiro foram os primeiros a reportar o isolamento da bactéria entre 2006 e 2008. O laboratório Alerta do Departamento de Doenças Infecciosas da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) confirmou a detecção de uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a ertapenem procedente do Hospital Paulista Heliópolis através do teste modificado de Hodge em 2008.³⁸ Entre 2008 e 2009 foram notificados mais seis casos de infecções causadas por KPC-KP. De maneira geral, mais da metade dos pacientes haviam sido hospitalizados nas três semanas prévias ao diagnóstico e utilizado beta lactâmicos. Todas as amostras eram sensíveis a amicacina e polimixina B.³⁸

Dentre as carbapenemases, a KPC-2 tem sido a mais prevalente no Brasil até o presente momento,³⁹ não havendo registro de KPC-1 e KPC-3. Os grupos

clonais mais frequentemente encontrados são o ST11 e ST437, que pertencem ao complexo 258, conforme Seco *et al*, que avaliaram 3085 amostras de *K pneumoniae* de pacientes procedentes de 10 hospitais privados da cidade de São Paulo entre 2011 e 2015.¹⁵ No mesmo estudo, verificou-se um aumento exponencial da resistência aos carbapenêmicos de 6,8% (2011) para 96,2% (2015), tendo havido disseminação intra e inter hospitalar.

No ano de 2013, o primeiro isolamento da metalobetalactamase NDM foi notificado na cidade de Porto Alegre⁴⁰. Mais recentemente, uma nova classe de carbapenemase do tipo 1 denominada *Brazilian Klebsiella carbapenemase* (BKC-1) foi descrita.⁴¹ A resistência à Polimixina B atingiu alarmantes 27,5% no Estado de São Paulo em 2015.⁴²

No contexto hospitalar e em instituições de cuidados de longa permanência, pode haver transmissão através de fômites, soluções parenterais ou interpessoal. As principais medidas de controle são a higienização das mãos, assepsia rigorosa, desinfecção e esterilização de equipamentos. Pacientes colonizados com bacilos gram negativos multirresistentes normalmente são mantidos sob precauções de contato.

Na população dos Estados Unidos da América, entre os anos de 2012 e 2013, estudo de Guh *et al*⁴³ descreveu uma incidência de CRE de 2,93/100.000 com uma mortalidade geral de 9%. Foram incluídos na análise 559 pacientes dos quais 70% tinham infecção do trato urinário inferior, 12,2% bacteremias, 3% choque séptico e 2,9% pneumonias. Chamava a atenção que nessa coorte de pacientes, 95% apresentavam exposição a cuidados de saúde no ano anterior (75% haviam sido hospitalizados, 48,8% residiam em instituições de longa permanência, 36,5% tinham se submetido a algum tipo de procedimento cirúrgico e 11,3% faziam hemodiálise). Ainda, 75% dos pacientes tinham algum tipo de dispositivo invasivo (74,6% utilizavam sonda vesical de demora, 42,7% catéter venoso central e 39,2% gastrostomia).

Na Europa, os dados são ainda mais alarmantes e países como a Grécia alcançam uma prevalência de CRE de 59,4%.⁴⁴ Na Espanha, um estudo avaliado 780 isolados comunitários de *Enterobacteriaceae* de 2010 a 2014 descreveu uma prevalência de CRE de 23%.⁴⁵

Recente metanálise⁴⁶ se propôs a avaliar a mortalidade em 2462 infecções por KPC-KP. A mortalidade geral foi de 42,14%, variando entre 82,4%³

e 22,8%,⁴⁷ tendo sido mais elevada na América do Sul (46,7%) e Europa (50,3%) quando comparada a América do Norte (33,2%) e Ásia (44,8%). Pacientes com infecções de corrente sanguínea apresentaram os índices mais elevados de mortalidade (54,3%) enquanto o sítio urinário apresentou a maior sobrevida (86,5%).

Outra metanálise conduzida em 2013⁴⁸ se propôs a avaliar os custos hospitalares atribuíveis as infecções por germes multirresistentes. Os autores concluíram que o aumento nos custos hospitalares diretos chega a 400%. Estudo de caso-controle canadense de 2015⁴⁹ avaliando especificamente os custos hospitalares das infecções por *E coli* e *K pneumoniae* produtoras de ESBL comparadas às espécies não produtoras verificou um custo por paciente de aproximadamente R\$ 27.000,00 comparado a R\$ 20.000,00, respectivamente. O aumento dos custos foi atribuído ao maior tempo de internação, transferência para UTI e adoção de medidas de prevenção e controle. Além disso, metade dos pacientes com infecções por ESBL não receberam tratamento empírico adequado.

A exposição prévia aos carbapenêmicos é um dos seus fatores de risco mais relevantes (OR 4,63, 95% CI 3,08-6,96).³² Com relação aos demais fatores de risco para infecções por bacilos gram negativos multirresistentes, um estudo de coorte retrospectivo realizado na Colômbia entre 2009 e 2010 incluiu 80 pacientes com isolamento de *K. pneumoniae* produtora de ESBL, somente quatro produtoras de KPC. Nesse estudo, além do uso prévio de ceftriaxona ou carbapenêmicos (por pelo menos 48 horas, nos últimos 30 dias) foram considerados fatores de risco para infecção por *K pneumoniae* ESBL: diabetes mellito e doenças cardiovasculares.⁵⁰ No mesmo estudo, doença cardiovascular, doença pulmonar crônica, neoplasia maligna, bacteremia, admissão na UTI e ventilação mecânica foram considerados fatores de risco para mortalidade em 30 dias. Pacientes neutropênicos, submetidos a transplantes de órgãos sólidos, portadores de neoplasias hematológicas e submetidos a transplante de medula óssea também tem risco aumentado de infecções por enterobactérias resistentes a carbapenêmicos e de mortalidade por essas infecções.³²⁵¹⁴⁶

Estudando fatores de risco para bacteremias por bacilos gram negativos multirresistentes, Chopra *et al*⁵² descreveram em estudo de caso-controle que incluiu 103 pacientes de 2004 a 2009 que o fator de risco mais relevante foi a

terapia antimicrobiana prévia, principalmente quando incluía beta-lactâmicos. No Brasil, estudo de caso-controle, realizado no Hospital Evangélico de Curitiba entre 2006 e 2011, também se propôs a investigar os fatores de risco para bacteremia por KPC-KP.⁵³ Os mais importantes fatores de risco descritos foram idade avançada e ventilação mecânica.

As bacteremias por bacilos gram negativos parecem estar associadas com maior gravidade e maiores taxas de mortalidade quando comparadas a infecções de outros sítios pelo mesmo germe. Tamma *et al*,⁵⁴ avaliando a mortalidade por bacteremia em 14 dias em 83 pacientes, comparando enterobactérias produtoras de carbapenemases com aquelas que não apresentavam esse mecanismo de resistência, verificou que pacientes com KPC-KP tinham um risco de morte de 32% - quatro vezes maior quando comparados às bacteremias por enterobactérias não produtoras de carbapenemase (OR 4,92; 95% CI 1,01-24,81, $p < 0,01$). Além disso, Cristina ML *et al*,⁵⁵ em estudo analisando 147 casos de KPC-KP entre 2013 e 2014, verificaram maior mortalidade hospitalar de bacteremias comparadas a outros sítios de infecção (HR 3,11; 95% CI 1,66-5,84, $p < 0,01$).

Inúmeros instrumentos para avaliação do risco de mortalidade tem sido empregados com intenção de auxiliar nas decisões sobre tratamento e prognóstico dessas infecções. O Charlson Comorbidity Index (CCI)⁵⁶ é a escala de comorbidades mais amplamente utilizada e inclui 19 itens que são ponderados de acordo com o seu impacto na mortalidade. Já o Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) é comumente utilizado para comparar gravidade de pacientes sépticos entre diferentes centros de cuidado.⁵⁷ A aplicação clínica desse score é dificultada por requerer exames laboratoriais e incluir muitas variáveis.

O Pitt Bacteremia Score (PBS) foi desenvolvido em Pittsburgh na década de 90 e validado por vários estudos posteriormente. É comumente utilizado nas bacteremias por bacilos gram negativos. Todos os critérios são classificados 24 horas antes ou no dia da primeira cultura positiva. O maior score durante este período é registrado. Estudo de Rhee *et al* em 2009⁵⁸ comparou o PBS com o APACHE II em 134 pacientes para predizer mortalidade em pacientes internados na UTI com diagnóstico de sepse, tendo demonstrado que ambos os scores correlacionam-se independentemente com mortalidade. Ainda, demonstrou que

o PBS, quando comparado ao APACHE II, tem maior sensibilidade e especificidade.

3.1.3 Detecção da produção de carbapenemases

De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) as *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenêmicos (CRE) são aquelas não suscetíveis a pelo menos um carbapenêmico (imipenem, meropenem ou doripenem) e resistentes a todas as cefalosporinas de terceira geração (ceftriaxona, ceftazidima e cefotaxima). Algumas bactérias, como *Morganella morganii*, *Proteus spp*, *Providencia spp* e *Stenotrophomonas maltophilia*, são intrinsecamente resistentes ao imipenem e, portanto, requerem teste de susceptibilidade ao meropenem ou doripenem para serem definidas como CRE.

Carbapenêmico ¹	MIC (mg/L)		Diâmetro do halo de inibição (mm) com discos de 10µg	
	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente
Meropenem	≤ 2	>8	≥ 22	<16
Imipenem ²	≤ 2	>8	≥ 22	<16
Ertapenem	≤ 0,5	>1	≥ 25	<22
Doripenem	≤ 1	>2	≥ 24	<21

Figura 4. Pontos de corte clínicos e para triagem de *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases (Adaptado de EUCAST⁵⁹). ¹Os pontos de corte dos carbapenêmico para *Enterobacteriaceae* irão detectar todos os mecanismos de resistência importantes (incluindo a maior parte das carbapenemases). Alguns isolados que produzem carbapenemases são categorizados como suscetíveis com esses pontos de corte e devem ser reportados e testados – a presença ou ausência de carbapenemase, por si, não determina a categorização da susceptibilidade. Para fins de controle de infecção a detecção e categorização das carbapenemases é fundamental. ²Resistência de baixo nível é comum em *Morganella*, *Proteus* e *Providencia*.

Após a verificação da sensibilidade reduzida para carbapenêmicos nos testes de rotina métodos fenotípicos para a confirmação das carbapenemases devem ser realizados, como o teste do disco combinado.⁶⁰ Esse teste baseia-se

no princípio de que o ácido borônico inibe as carbapenemases do tipo A e o ácido dipicolínico inibe as carbapenemases do tipo B, não havendo até o momento inibidor específico das carbapenemases do tipo D. A cloxacilina, que inibe as AMP-C permite a diferenciação entre os mecanismos de resistência de hiperprodução de AMP-C com perda de porinas e produção de carbapenemases. A principal desvantagem desse método é que ele requer pelo menos 18 horas para ser realizado.⁶¹ O uso do teste modificado de Hodge não é recomendado porque os resultados são difíceis de interpretar, a especificidade é baixa e a sensibilidade também não é adequada.⁶²

O teste rápido NP (Nordmann-Poirel) para a detecção de *Enterobacteriaceae* resistentes às carbapenemases consiste na detecção da metabolização de glicose associada ao crescimento bacteriano com formação de metabólitos ácidos que são evidenciados por uma troca de cor (laranja para amarelo) e permite diferenciar a produção de carbapenemases de outros mecanismos de resistência. As elevadas sensibilidade e especificidade, o baixo custo e a técnica de execução simples tornam o teste NP uma alternativa para países com endemias de CRE.⁶³

Inúmeras novas tecnologias tem surgido atualmente no cenário de diagnóstico mais precoce e preciso como imunocromatografia rápida, ensaios enzimáticos rápidos e a Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF). MALDI-TOF tem demonstrado ótimo desempenho na identificação bacteriana e também pode ser utilizado para a detecção de alguns mecanismos de resistência como a produção de betalactamases com resultados disponíveis entre uma e quatro horas após o período de incubação.^{64,65} No entanto, esse método não é capaz de detectar o tipo de betalactamase.

Também estão disponíveis plataformas diagnósticas baseadas em biologia molecular que detectam em um período de uma hora os genes *blaKPC* em culturas e swabs retais como a Xpert, Carba-R e Check-Direct CPE.⁶⁶ Outros métodos como FilmArray, BC-ID e Verigene identificam genes *blaKPC* diretamente a partir das hemoculturas.⁶⁷

O diagnóstico precoce é fundamental nas infecções por *K pneumoniae* multirresistentes para que se inicie o tratamento apropriado e se estabeleçam as

medidas de controle epidemiológico. Ele tem sido associado com redução da mortalidade, da permanência hospitalar e dos custos associados à internação.⁶⁸

3.1.4 Testes de susceptibilidade para Polimixinas

De maneira geral, as propriedades catiônicas das polimixinas limitam muito a sua avaliação e impedem que métodos de referência para avaliação de sua susceptibilidade, embora estabelecidos, estejam em constante revisão. Há recomendações conflitantes sobre os pontos de corte de susceptibilidade nas diferentes sociedades atualmente tanto para a polimixina B quanto para a colistina. Com relação à determinação da MIC da colistina, a recomendação do CLSI-EUCAST é de que o teste de referência seja realizado com o método de microdiluição em caldo (*Broth Microdilution*), cuja execução demanda pelo menos 24 horas.⁶⁹ Outros métodos como disco de difusão e Etest também foram propostos; no entanto, em virtude da pobre difusão das polimixinas em ágar, os falsos positivos com essas técnicas podem chegar a 32%.^{69,70}

O maior desafio técnico para a avaliação do perfil de sensibilidade das polimixinas é a sua interação com o poliestireno. Esse efeito poderia ser reduzido pela adição de um surfactante com o polisorbato 80, no entanto esse componente também pode interagir sinergicamente com as polimixinas reduzindo as suas MICs.⁷¹ Outro desafio é o fato do colestimetato, forma ativa da colistina, não poder ser utilizado para testes *in vitro* por falsear o resultado das MICs.⁷²

Nos Estados Unidos, não há testes *in vitro* para avaliação de sensibilidade às polimixinas comercialmente disponíveis em parte porque o FDA não estabelece pontos de corte para esses agentes. Etest e TREK Sensitivity estão disponíveis para utilização em protocolos de pesquisa.⁷¹ Os pontos de corte do CLSI para polimixina B são os mesmos da colistina.⁷³ Entretanto, resultados do SENTRY sugerem que a extrapolação do perfil de sensibilidade da colistina para polimixina B deveria ser inadequada.⁷⁴

Microorganismo	CLSI MIC (mg/L)	EUCAST MIC (mg/L)
----------------	-----------------	-------------------

	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	-	≤ 2	>2
<i>Acinetobacter</i>	≤ 2	≥4	≤ 2	>2
<i>Pseudomonas</i>	≤ 2	≥8	≤ 4	>4
Outros bacilos gram negativos	≤ 2	≥8	-	-

Figura 5. Pontos de corte do CLSI e EUCAST para colistina. Adaptado de Humphries⁷¹

3.1.5 Descolonização

As infecções por CREs normalmente provêm de pacientes com colonização do trato gastrointestinal por esses microorganismos. A descolonização é uma medida que vem sendo estudada como estratégia para eliminar o carreamento dessas bactérias, o que teoricamente reduziria a possibilidade de infecção.⁷⁵ A principal preocupação relacionada às estratégias de descolinização é a seleção e indução de resistência,

Zuckerman *et al*, em 2011, realizaram um estudo piloto que incluiu 15 pacientes hemato-oncológicos com swab retal positivo para KPC-KP. O protocolo consistia na administração de gentamicina 80mg quatro vezes ao dia, por via oral, até a erradicação, a qual ocorreu com uma mediana de 27 dias. A erradicação foi alcançada em (10/15) 66% dos pacientes e persistiu por um período em torno de nove meses. No período, não foi identificada nenhuma espécie resistente a gentamicina e a administração concomitante com quimioterapia foi possível⁷⁶.

Em 2012 um ensaio clínico randomizado controlado e duplo-cego foi conduzido por Saidel-Odes *et al*⁷⁷. O estudo incluiu 40 pacientes colonizados por KPC-KP. O grupo intervenção recebeu um gel oral contendo 0,5 gramas de colistina e gentamicina e uma solução oral de gentamicina 80mg quatro vezes por dia até a erradicação microbiológica. Além disso, receberam colistina 1x10⁶ unidades quatro vezes por dia, por sete dias. O grupo intervenção teve uma redução estatisticamente significativa na colonização por KPC-PC (OR 0,13; 95% CI 0,02-0,74, *p*<0,01). Também não foi evidenciada resistência a colistina

ou gentamicina durante o estudo. Em virtude disso, sugeriram que essa estratégia fosse utilizada em receptores de transplantes, imunossuprimidos por quimioterapia e candidatos a cirurgias gastrointestinais de grande porte e orofaríngeas. Por outro lado, Lubbert *et al*⁷⁸ utilizando o mesmo esquema de descolonização durante um surto hospitalar de KPC-KP concluíram que o mesmo não foi eficaz para descolonização e associou-se a maiores taxas de resistência.

Estudo de Tascini *et al*⁷⁹, realizado em três hospitais italianos, que incluiu pacientes com colonização gástrica por KPC-KP que seriam submetidos a cirurgia gastrointestinal não verificou diferenças na mortalidade após estratégia de descolonização. Já Machuka *et al*,⁸⁰ avaliando um grupo de 77 pacientes de alto risco (neutropênicos, cirurgia de grande porte, múltiplas comorbidades) verificou que a descolonização do trato gastrointestinal com aminoglicosídeos, em um período de 180 dias, associou-se com redução da mortalidade e das infecções causadas por KPC-KP.

Desse modo, não parece haver evidências consistentes para indicar a descolonização de portadores de KPC-KP devendo avaliar-se individualmente os grupos de maior risco.

3.2 Tratamento

3.2.1 Considerações gerais

Existem limitadas opções terapêuticas para o tratamento das infecções causadas por *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases (CRE). Além disso, as propriedades farmacocinéticas e efeitos adversos dos fármacos disponíveis tornam o seu tratamento ainda mais desafiador¹⁷. As principais drogas com atividade contra esse grupo de bactérias são: fosfomicina, tigeciclina, aminoglicosídeos, polimixinas, e temocilina (utilizada principalmente no Reino Unido)¹⁶.

A fosfomicina é um antimicrobiano bactericida derivado do ácido fosfônico, com um amplo espectro contra bactéria gram positivas e gram negativas, cuja principal indicação é o tratamento das infecções do trato urinário¹⁶. Está disponível por via oral e intravenosa. Tem baixo peso molecular

e uma ligação às proteínas plasmáticas negligenciável, o que resulta em uma boa penetração tecidual. A biodisponibilidade por via oral varia de 12 a 37% e a dose intravenosa para infecções graves em terapia combinada é de 4g IV quatro vezes ao dia em pacientes com função renal normal⁸¹. O principal efeito colateral é desconforto gastrointestinal. A sua eficácia em monoterapia é limitada.

A tigeciclina é um fármaco bacteriostático disponível exclusivamente por via intravenosa. É um inibidor da síntese proteica que exerce a sua atividade antimicrobiana mediante ligação a subunidade ribossômica 30S. Suas principais indicações, conforme o FDA, são infecções de pele e partes moles, pneumonias e infecções intra-abdominais complicadas. Tem um grande volume de distribuição atingindo baixos níveis séricos e altos níveis teciduais. Recomenda-se uma dose de ataque de 100mg seguida de 50mg duas vezes por dia. A meia vida é longa chegando a 42h e a sua depuração não é afetada pela função renal ou hepática. Em virtude das concentrações plasmáticas serem baixas não é indicada para o tratamento das bacteremias⁸². Da mesma forma, tem baixas concentrações urinárias não sendo indicada para o tratamento de infecções nesse sítio. O uso de tigeciclina em infecções graves está associado com aumento da mortalidade⁸³. Os efeitos colaterais mais comuns são náuseas e vômitos.

Normalmente, os aminoglicosídeos são utilizados no cenário da terapia combinada. São inibidores da síntese proteica mediante ligação à subunidade ribossomal 30S. Tem atividade antimicrobiana dependente da concentração e efeito pós antibiótico bem descrito. A dose indicada é bastante variável de acordo com características do paciente, sítio e gravidade da infecção e a monitorização do nível sérico é recomendada para minimizar a toxicidade.⁸⁴ A maior parte das referências sugere a dose de 3-5mg/Kg para gentamicina e de 15-20mg/Kg para amicacina.^{85,86,87} Os principais efeitos colaterais descritos consistem em nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular. Tem penetração muito limitada no sistema nervoso central, nos pulmões e em meios ácidos como o dos abscessos e infecções intra-abdominais. De fato, a susceptibilidade *in vitro* das CREs para amicacina e gentamicina é bastante elevada. No entanto, uma análise mais minuciosa das MICs demonstra que a categoria suscetível inclui isolados com diferentes características fenotípicas.⁸⁸ A gentamicina é o principal aminoglicosídeo estudado no tratamento das infecções por CRE, podendo atuar

como agente bactericida ou bacteriostático⁸⁴. Estudos recentes avaliando características farmacocinéticas da amicacina e gentamicina indicam que mesmo em doses superiores às máximas recomendadas é difícil alcançar níveis terapêuticos adequados^{89,90}.

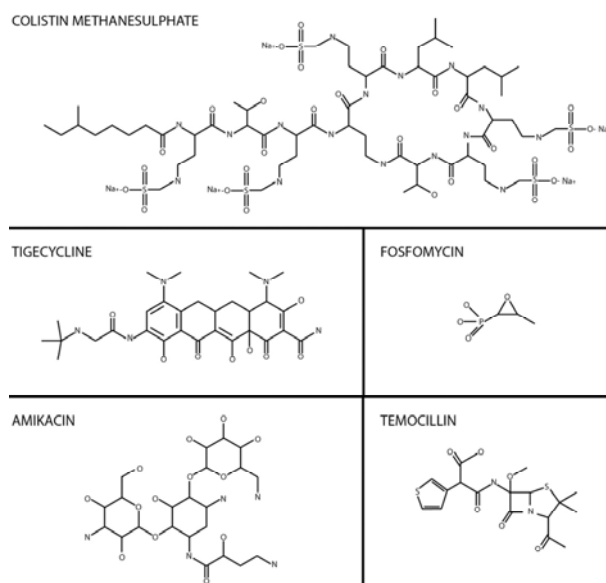


Figura 6. Estrutura química dos antimicrobianos com atividade *in vitro* contra as *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos. Adaptado de Van Duin et al¹⁶

Estudo do Reino Unido de 2011, avaliando 81 isolados de CRE, demonstrou que nenhum antibiótico obteve 100% de efetividade *in vitro*. A susceptibilidade *in vitro* a colistina foi a mais elevada (93%), seguida pela fosfomicina (61%) e tigeciclina (47%). Com relação à temociclina 27% das amostras de acordo com o ponto de corte urinário e 5% considerando o ponto de corte sistêmico foram considerados sensíveis, respectivamente⁸⁴.

O tratamento ideal para as infecções por CRE ainda não está completamente definido por uma série de razões. Primeiramente, a maior parte das evidências incluem pacientes com múltiplas comorbidades o que, por si, poderia resultar em piores desfechos. Além disso, quando os isolados provêm de sítios não estéreis como o trato respiratório e urina torna-se difícil diferenciar entre colonização e infecção. Ainda, a coinfeção é frequente, o tratamento costuma ser iniciado mais tardiamente e múltiplos antibióticos são

frequentemente utilizados, muitas vezes em combinação. Em virtude do papel fundamental das polimixinas, serão descritas separadamente.

3.2.2 Polimixinas

Estrutura química e aplicabilidade

Classe de antibióticos derivados do *Bacillus polymyxa* que agem na parede celular bacteriana, desenvolvidos na década de 1940, e que passaram a ser utilizados na prática clínica em 1959, com atividade antimicrobiana limitada aos bacilos gram negativos, principalmente os aeróbicos. São heptapeptídeos cíclicos com uma cadeia lateral de tripeptídeos ligadas a um terminal de ácidos graxos. A maior parte dos isolados de *E coli*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Pseudomonas* – todos importantes patógenos de infecções nosocomiais – são sensíveis à ação desse fármaco. Espécies como *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Chromobacterium*, *Neisseria*, *Burkholderia* e *Stenotrophomonas* são comumente resistentes a sua ação⁹¹.

Inicialmente foram descritas 5 classes de polimixinas (A-E); no entanto, somente duas chegaram a ser utilizadas no cenário clínico - a Polimixina B (B1 e B2) e a Polimixina E (colistina A e B). Uma única troca de aminoácidos na posição 6 diferencia essas duas polimixinas – substituição de D-fenilalanina na polimixina B por D-leucina na colistina. Ambas tem efeito bactericida equiparável. Na década de 1970, foram abandonadas em virtude de preocupações principalmente com relação à nefrotoxicidade, que é reversível e dose dependente, sendo substituídas por aminoglicosídeos e drogas antipseudomonas³⁰. Nas últimas duas décadas a emergência de bacilos gram negativos multi-resistentes no contexto da ausência de novas opções terapêuticas fez com que voltassem a ser utilizados⁹². Inicialmente surgiram como alternativas viáveis para o tratamento de infecções respiratórias em pacientes com fibrose cística.

Os efeitos colaterais mais revelantes são a nefrotoxicidade²³ e neurotoxicidade (visão borrada, vertigem, fraqueza muscular e parestesias). São os antimicrobianos mais comumente utilizados na infecções causadas por KPC-KP. Inúmeros estudos in vitro tem demonstrado atividade bactericida das

polimixinas com efeito sinérgico, quando em associação com outras drogas (tigeciclina, carbapenêmicos, rifampicina).²⁰⁹³ Em contrapartida, a monoterapia costuma levar a novo crescimento bacteriano em 24h e falhas terapêuticas.⁹⁴

Mecanismo de ação

Em relação ao seu mecanismo de ação, embora ainda não completamente elucidado, são antimicrobianos bactericidas que tem como alvo os lipopolissacarídeos que compõem a parede celular das bactérias gram negativas. Ligam-se à membrana externa bacteriana, que é aniônica, promovendo o deslocamento dos íons Mg^{+2} e Ca^{+2} , a partir da interação eletrostática entre os grupos amina presentes nas polimixinas e os grupos fosfato e carboxilato do lipopolissacarídeo - o que resulta no enfraquecimento, instabilidade e ruptura da membrana e permite a chegada do antimicrobiano até o espaço periplásmico.⁹⁵ A ruptura citoplasmática também pode culminar na neutralização do efeito biológico das endotoxinas. Subsequentemente, as próximas etapas de sua ação bactericida não são completamente conhecidas e tem sido objeto de estudo. Um dos principais mecanismos de resistência conhecidos envolve a modificação química dos grupos fosfato impedido a interação eletrostática entre a droga e a parede celular bacteriana.⁹⁶

Farmacocinética e farmacodinâmica

Dentre as polimixinas, a mais utilizada é a colistina.⁹⁵ As principais vias de administração são a parenteral e a inalatória, não sendo absorvida por via oral e sendo pobremente absorvida por mucosas. É administrada como uma pró-droga, de menor toxicidade, conhecida como colestimetato, que exerce sua atividade antimicrobiana ao ser convertida em colistina em soluções aquosas – como o plasma e a urina. A administração da colistina como pró-droga é a principal justificativa para o seu comportamento farmacodinâmico distinto quando comparada à polimixina B. Estudos recentes avaliando um modelo experimental de infecção por *P aeruginosa* e *A baumannii* tem demonstrado que a colistina tem uma estreita janela terapêutica.⁹⁷⁹⁸

Em coelhos, há ligação significativa da polimixina B e da colistina ao rim, cérebro, fígado, músculos, coração e pulmões. Em ratos, 50% da droga encontra-se ligada a proteínas. A penetração no espaço pleural é pobre assim

como a penetração no sistema nervoso central de adultos saudáveis. Em pacientes com meningite, os níveis de colistina no líquido alcançam 1,25µg/mL com uma meia vida de 2,7 horas – níveis insuficientes para a maior parte dos patógenos nosocomiais, devendo, portanto, haver um limiar baixo para a administração intraventricular ou intratecal⁷².

A área sob a curva da fração livre da droga (*fAUC*) versus o tempo em que a droga fica sobre a concentração inibitória mínima (MIC) para inibir o crescimento bacteriano tem sido descrita com o índice PK/PD – que mais se correlaciona com a atividade antibacteriana.⁹⁹ O alvo terapêutico seria uma concentração de 2mg/L no estado de equilíbrio para isolados com MIC ≤1mg/L. A conversão do colestimetato em colistina ocorre muito lentamente *in vitro*. Desse modo, os dados farmacocinéticos da colistina não podem ser extrapolados para polimixina B.¹⁰⁰

A polimixina B, droga mais comumente utilizada no tratamento das infecções causadas por KPC-KP no Brasil, tem mecanismo farmacocinético e farmacodinâmico ainda pouco compreendido. Níveis séricos de 1 a 8µg/mL foram descritos após uma única dose intramuscular de 50mg, assim como níveis de 1 a 6µg/mL em doses usuais. A meia vida é de 6h em pacientes com função renal usual e está aumentada na disfunção renal. O acúmulo da droga pode ocorrer – tendo sido descrita uma concentração sérica de 15µg/mL após a administração de 2,5mg/Kg/dia por 7 dias.¹⁰¹ Não há excreção biliar e até 60% da droga pode ser recuperada na urina, atingindo concentrações urinárias entre 10 e 100µg/mL.⁷²

Em setembro de 2013, a Comissão Europeia solicitou a Agência de Medicina Europeia (EMA) uma revisão sobre a segurança e eficiência das polimixinas. As novas recomendações foram publicadas em dezembro de 2014. No mesmo ano, o Food and Drug Administration (FDA) modificou as bulas com relação à dosagem e administração dessas drogas. Em relação à colistina, embora a sua dose seja padronizada, a apresentação varia de acordo com a região geográfica. Na Europa, Reino Unido e na Índia ela é estabelecida em Unidades Internacionais (UI); enquanto na América, sudeste Asiático e Austrália utiliza-se miligramas de atividade base da colistina (CBA). Em relação à conversão, um milhão de UI corresponde a aproximadamente 30mg de CBA ou 80mg de colestimetato. As diferentes convenções tem um grande potencial de

causar confusão na prática clínica, resultando em erros de medicação e trazendo consequências graves aos pacientes.¹⁰²

A dose de colestimetato sugerida pela EMA é de 9 milhões de Unidades Internacionais (UI) de colestimetato divididos em 2 a 3 doses em infusão lenta. Também se recomenda uma dose de ataque de 9 milhões de UI para pacientes críticos e ajuste de acordo com a função renal. A dose intratecal recomendada é de 125000 UI e inalatória 1 a 2 milhões 2 a 3 vezes por dia. Não há recomendações específicas sobre a polimixina B nessa revisão. Já o FDA sugere uma dose de 2.5 a 5mg/Kg de atividade base da colistina para DCE \geq 80mL/min com ajuste de acordo com a função renal. Nation et al,¹⁰³ revisando ambas as recomendações, concluíram que as doses aprovadas pelo FDA são significativamente menores do que as sugeridas pela EMA. Em pacientes com DCE \geq 80 mL/min nenhuma das recomendações culminou em níveis plasmáticos adequados para o tratamento de infecções graves.

Colestimetato de Sódio (UI)	Colestimetato de Sódio (mg)	Atividade base da colistina (mg)
12.500	1	0.4
150.000	12	5
1.000.000	80	34
4.500.000	360	150
9.000.000	720	300

Figura 7. Equivalência de dose da colistina entre as diferentes apresentações. Adaptado de EMA

	Disfunção Renal			
	Normal	Leve	Moderada	Grave
DCE mL/min	\geq 80	50-79	30-49	10-29

Dose	2.5mg/Kg	2.5-3.8mg/Kg	2.5mg/Kg	1.5mg/Kg
Posologia	2-4 doses	2 doses	1 dose	Cada 36h

Figura 8. Doses de colistina sugeridas pelo FDA

Com relação à dose da Polimixina B, a dose recomendada varia de 1.5 a 2.5mg/Kg/dia (15.000-25000 UI/Kg/dia) em infusão contínua ou dividida em duas dose infundidas em um período de 60 a 90 minutos.³⁰ Também pode ser administrada por via intramuscular, na dose de 2.5 a 3mg/Kg/dia, a cada 4 a 6 horas – opção pouco tolerada em função da dor, ou por via intratecal, na dose de 5 a 10mg/dia. Estudo multicêntrico de 2013¹⁰⁰ envolvendo 24 pacientes demonstrou que a dose desse fármaco não deve ser baseada na função renal, e que deve ser escalonada em função do peso corporal.

Resistência às polimixinas

Em relação à resistência às polimixinas na *K pneumoniae*, a alteração da composição do lipídio A na membrana externa bacteriana, impedindo a interação entre a mesma e a droga, parece ser o fator mais relevante¹⁰⁴. Estudo de Helander *et al*¹⁰⁵ demonstrou que há na composição da membrana cinco vezes mais L-Ara4N comparativamente ao microorganismo sensível. Já Cheng *et al*¹⁰⁶ e Kim *et al*¹⁰⁷ demonstraram, analisando a composição molecular das alterações nos lipopolissacarídeos de cepas resistentes, que há o envolvimento e hiperexpressão dos genes *phoP/phoQ* e *pmrA/pmrB*. Em todos esses estudos, as MICs para colistina variaram entre 3-16mg/L e mutações similares foram identificadas em *Salmonella* e *Enterobacter* resistentes às polimixinas. Mais recentemente, Canatelli *et al*,¹⁰⁸ descreveram a mutação no gene *mgrB* como um mecanismo molecular relevante.

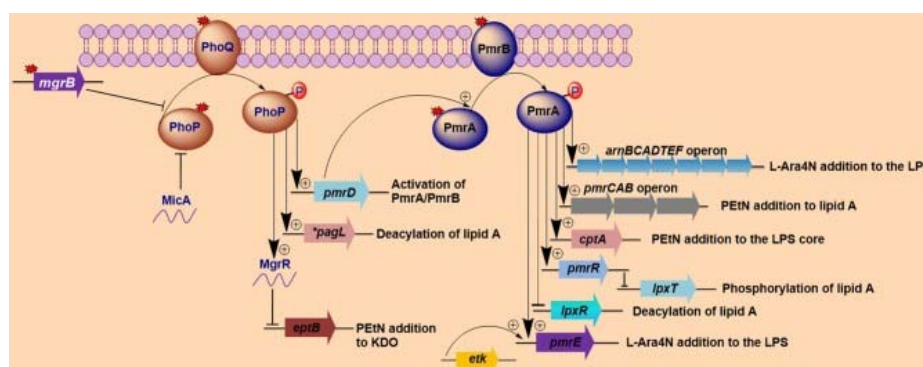


Figura 9 – Ativação dos genes modificadores de polissacarídeos envolvidos na resistências às polimixinas em bactérias gram negativas¹⁰⁴

3.2.3 Terapia combinada

O número limitado de opções terapêuticas torna desafiador o tratamento das infecções por KPC-KP. O racional teórico para a combinação de drogas seria o aumento da ação bactericida e a diminuição da indução de resistência. Embora ainda não completamente compreendido, sugere-se que as polimixinas permeabilizariam a membrana, favorecendo a ação intracelular de um segundo ou terceiro antimicrobiano.¹⁸

A definição de terapia combinada é variável na literatura. Alguns autores definem como terapia combinada a utilização de dois ou mais antimicrobianos com ação possível contra os bacilos gram negativos, por um período de pelo menos 48h, a despeito dos testes de susceptibilidade *in vitro*. Na definição de Tumbarello¹⁹ e Zarkotou,²⁰ entretanto, há necessidade do uso de dois ou mais antimicrobianos suscetíveis *in vitro* de acordo com os critérios do CLSI para definir terapia combinada. Já Lopez-Cortes²¹ e Paul M²² consideram regimes terapêuticos específicos terapia combinada a despeito do perfil de sensibilidade.

Terapia combinada com colistina

Em 2011, Zarkotou et al²⁰ conduziram na Grécia uma coorte prospectiva de 53 pacientes com bacteremias por KPC-KP entre 2008 e 2010 com enfoque nos fatores de risco para mortalidade e tratamento antimicrobiano. Nesse estudo a terapia combinada foi associada com aumento da sobrevida ($p < 0.01$).

Uma revisão sistemática¹⁰⁹ que avaliou 38 relatos e séries de casos de infecção por KPC-KP, de 2001 a 2011, totalizando 104 pacientes, também demonstrou superioridade da terapia combinada com colistina sobre a monoterapia. Com relação às drogas na terapia combinada, a combinação de colistina com tigecliclina, carbapenêmico ou aminoglicosídeo foi igualmente efetiva. Nesse estudo, as infecções pulmonares e de corrente sanguínea foram

as associadas com o maior número de falhas terapêuticas (47% e 39%, respectivamente).

Falcone *et al*¹¹⁰, em 2016, conduziram uma coorte retrospectiva que incluiu 111 pacientes com infecções por KPC-KP atendidos entre 2010 e 2014. O desfecho primário avaliado foi mortalidade em 30 dias. O foco de infecção mais frequente foi o indeterminado. Chamava atenção que 51% da amostra era resistente a colistina. A análise multivariada demonstrou que o uso de colistina, a terapia combinada com pelo menos duas ou mais drogas com atividade *in vitro* e o controle do foco foram associados com a sobrevivência, enquanto sítio intra-abdominal e resistência a colistina foram associados com o desfecho primário.

Em 2017, o estudo INCREMENT¹¹¹ – coorte retrospectiva que incluiu bacteremias diagnosticadas em 26 hospitais de 10 países entre 2004 e 2013 totalizando 480 pacientes – foi delineado para tentar esclarecer o papel da terapia combinada no cenário da bacteremia por enterobactérias multiresistentes. O desfecho primário era mortalidade por qualquer causa em 30 dias. Os autores construíram um escore para avaliação de risco, validado nessa mesma coorte, que incluiu: sítio da infecção, CCI, PBS, tratamento precoce (definido como aquele que contemplava pelo menos uma droga ativa *in vitro* e iniciado nas primeiras 48 horas). Um escore de 0-7 foi definido como baixo risco, enquanto um escore de 8-15 foi definido como alto risco. O tratamento que foi iniciado nos primeiros cinco dias da infecção e que incluiu pelo menos uma droga susceptível *in vitro* foi definido como apropriado. A média de idade foi de 66 anos e os sítios mais frequentes foram desconhecido (27%) seguido por catéter venoso central (25%). Em torno de 36% dos pacientes foram transferidos para a UTI e tinham uma mediana de CCI e PBS de 2. Ainda, 15% tinham diagnóstico de algum tipo de neoplasia. O microorganismo mais frequentemente isolado foi a *K pneumoniae* (357 pacientes [86%]) e o mecanismo de resistência mais frequente foi a KPC (329 [75%]). Com relação ao regime terapêutico, 135 pacientes (39%) receberam terapia combinada e 208 (61%) foram tratados com monoterapia. Na análise univariada, o tratamento apropriado foi associado a uma mortalidade de 38% enquanto o tratamento inapropriado teve mortalidade de 61% ($p < 0.01$). Na análise multivariada, foram considerados fatores de risco para mortalidade em 30 dias: internação na UTI, CCI, ventilação mecânica, PBS, Câncer, IRC, coma, IRC, doença hepática crônica e choque séptico; em

contrapartida, foram considerados fatores protetores: tratamento apropriado, sítio urinário ou biliar (colangite, colecistite). A terapia combinada quando comparada à monoterapia não mostrou benefício de sobrevida considerando toda a população. Entretanto, quando analisado especificamente o grupo de pacientes de alto risco houve diferença estatisticamente significativa (HR 0.54; IC95% 0.32-0.89, $p < 0.01$).

Colistina e Carbapenêmicos

Não há ensaios clínicos randomizados comparando a monoterapia com terapia combinada nesse cenário e as evidências derivam de estudos observacionais. Metanálise de 2016¹¹² concluiu que a terapia combinada com carbapenêmicos e colistina parece estar associada com maior sobrevida (OR 1.58; IC95% 1.03-2.42, $I^2=0\%$).

Batirel et al¹¹³ conduziram um estudo de coorte retrospectivo e multicêntrico, publicado em 2014, que incluiu pacientes com bacteremias por *Acinetobacter* multiresistente procedentes de 27 hospitais da Turquia. Nesse estudo,¹¹³ 102 pacientes receberam terapia combinada com colistina e carbapenêmicos e 37 pacientes receberam monoterapia com colistina. A mortalidade no grupo da monoterapia foi de 72.2% e no grupo da terapia combinada foi de 52.3% com diferença estatisticamente significativa ($p=0.03$). Chama a atenção que nesse estudo 59% dos pacientes estavam coinfectados o que limita de maneira consistente a generalização dos seus achados.

Chuang¹¹⁴ et al avaliaram retrospectivamente 294 pacientes com pneumonias por *Acinetobacter* multiresistente, atendidos entre 2009 e 2010, em um hospital universitário de Taiwan. Não foram realizados testes de susceptibilidade a tigiceclina ou colistina e ambas foram consideradas sensíveis. Nesse estudo, não houve diferença na mortalidade da terapia combinada de colistina com meropenem (46.7%) quando comparada à monoterapia com colistina (50%) ($p=0.81$). É importante ressaltar que somente 15 pacientes utilizaram a terapia combinada comparados a 104 pacientes em monoterapia.

Daikos et al¹¹⁵ delinaram uma coorte retrospectiva em dois hospitais da Grécia para avaliar tratamento antimicrobiano e desfechos clínicos de pacientes com infecções de corrente sanguínea por CRE. Foram incluídos 205 pacientes, dos quais 103 foram tratados com terapia combinada e 72 foram tratados com

monoterapia. Foram incluídos na amostra pacientes com infecções polimicrobianas desde que houvesse terapia antimicrobiana dirigida também aos demais microorganismos isolados. A terapia combinada foi associada de maneira consistente com sobrevida ($p < 0.01$) e a menor mortalidade foi observada em regimes terapêuticos combinados contendo altas doses de carbapenêmicos (Meropenem 2g três vezes ao dia ou Imipenem/Doripenem 1g três vezes ao dia).

Há dois ensaios clínicos randomizados em andamento em fase de inclusão de pacientes que pretendem elucidar o papel da terapia combinada com carbapenêmicos no tratamento das infecções causadas por CRE. O primeiro, do grupo da Universidade de Michigan, iniciou em 2012 com término previsto em 2021 e planeja incluir 444 pacientes com pneumonia ou infecções de corrente sanguínea comparando o tratamento com colistina e meropenem a colistina e placebo com desfecho primário de mortalidade em 30 dias; serão excluídos pacientes com diagnóstico prévia de doença renal crônica em terapia dialítica O segundo, do grupo Europeu, iniciado em 2013 e com término previsto em 2017, pretende incluir 406 pacientes de Israel, Grécia e Itália com infecções por CRE que sejam sensíveis a colistina para o tratamento com colistina e meropenem ou colistina isolada com desfecho primário composto avaliado em 14 dias de sobrevivência, ausência da necessidade de vasopressor e melhora ou estabilidade no Sequential Organ Failure Assessment score (SOFA).

Colistina e Rifampicina

A terapia combinada de rifampicina com colistina foi avaliada por três estudos¹¹⁶⁻¹¹⁸. Todos avaliaram pacientes com infecções por *Acinetobacter*. No estudo de Simsek¹¹⁷, realizado em 2012, avaliando 51 pacientes, a mortalidade foi de 40% nos pacientes que receberam monoterapia e 28% naqueles tratados com terapia combinada ($p=0.47$). No mesmo estudo, também não houve diferença estatisticamente significativa na resposta clínica ($p=0.82$) ou microbiológica ($p=0.11$) comparando as duas modalidades terapêuticas. Em 2013, Aydemir et al¹¹⁶ e Durante-Mangoni¹¹⁸ conduziram ensaios clínicos randomizados abordando o mesmo tema. No primeiro estudo¹¹⁶, 43 pacientes com pneumonia associada ao ventilador mecânico causada por *Acinetobacter* produtor de carbapenemase, foram randomizados para monoterapia com

colistina ou colistina combinada com rifampicina; não houve diferença estatisticamente significativa na mortalidade do grupo da monoterapia (63.6%) comparada ao grupo da terapia combinada (38.1%) ($p=0.17$) mas o tempo de clearance microbiológico foi menor no grupo da terapia combinada ($p=0.02$). No segundo estudo¹¹⁸, 210 pacientes foram randomizados e o desfecho primário foi mortalidade em 30 dias; a mortalidade geral foi de 43% sem diferença entre os grupos ($p=0.95$) mas o clearance microbiológico também foi maior no grupo da terapia combinada ($p=0.03$). Na metanálise de Zusman¹¹², avaliando os três estudos a terapia combinada foi associada a menor falha microbiológica (OR 1.96; IC95% 1.19-3.22) mas não a menor mortalidade.

Terapia combinada com Polimixina B

Estudos experimentais

O primeiro estudo avaliando o sinergismo *in vitro* na terapia combinada com polimixina B foi publicado por Elemam et al¹¹⁹, em 2010. Foram analisados 12 isolados consecutivos de *K pneumoniae* com MIC para polimixina B ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ provenientes de pacientes de um hospital de Nova York, coletados no ano de 2008. A identificação inicial e susceptibilidade foi realizada através do Vitek 2 de acordo com os critérios do CLSI. Posteriormente, a sensibilidade para polimixina B foi realizada com Etest e a presença dos genes *blaKPC* foi avaliada com Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A maior parte dos isolados eram amostras do trato respiratório. O grupo demonstrou que a combinação de polimixina B com doxiciclina e rifampicina tinham associação sinérgica *in vitro* em amostras nas quais a polimixina B isoladamente tinha uma MIC elevada. Esse mesmo sinergismo foi demonstrado na associação com tigeciclina embora em uma janela terapêutica mais estreita mas não ocorreu com a gentamicina, imipenem, ceftriaxona, cefepime e cefazolina.

Quale et al¹²⁰ em um estudo publicado em 2012 que incluiu 5400 amostras com uma expressão de *blaKPC* em 29% das *K pneumoniae* também evidenciaram sinergismo da combinação de polimixina B com rifampicina especialmente nas amostras resistentes a polimixina B. No mesmo estudo, os autores sugeriram que a terapia combinada poderia reduzir a emergência de resistência à polimixina B.

Estudos clínicos

Com relação aos estudos clínicos na terapia combinada com polimixina B as evidências são mais escassas havendo somente duas coortes retrospectivas, uma coorte prospectiva e uma metanálise publicadas até o presente momento.

Lee et al, em uma série de casos de 2009, avaliaram 12 pacientes com hemoculturas persistentemente positivas após 3 dias de tratamento com polimixina B isoladamente ou em associação com tigeciclina. Verificaram que no grupo da monoterapia 3 pacientes apresentaram elevação significativa das MICs (1.5 µg/mL para 32 µg/mL, 0.75 µg/mL para 12 µg/mL e 0.75 µg/mL para 1024 µg/mL). Em contrapartida, isso não ocorreu em nenhum dos pacientes do grupo em que houve a associação de polimixina B com tigeciclina sugerindo a hipótese de que a terapia combinada teria prevenido o surgimento de resistência.

Uma coorte retrospectiva publicada em 2010 por Nguyen et al⁶ incluiu 48 pacientes atendidos em um hospital de Nova York, entre 2004 e 2008, com diagnóstico de bacteremia. O desfecho primário era mortalidade em 30 dias. Em relação às características da amostra chamava a atenção que os pacientes tinham uma média de idade de 60 anos, 80% eram cardiopatas (definido com hipertensão, dislipidemia e ou insuficiência cardíaca) e 50% estavam internados na UTI e sob ventilação mecânica quando do diagnóstico da infecção. A mortalidade geral em 30 dias foi de 42% e a mortalidade hospitalar foi de 60%. Aproximadamente 25% dos pacientes (13) utilizaram tratamento combinado com polimixina B e tigeciclina sendo que 90% da amostra era suscetível a ambos os antimicrobianos. Ainda, 19% dos pacientes utilizaram monoterapia com polimixina B, 21% monoterapia com tigeciclina e 6% não utilizaram tratamento ativo. A mortalidade foi de 80% no grupo da monoterapia com tigeciclina, 56% na monoterapia com polimixina B, 54% na terapia combinada e 57% com nenhum tratamento ativo. O estudo não conseguiu demonstrar relação entre o regime terapêutico escolhido e mortalidade em 30 dias. As hipóteses mais prováveis elencadas pelos autores para não ter havido diferença foram o pequeno número dos pacientes e a gravidade de sua condição clínica que poderia ter suplantado o benefício da terapia antimicrobiana. A mediana do tempo de internação até a bacteremia foi de 22 dias e a mediana de internação após a bacteremia foi de 50 dias. Na análise multivariada, doença cardiovascular

e o APACHE elevado foram associados independentemente com o desfecho primário enquanto o controle do foco e a erradicação microbiológica em 7 dias foram associados à sobrevida.

Crusio et al,²⁴ em 2014, delinearam uma coorte prospectiva que incluiu 104 pacientes atendidos em um hospital de Nova York, no período de 2009 a 2010. O estudo inclui pacientes com diagnóstico clínico de infecção e uma cultura (sangue, escarro, urina, tecidos moles, osso) com a presença de um bacilo gram negativo produtor de carbapenemase que fossem tratadas com algum tipo de terapia combinada. Terapia combinada foi definida como o uso de polimixina B em combinação com outras drogas, não necessariamente sensíveis in vitro, por pelo menos 3 dias. Com relação à polimixina B, todos os pacientes foram tratados com uma dose de ataque de 2,5mg/Kg seguida de 1,25mg/Kg duas vezes ao dia com ajuste de função renal quando a depuração da creatinina era menor do que 50ml/min. A combinação normalmente era com um carbapênemico (não descrita a dose nem regime posológico) e/ou rifampicina 600mg por dia. Ampicilina com Sulbactam foi utilizada em 9 pacientes com infecções por *A baumannii*. A decisão de associação da rifampicina era realizada por um infectologista. Nessa amostra havia somente cinco casos de bacteremia e vinte e cinco casos de infecções por *K pneumoniae*. Os desfechos avaliados foram mortalidade hospitalar, mortalidade em 6 meses, eficácia clínica, eficácia microbiológica e insuficiência renal nas primeiras 48h após a instituição do tratamento. A média de idade foi de 77 anos, 36% foram admitidos na UTI, 34% eram traqueostomizados, APACHE IV médio de 20 e o CCI médio era de 8, representando uma população idosa e com múltiplas comorbidades. Em relação ao tratamento, 50 pacientes utilizaram a combinação de polimixina B com carbapenêmico, 24 utilizaram polimixina B com carbapenêmico e rifampicina, 15 utilizaram polimixina B com carbapenêmico e tigeciclina e 9 utilizaram polimixina B com ampicilina sulbactam. A mortalidade geral foi de 47% e a mortalidade em 6 meses foi de 77%. Em relação aos pacientes com bacteremias, houve 60% de mortalidade hospitalar e 100% de mortalidade em 6 meses. Nas infecções por *K pneumoniae*, houve 24% de mortalidade hospitalar e 68,2% de mortalidade em 6 meses. Nenhum tipo de tratamento foi associado a maiores taxas de sobrevida.

Rigatto et al²³ delinearam uma coorte retrospectiva que avaliou 101 pacientes procedentes de um hospital universitário da cidade de Porto

Alegre, que tivessem recebido Polimixina B por pelo menos 48h, para o tratamento de infecções por *Acinetobacter* ou *Pseudomonas* multiresistentes quanto à mortalidade em 30 dias comparando a monoterapia com terapia combinada. Dos pacientes incluídos, 67.3% foram tratados com monoterapia. A mortalidade foi de 18.5/1000 pacientes dia no grupo da terapia combinada e 36.4/1000 pacientes dia no grupo da monoterapia ($p=0.02$). Esse foi o primeiro estudo a demonstrar benefício da terapia combinada com Polimixina B na mortalidade por infecções causadas por CRE.

Estudo de Gomez-Simmonds¹²¹ de 2016, revisou retrospectivamente 141 bacteremias por KPC-KP de dois hospitais de Nova York entre 2006 e 2013. A mediana de idade era de 62 anos, 12% tinham neoplasia hematológica, 8% tinham tumor metastático e 61% estavam ou foram transferidos para a UTI durante a bacteremia. Chama a atenção que não havia protocolo específico para o tratamento de bacteremia por KPC-KP e a prescrição de polimixina B, tigeciclina ou carbapenêmicos estava condicionada à autorização do serviço de controle de infecção. Meropenem foi o único carbapenêmico utilizado; no entanto, haviam três regimes posológicos – pacientes com insuficiência renal recebiam 500mg quatro vezes ao dia e a dose de 2g três vezes ao dia podia ser administrada em infusão rápida ou estendida em três horas. Em relação à susceptibilidade, 85% eram sensíveis a polimixina B e 95% sensíveis a tigeciclina. Ainda, 90% tinha uma MIC para Meropenem ≥ 16 . O sítio mais frequente da bacteremia foi o abdominal, seguido do urinário e respiratório. A mortalidade geral hospitalar foi de 33%. No que diz respeito a dose do Meropenem, 66% utilizaram dose ajustada para a função renal, 21% dose padrão e 11% dose estendida. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes tipos de terapia e a sobrevida.

Zusman et al conduziram uma metanálise em 2016 para avaliar a terapia combinada no tratamento de infecções por bacilos gram negativos multiresistentes que incluiu 22 estudos realizados entre 2010 e 2016 dos quais somente 4 avaliaram a terapia combinada com polimixina B e 3 incluíram *K pneumoniae*. Nessa metanálise, o único estudo que demonstra benefício da terapia combinada com polimixina B é o de Rigatto et al²³.

Autor/País	Ano	Pacientes	Bactéria	Terapia Combinada	Desfecho
Nguyen, ⁶ EUA	2010	48	KP	PMB, Tigeciclina	Mortalidade de 42% em 30 dias. Nenhum tratamento foi superior
Zarkotou, ²⁰ Grécia	2011	53	KP	PMB, Tigeciclina	Terapia combinada associada com maior sobrevida
Tumbarello, ⁵ Itália	2012	125	KP	Colistina, Carbapenêmicos, Tigeciclina e Aminoglicosídeos	Terapia combinada com colistina associada com maior sobrevida em 30 dias
Crusio, ²⁴ EUA	2014	104	KP, AB, PA	PMB, Carbapenêmico, Rifampicina	Mortalidade em torno de 50%. Nenhum tratamento foi superior
Batirel, ¹¹³ Turquia	2014	102	AB	Colistina, Carbapenêmico	Benefício da terapia combinada com aumento da sobrevida nesse grupo

Chuang, ¹²² Taiwan	2014	294	AB	Colistina, Carbapenêmico	Nenhum tratamento foi superior. Poucos pacientes no grupo da terapia combinada
Daikos, ¹¹⁵ Grécia	2014	103	KP	Colistina, Tigeciclina e Aminoglicosídeos	Terapia combinada com 6g de meropenem por dia foi associada a maior sobrevida
Rigatto, ²³ Brasil	2015	101	AB, PA	PMB, Carbapenêmico	Terapia combinada com PMB superior à monoterapia na sobrevida em 30 dias
Gomez- Simmonds, ¹²¹ EUA	2016	141	KP	PMB, Tigeciclina e Aminoglicosídeos	Mortalidade de 33% nenhum tratamento foi superior
Falcone, ¹¹⁰ Itália	2016	111	KP	Colistina, Carbapenêmicos, Tigeciclina e Aminoglicosídeos	Terapia combinada com colistina e controle do

					foco associados com sobrevida
INCREMENT, ¹¹¹ Europa	2017	480	KP	Colistina, Carbapenêmicos, Tigeciclina, Fosfomicina e Aminoglicosídeos	Benefício da terapia combinada com colistina no grupo de pacientes mais graves

Figura 10 – Principais estudos clínicos avaliando terapia combinada

4. JUSTIFICATIVA

Considerando 1) a relevância da *Klebsiella pneumoniae* nas infecções nosocomiais; 2) o aumento vertiginoso das infecções pelas *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemase; 3) as elevadas taxas de mortalidade relacionadas aos seus mecanismos de resistência; 4) os altos custos hospitalares empregados no seu tratamento; 5) as limitadas opções terapêuticas e efeitos adversos dos fármacos disponíveis e 6) a exígua evidência científica sobre a melhor opção terapêutica; o presente estudo visa elucidar aspectos da terapia antimicrobiana combinada com polimixina B em infecções de corrente sanguínea por KPC-KP.

5. OBJETIVO

5.1 Objetivo Geral

Avaliar o regime terapêutico instituído para o tratamento das bacteremias por KPC-KP e os seus correspondentes desfechos clínicos.

5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a mortalidade em 30 dias de pacientes com bacteremias por KPC-KP.
- Comparar o tratamento com uma droga ativa com terapia combinada (duas ou mais drogas ativas).
- Avaliar o efeito das variáveis clínicas e microbiológicas nos desfechos clínicos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carroll KC, Hobden JA, Miller S, et al. Enteric Gram-Negative Rods (Enterobacteriaceae). In: *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 27e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1114734029>.
2. Hauck C, Cober E, Richter SS, et al. Spectrum of excess mortality due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(6):513-519. doi:10.1016/j.cmi.2016.01.023.
3. Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, et al. Bloodstream Infections Caused by Metallo- β -Lactamase/*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* among Intensive Care Unit Patients in Greece: Risk Factors for Infection and Impact of Type of Resistance on Outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(12):1250-1256. doi:10.1086/657135.
4. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: Lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(4):2322-2328. doi:10.1128/AAC.02166-13.
5. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: Importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):943-950. doi:10.1093/cid/cis588.
6. Nguyen M, Eschenauer GA, Bryan M, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010;67(2):180-184. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.001.
7. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2017;8(4):460-469. doi:10.1080/21505594.2016.1222343.
8. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(1):54-60. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03478.x.

9. Munoz-Price LS. Antibiotic Resistance. In: McKean SC, Ross JJ, Dressler DD, Scheurer DB, eds. *Principles and Practice of Hospital Medicine, 2e*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1137618910>.
10. Hooper DC, Shenoy ES, Varughese CA. Treatment and Prophylaxis of Bacterial Infections. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Loscalzo J, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 19e*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1120797589>.
11. Lascols C, Hackel M, Hujer AM, et al. Using nucleic acid microarrays to perform molecular epidemiology and detect novel ??-lactamases: A snapshot of extended-spectrum ??-lactamases throughout the world. *J Clin Microbiol*. 2012;50(5):1632-1639. doi:10.1128/JCM.06115-11.
12. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):969-976. doi:10.1128/AAC.01009-09.
13. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(9):785-796. doi:10.1016/S1473-3099(13)70190-7.
14. Jacoby GA, Munoz-Prince LS. The New Beta-lactamases. *NEJM*. 2005;352:380-391. doi:10.1056/NEJMra041359.
15. Seco BMS, Mello JL, Santa S, et al. Polymyxin B Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*, São Paulo, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(10):1849-1851. doi:10.3201/eid2210.160695.
16. Van Duin D, Kaye KS, Neuner EA, Bonomo RA. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A review of treatment and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75(2):115-120. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.009.
17. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). *Natl Cent Emerg Zoonotic Infect Dis*. 2015;(November):24. https://www.osha.gov/SLTC/ebola/control_prevention.html.
18. Yoon J, Urban C, Terzian C, Mariano N, Rahal JJ. In Vitro Double and Triple Synergistic Activities of Polymyxin B, Imipenem, and Rifampin against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents*

- Chemother.* 2004;48(3):753-757. doi:10.1128/AAC.48.3.753-757.2004.
19. Tumbarello M, Viale P, Bassetti M, De Rosa FG, Spanu T, Viscoli C. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study--authors' response. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(10):2922. doi:10.1093/jac/dkv200.
 20. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(12):1798-1803. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03514.x.
 21. López-Cortés LE, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, et al. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Analysis of a multicentre prospective cohort. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(11):3119-3126. doi:10.1093/jac/dku233.
 22. Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, et al. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(9):2305-2309. doi:10.1093/jac/dku168.
 23. Rigatto MH, Vieira FJ, Antochévis LC, Behle TF, Lopes NT, Zavascki AP. Polymyxin B in combination with antimicrobials lacking in vitro activity versus polymyxin B in monotherapy in critically ill patients with *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):6575-6580. doi:10.1128/AAC.00494-15.
 24. Crusio R, Rao S, Changawala N, et al. Epidemiology and outcome of infections with carbapenem-resistant Gram-negative bacteria treated with polymyxin B-based combination therapy. *Scand J Infect Dis.* 2014;46(1):1-8. doi:10.3109/00365548.2013.844350.
 25. Gomez-Simmonds A, Nelson B, Eiras DP, et al. Combination Regimens for Treatment of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(6):3601-3607. doi:10.1128/AAC.03007-15.
 26. Zusman O, Altunin S, Koppel F, Benattar YD, Gedik H, Paul M. Polymyxin monotherapy or in combination against carbapenem-resistant bacteria: Systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.*

- 2017;72(1):29-39. doi:10.1093/jac/dkw377.
27. Levinson W. Gram-Negative Rods Related to the Enteric Tract. In: *Review of Medical Microbiology and Immunology, 14e*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2016. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1132259554>.
 28. Ryan KJ, Ray CG. Enterobacteriaceae. In: *Sherris Medical Microbiology, 6e*. New York, NY; 2014. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1101200547>.
 29. Jacob JT, Klein E, Laxminarayan R, et al. Vital Signs : Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013;62(9):1-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23466435>.
 30. Kaye KS, Pogue JM, Kaye D. Polymyxins (Polymyxin B and Colistin). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Vol 1. ; 2014:401-405. doi:10.1016/B978-1-4557-4801-3.00031-X.
 31. Russo TA, Johnson JR. Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Loscalzo J, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 19e*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1120798737>.
 32. Righi E, Peri AM, Harris PN, et al. Global prevalence of carbapenem resistance in neutropenic patients and association with mortality and carbapenem use: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2016:1-10. doi:10.1093/jac/dkw459.
 33. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(4):1151-1161. doi:10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001.
 34. Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(8):3026-3029. doi:10.1128/AAC.00299-07.
 35. Wei ZQ, Du XX, Yu YS, Shen P, Chen YG, Li LJ. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China. *Antimicrob Agents*

- Chemother.* 2007;51(2):763-765. doi:10.1128/AAC.01053-06.
36. Cuzon G, Naas T, Demachy MC, Nordmann P. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolate from Greece [2]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(2):796-797. doi:10.1128/AAC.01180-07.
 37. Villegas MV, Lolans K, Correa A, et al. First detection of the plasmid-mediated class a carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(8):2880-2882. doi:10.1128/AAC.00186-06.
 38. Beirão EM, Furtado JJD, Girardello R, Ferreira Filho H, Gales AC. Clinical and microbiological characterization of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2011;15(1):69-73. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702011000100013.
 39. Sampaio JLM, Gales AC. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on β -lactams and polymyxins. *Brazilian J Microbiol.* 2016;47:31-37. doi:10.1016/j.bjm.2016.10.002.
 40. Carvalho-Assef APD alincourt, Pereira PS, Albano RM, et al. Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(12):2956-2957. doi:10.1093/jac/dkt298.
 41. Nicoletti AG, Marcondes MFM, Martins WMBS, et al. Characterization of BKC-1 class a carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(9):5159-5164. doi:10.1128/AAC.00158-15.
 42. Aires CAM, Pereira PS, Asensi MD, Carvalho-Assef APDA. mgrB mutations mediating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from rectal surveillance swabs in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(11):6969-6972. doi:10.1128/AAC.01456-16.
 43. Guh AY, Bulens SN, Mu Y, et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in 7 US Communities, 2012-2013. *JAMA.* 2015;314(14):1479. doi:10.1001/jama.2015.12480.
 44. European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).*; 2017.

doi:10.2900/39777.

45. Paño-Pardo JR, Quintana BL, Perona FL, et al. Community-onset bloodstream and other infections, caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Epidemiological, microbiological, and clinical features. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3(3):1-7. doi:10.1093/ofid/ofw136.
46. Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017;16(1):18. doi:10.1186/s12941-017-0191-3.
47. Maltezou HC, Kontopidou F, Katerelos P, Daikos G, Roilides E, Theodoridou M. Infections Caused by Carbapenem-resistant Gram-negative Pathogens in Hospitalized Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(4):e151-e154. doi:10.1097/INF.0b013e3182804b49.
48. Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Kapaskelis A, Falagas ME. Impact of antimicrobial multidrug resistance on inpatient care cost: an evaluation of the evidence. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(3):321-331. doi:10.1586/eri.13.4.
49. Maslikowska JA, Walker SAN, Elligsen M, et al. Impact of infection with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella* species on outcome and hospitalization costs. *J Hosp Infect*. 2016;92(1):33-41. doi:10.1016/j.jhin.2015.10.001.
50. Echeverri-Toro LM, Rueda Z V, Maya W, Agudelo Y, Ospina S. *Klebsiella pneumoniae* multi-resistente, factores predisponentes y mortalidad asociada en un hospital universitario en Colombia. *Rev Chil infectología*. 2012;29(2):175-182. doi:10.4067/S0716-10182012000200009.
51. S.M. P, M.J. S. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in special populations: Solid organ transplant recipients, stem cell transplant recipients, and patients with hematologic malignancies. *Virulence*. 2017;8(4):391-402. doi:10.1080/21505594.2016.1213472.
52. Chopra T, Marchaim D, Johnson PC, et al. Risk factors for bloodstream infection caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: A focus on antimicrobials including cefepime. *Am J Infect Control*. 2015;43(7):719-723. doi:10.1016/j.ajic.2015.02.030.
53. Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, et al. Risk factors for KPC-producing

- Klebsiella pneumoniae bacteremia. *Brazilian J Infect Dis.* 2012;16(5):416-419. doi:10.1016/j.bjid.2012.08.006.
54. Tamma PD, Goodman KE, Harris AD, et al. Comparing the Outcomes of Patients with Carbapenemase-Producing and Non- Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2017:[epub ahead of print]. doi:10.1093/cid/ciw741.
 55. Cristina ML, Sartini M, Ottria G, et al. Epidemiology and biomolecular characterization of carbapenem-resistant klebsiella pneumoniae in an Italian hospital. *J Prev Med Hyg.* 2016;57(3):E149-E156.
 56. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-383. doi:10.1016/0021-9681(87)90171-8.
 57. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818-829. doi:10.1097/00003465-198603000-00013.
 58. Rhee J-Y, Kwon KT, Ki HK, et al. Scoring Systems for Prediction of Mortality in Patients With Intensive Care Unit-Acquired Sepsis. *Shock.* 2009;31(2):146-150. doi:10.1097/SHK.0b013e318182f98f.
 59. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version 7.0,* 2017.; 2017. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf.
 60. Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitouta JDD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2012;50(12):3877-3880. doi:10.1128/JCM.02117-12.
 61. Giske CG, Martinez L, Cantòn R, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and / or epidemiological importance. *Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;(December):1-40. doi:10.7150/ijbs.13498.
 62. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(5):432-438. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03815.x.

63. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid Detection of producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(9):1503-1507. doi:10.3201/eid1809.120355.
64. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin Chem.* 2015;61(1):100-111. doi:10.1373/clinchem.2014.221770.
65. Bauer KA, Perez KK, Forrest GN, Goff DA. Review of rapid diagnostic tests used by antimicrobial stewardship programs. *Clin Infect Dis.* 2014;59:S134-S145. doi:10.1093/cid/ciu547.
66. Vincent J-L, Brealey D, Libert N, et al. Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections*. *Crit Care Med.* 2015;43(11):2283-2291. doi:10.1097/CCM.0000000000001249.
67. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, et al. Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel: Results of a Multicenter Controlled Trial. *J Clin Microbiol.* 2016;54(3):687-698. doi:10.1128/JCM.01679-15.
68. Banerjee R, Özenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clin Infect Dis.* 2016;63(10):1332-1339. doi:10.1093/cid/ciw573.
69. Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2013;51(6):1678-1684. doi:10.1128/JCM.03385-12.
70. Tan TY, Ng SY. Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(5):541-544. doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01708.x.
71. Humphries RM. Susceptibility testing of the polymyxins: Where are we now? *Pharmacotherapy.* 2015;35(1):22-27. doi:10.1002/phar.1505.
72. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(3):449-465. doi:10.1128/CMR.00006-08.
73. Jean B. Patel, Franklin R. JA, Institute C and LS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement.* Vol 32.; 2014. doi:10.1093/cid/ciw353.
74. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: Results from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2006-09). *J*

- Antimicrob Chemother.* 2011;66(9):2070-2074. doi:10.1093/jac/dkr239.
75. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriage: Systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(10):2729-2739. doi:10.1093/jac/dkw221.
76. Zuckerman T, Benyamini N, Sprecher H, et al. SCT in patients with carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*: a single center experience with oral gentamicin for the eradication of carrier state. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46(9):1226-1230. doi:10.1038/bmt.2010.279.
77. Saidel-Odes L, Polachek H, Peled N, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Selective Digestive Decontamination Using Oral Gentamicin and Oral Polymyxin E for Eradication of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Carriage. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33(1):14-19. doi:10.1086/663206.
78. Lübbert C, Faucheux S, Becker-Rux D, et al. Rapid emergence of secondary resistance to gentamicin and colistin following selective digestive decontamination in patients with KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*: A single-centre experience. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;42(6):565-570. doi:10.1016/j.ijantimicag.2013.08.008.
79. Tascini C, Sbrana F, Flammini S, et al. Oral gentamicin gut decontamination for prevention of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: Relevance of concomitant systemic antibiotic therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):1972-1976. doi:10.1128/AAC.02283-13.
80. Machuca I, Gutiérrez-Gutiérrez B, Pérez Cortés S, et al. Oral decontamination with aminoglycosides is associated with lower risk of mortality and infections in high-risk patients colonized with colistin-resistant, KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(11):3242-3249. doi:10.1093/jac/dkw272.
81. Michalopoulos A, Virtzili S, Rafailidis P, Chalevelakis G, Damala M, Falagas ME. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in critically ill patients: a prospective evaluation. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(2):184-186. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02921.x.

82. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): An emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(6):1119-1125. doi:10.1093/jac/dkq108.
83. Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess deaths associated with tigecycline after approval based on noninferiority trials. *Clin Infect Dis.* 2012;54(12):1699-1709. doi:10.1093/cid/cis270.
84. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37(5):415-419. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.01.012.
85. Roger C, Nucci B, Louart B, et al. Impact of 30 mg/kg amikacin and 8 mg/kg gentamicin on serum concentrations in critically ill patients with severe sepsis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(1):208-212. doi:10.1093/jac/dkv291.
86. Allou N, Bouteau A, Allyn J, et al. Impact of a high loading dose of amikacin in patients with severe sepsis or septic shock. *Ann Intensive Care.* 2016;6(1):106. doi:10.1186/s13613-016-0211-z.
87. Pajot O, Burdet C, Couffignal C, et al. Impact of imipenem and amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters on microbiological outcome of Gram-negative bacilli ventilator-associated pneumonia. *J Antimicrob Chemother.* 2014;70(5):1487-1494. doi:10.1093/jac/dku569.
88. Zavascki AP, Klee BO, Bulitta JB. Aminoglycosides against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the critically ill: the pitfalls of aminoglycoside susceptibility. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(6):519-526. doi:10.1080/14787210.2017.1316193.
89. White BP, Lomaestro B, Pai MP. Optimizing the initial amikacin dosage in adults. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(11):7094-7096. doi:10.1128/AAC.01032-15.
90. Rea RS, Capitano B, Bies R, Bigos KL, Smith R, Lee H. Suboptimal aminoglycoside dosing in critically ill patients. *Ther Drug Monit.* 2008;30(6):674-681. doi:10.1097/FTD.0b013e31818b6b2f.
91. MacDougall C. Protein Synthesis Inhibitors and Miscellaneous

- Antibacterial Agents. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, eds. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1147141135>.
92. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*. 2006;6(9):589-601. doi:10.1016/S1473-3099(06)70580-1.
 93. Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: Molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(1):128-132. doi:10.1093/jac/dki175.
 94. Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Christofidou M, et al. Risk factors for infection and predictors of mortality among patients with KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. *Scand J Infect Dis*. 2014;46(9):642-648. doi:10.3109/00365548.2014.923106.
 95. Landersdorfer CB, Nation RL. Colistin: How should It Be dosed for the critically ill? *Semin Respir Crit Care Med*. 2015;36(1):126-135. doi:10.1055/s-0034-1398390.
 96. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(12):4971-4977. doi:10.1128/AAC.00834-10.
 97. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, Tsuji BT, Li J, Nation RL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(9):3783-3789. doi:10.1128/AAC.00903-09.
 98. Dudhani R V., Turnidge JD, Coulthard K, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):1117-1124. doi:10.1128/AAC.01114-09.
 99. Cheah SE, Wang J, Nguyen VT h. T, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered

- colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(12):3291-3297. doi:10.1093/jac/dkv267.
100. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, et al. Pharmacokinetics of polymyxin B in patients on continuous venovenous haemodialysis. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(3):674-677. doi:10.1093/jac/dks437.
 101. Kunin CM. A guide to use of antibiotics in patients with renal disease. A table of recommended doses and factors governing serum levels. *Ann Intern Med.* 1967;67(1):151-158.
 102. Nation RL, Li J, Cars O, et al. Consistent global approach on reporting of colistin doses to promote safe and effective use. *Clin Infect Dis.* 2014;58(1):139-141. doi:10.1093/cid/cit680.
 103. Nation RL, Garonzik SM, Li J, et al. Updated US and European Dose Recommendations for Intravenous Colistin: How Do They Perform? *Clin Infect Dis.* 2016;62(5):552-558. doi:10.1093/cid/civ964.
 104. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: Acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014;5(NOV). doi:10.3389/fmicb.2014.00643.
 105. Helander IM, Kilpeläinen I, Vaara M. Increased substitution of phosphate groups in lipopolysaccharides and lipid A of the polymyxin-resistant pmrA mutants of *Salmonella typhimurium*: a ³¹P-NMR study. *Mol Microbiol.* 1994;11(3):481-487. doi:10.1111/j.1365-2958.1994.tb00329.x.
 106. Cheng H-Y, Chen Y-F, Peng H-L. Molecular characterization of the PhoPQ-PmrD-PmrAB mediated pathway regulating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *J Biomed Sci.* 2010;17(1):60. doi:10.1186/1423-0127-17-60.
 107. Kim SY, Choi HJ, Ko KS. Differential expression of two-component systems, pmrAB and phoPQ, with different growth phases of *Klebsiella pneumoniae* in the presence or absence of colistin. *Curr Microbiol.* 2014;69(1):37-41. doi:10.1007/s00284-014-0549-0.
 108. Cannatelli A, Di Pilato V, Giani T, et al. In vivo evolution to Colistin resistance by PmrB sensor kinase mutation in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* is associated with low-dosage colistin treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4399-4403. doi:10.1128/AAC.02555-14.

109. Lee GC, Burgess DS. Treatment of Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2012;11(1):32. doi:10.1186/1476-0711-11-32.
110. Falcone M, Russo A, Iacovelli A, et al. Predictors of outcome in ICU patients with septic shock caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(5):444-450. doi:10.1016/j.cmi.2016.01.016.
111. Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(7):726-734. doi:10.1016/S1473-3099(17)30228-1.
112. Zusman O, Avni T, Leibovici L, et al. Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(10):5104-5111. doi:10.1128/AAC.01230-13.
113. Batirel A, Balkan I, Karabay O, et al. Comparison of colistin-carbapenem, colistin-sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(8):1311-1322. doi:10.1007/s10096-014-2070-6.
114. Chuang Y-C, Cheng C-Y, Sheng W-H, et al. Effectiveness of tigecycline-based versus colistin-based therapy for treatment of pneumonia caused by multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in a critical setting: a matched cohort analysis. *BMC Infect Dis.* 2014;14:102. doi:10.1186/1471-2334-14-102.
115. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, et al. Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2322-2328. doi:10.1128/AAC.02166-13.
116. AYDEMIR H, AKDUMAN D, PISKIN N, et al. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia. *Epidemiol Infect.* 2013;141(6):1214-1222. doi:10.1017/S095026881200194X.

117. Gedik H, Ersoy A, Ersöz M, et al. Colistin against colistin-only-susceptible *Acinetobacter baumannii*-related infections: Monotherapy or combination therapy? *Indian J Med Microbiol.* 2012;30(4):448. doi:10.4103/0255-0857.103767.
118. Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, et al. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: A multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2013;57(3):349-358. doi:10.1093/cid/cit253.
119. Elemam A, Rahimian J, Doymaz M. In vitro evaluation of antibiotic synergy for polymyxin B-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(10):3558-3562. doi:10.1128/JCM.01106-10.
120. Quale J, Shah N, Kelly P, et al. Activity of Polymyxin B and the Novel Polymyxin Analogue CB-182,804 Against Contemporary Gram-Negative Pathogens in New York City. *Microb Drug Resist.* 2012;18(2):132-136. doi:10.1089/mdr.2011.0163.
121. Gomez-Simmonds A, Nelson B, Eiras DP, et al. Combination regimens for treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(6):3601-3607. doi:10.1128/AAC.03007-15.
122. Cheng A, Chuang Y-C, Sun H-Y, et al. Excess Mortality Associated With Colistin-Tigecycline Compared With Colistin-Carbapenem Combination Therapy for Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Crit Care Med.* 2015;43(6):1194-1204. doi:10.1097/CCM.0000000000000933.
123. Etienne A, Esterni B, Charbonnier A, et al. Comorbidity is an independent predictor of complete remission in elderly patients receiving induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Cancer.* 2007;109(7):1376-1383. doi:10.1002/cncr.22537.
124. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections.[Summary for patients in *Ann Intern Med.* 2004 Jan 6;140(1):143; PMID: 14706996]. *Ann Intern*

Med. 2004;140:26-32.

7. ARTIGO 1

**Combination therapy with polymyxin B for carbapenemase-producing
Klebsiella pneumoniae bloodstream infection**

**Gregory Saraiva MEDEIROS¹, Maria Helena RIGATTO², Alexandre P
ZAVASCKI^{3,4}**

*¹Critical Care Unit, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil; ²Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ³Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; ⁴Department of Internal Medicine, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil**

Running Title: KPC-KP BSI combination therapy

Keywords: *Klebsiella* infections; *Klebsiella pneumoniae*; mortality; beta-lactamases; carbapenems; amikacin

*Corresponding Author: Alexandre P Zavascki. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90035-903, Brazil. Phone/fax: +55 (51) 33598152
E-mail: azavascki@hcpa.ufrgs.br

ABSTRACT

Background: *Enterobacteriaceae* are the leading cause of bloodstream infections (BSIs) in Brazilian hospitals. KPC-*Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP) bacteremia is related to high mortality rates and has limited treatment options. Rationale for combination therapy in this setting would be increasing bactericidal action and decreasing resistance induction. The best combination regimens are still unknown.

Objective: In this study we aim to evaluate 30-day mortality in KPC-KP bacteremia with particular emphasis on combination therapy.

Methods: This is a single center retrospective cohort study that included patients ≥ 18 years diagnosed with KPC-KP BSIs. The primary outcome was 30-day mortality after BSI. KPC-KP BSI was defined as one or more positive blood cultures with recovery of KPC-KP. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests were performed using Vitek 2 (bioMérieux, France) automatized system. Antimicrobial therapy was defined as empirical (started on first 48 hours) and definitive (schemes initiated or maintained after 48 hours) and evaluated as follows: no active agents, monotherapy (only one active agent), combination therapy between one active agent plus one or more non-active agents and combination with two or more *in vitro* active agents. Statistical analysis was performed using SPSS for Windows, version 18.0. Kaplan-Meier survival estimates were calculated and the difference was evaluated using the log-rank test. All tests were two-tailed and a p value < 0.05 were considered statistically significant. A Cox regression model was performed to identify independent factors related to 30-day mortality.

Results: A total of 105 bloodstream infections caused by KPC-KP were included and 63 (60%) patients died in the first 30 days after BSI. Median time to death was 24 days (95% CI, 17-21 days). The mortality of patients treated with the combination of two *in vitro* active antibiotics was significantly lower (16.5/1000 patients-day) compared with the ones treated with other regimens (57.5/1000 patients-day), ($p=0.01$). Combination therapy (Hazard Ratio [HR]; 0.32; 95% CI, 0.18-0.57; $p<0.01$) and urinary source of BSI (HR; 0.29; 95% CI, 0.09-0.95; $p=0.04$) were independently associated to 30-day survival, when controlled for cancer (HR; 1.98; 95% CI, 1.18-3.32; $p=0.01$), non-surgical admission (HR;

2.91; 95% CI, 1.56-5.42; $p < 0.01$) and use of vasoactive drugs (HR; 2.94; 95% CI, 1.59-5.29; $p < 0.01$).

Conclusion: Combination therapy with two *in vitro* active agents showed a survival benefit when compared to other regimens.

Keywords: *Klebsiella* infections; *Klebsiella pneumoniae*; mortality; beta-lactamases; carbapenems, amikacin

Introduction

Klebsiella pneumoniae isolates are among the most common bacteria causing hospital acquired infections, including bloodstream infections (BSIs).[1,2] Carbapenems used to be the antimicrobials of last resource against *Enterobacteriaceae*, including *K pneumoniae*; however, the activity of this class has been threatened by the emergence of carbapenemase producing isolates, notably carbapenemase-producing *K pneumoniae* (KPC-KP).[1,2] Infections caused by KPC-KP usually affect patients with multiple comorbidities and are associated with higher mortality rates.

BSIs by KPC-KP are life-threatening infections which are associated with even higher mortality rates.[3] Currently, there are limited treatment options for KPC-KP BSIs, which usually relies on one of the old polymyxins, either colistin or polymyxin B (PMB).[4] Combination therapy regimens with colistin plus a second antimicrobial with *in vitro* activity seem to related with lower mortality rates in several studies,[5,6][7][8] although this potential benefit may be limited to a subset of more severe patients.[9,10][11,12]

PMB has been shown to present pharmacokinetics advantages over colistin which is administered as a prodrug, including faster achievement of therapeutic plasma levels and potential for lower renal toxicity, and it has been considered the preferred polymyxin for systemic infections.[13][14] However, the experience with PMB for KPC-KP is still limited to a few studies, in which the association of combination therapy with improved survival is controversial.[9,10,12] In this study we aim to evaluate risk factors for 30-day mortality in monomicrobial KPC-KP bacteremia in a hospital where PMB is available, with particular emphasis on combination therapy.

Methods

Study design, settings and participants

This is a single center retrospective cohort study performed in a public tertiary-care teaching hospital with 59 intensive care beds in Porto Alegre, Brazil, from August 2015 to December 2016. Patients ≥ 18 years old with KPC-KP BSIs were included. Data was collected from electronic patients register – database was generated by the informatics department through retrospective query. Patients were excluded if they had polymicrobial infection (defined as blood

culture with isolation of KPC-KP plus any other microorganism). Patients who had more than one KPC-KP bacteremia were included as a new patient if infection occurred >30 days after the last treatment. This study was approved by the local ethics committee.

Microbiologic Tests

Bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests were performed using Vitek 2 (bioMérieux, France) automatized system. Susceptibility was interpreted according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Criteria.[15] Isolates with a MIC \leq 2mg/L was considered susceptible to PMB (colistin breakpoint for *Enterobacteriaceae*)[16] and with a MIC \leq 1mg/L susceptible to tigecycline.[16]

Variables and definitions

The primary outcome was 30-day mortality after BSI. KPC-KP BSI was defined as one or more positive blood cultures with recovery of KPC-KP. Variables potentially related to 30-day mortality were demographics, weight, Body Mass Index, baseline creatinine clearance (estimated by Cockcroft-Gault equation), comorbidities and Charlson Comorbidity Index,[17] length of hospital stay before BSI, Pitt bacteremia score,[18] admission to intensive care unit (ICU), use of vasoactive agents, renal replacement therapy at or after BSI diagnosis and mechanical ventilation. Primary site of infection was defined according to Centers for Disease Control and Prevention and National Healthcare Safety Network (CDC/NHSN).[19] Antimicrobial therapy maintained for at least 48 hours was considered for analysis and defined as empirical (started in first 48 hours) or definitive (initiated or maintained after 48 hours) and evaluated as follows: no *in vitro* active agents, monotherapy (only one *in vitro* active agent), combination therapy between one *in vitro* active agent plus one or more *in vitro* non-active agents and combination with two or more *in vitro* active agents. Meropenem was considered an active drug when the isolate presented a MIC \leq 8 mg/L.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS for Windows, version 18.0. Univariate analyses were performed using χ^2 test or Fisher exact test for categorical variables and *t* Student test or Mann Whitney U test for continuous variables. Kaplan-Meier survival estimates were calculated and the difference

was evaluated using the log-rank test. All tests were two-tailed and a p value <0.05 was considered statistically significant.

A Cox regression model was performed to identify independent factors related to 30-day mortality. Variables with $p \leq 0.20$ in univariate analysis were included in the model in a forward stepwise way. Those with a $p \leq 0.05$ were maintained in final model. Variables were checked for confounding and collinearity, and no interactions were tested.

Results

A total of 152 KPC-KP BSIs was identified during the study period. Of these, 47 polymicrobial BSIs were excluded, resulting in a total of 105 episodes included for analysis (two of them occurred after 66 and 82 days from the first episode were considered as new cases). A total of 63 (60.0%) patients died in the first 30 days after BSI. Median time to death was 24 days (Interquartile range [IQR], 17-21 days). The characteristics of the entire cohort and the univariate analysis are presented in table 1.

There was no significant association between different empiric therapeutic regimens and 30-day mortality, while combination with two *in vitro* active antimicrobials was significantly associated with lower overall mortality rate (Table 2). Overall mortality, excluding patients treated with no *in vitro* active agents, was 72.2% (26/36) patients in the monotherapy or monotherapy plus no active *in vitro* agent group compared to 39.1% (18/46) patients in the combination therapy group ($p < 0.01$). The mortality rate of patients treated with the combination of two *in vitro* active antibiotics was significantly lower (16.5/1000 patients-day) than that of the remaining patients (57.5/1000 patients-day), ($p < 0.01$) (Figure 1A and 1B). Excluding patients who do not receive any *in vitro* active antibiotic, the mortality was significantly higher among patients treated with monotherapy or combination of one active plus a non-active antibiotic (44.4/1000 patients-day), ($p = 0.01$).

The mean doses of the antimicrobials used in treatments were 2.8mg/Kg/day of PMB, 15.1mg/Kg/day of amikacin, 6g/day of meropenem and 100mg/day of tigecycline. There was no significant difference between doses and treatment groups (one-way ANOVA) for PMB ($p = 0.24$), amikacin ($p = 0.72$), meropenem ($p = 0.82$) and tigecycline ($p = 0.12$). There were no significant differences between MICs and treatment groups (one-way ANOVA) amikacin

(p=0.32), PMB (p=0.53), meropenem (p=0.72) and tigecycline (p=0.63). PMB resistant KPC-KP BSI had a 30-day mortality of 80.0% and in-hospital mortality of 100%.

In multivariate analysis, combination therapy was independently associated with 30-mortality as urinary source BSI. Cancer, non-surgical admission and requirement of vasoactive drugs were all independent factor associated with higher mortality risk in the model 1 which included all treatment groups (table 3). Also we included a model 2 without no *in vitro* active treatment group (table 3).

Discussion

In our study, definitive combination therapy with two *in vitro* active agents was independently associated with 30-day survival in KPC-KP BSI. Although this finding has been previously shown, our study provides distinguishing findings. First, combination therapy has been found to be associated with lower mortality in KPC-KP infections, mostly BSI, in patients whose therapy either as a part of combination schemes or in monotherapy was mostly based on colistin.[5–7,11,20] Since colistin is administered as a prodrug, colistimethate, and “therapeutic” levels of colistin may take several hours to be obtained,[21,22] one could argue that monotherapies mostly including colistin were inferior largely because of its intrinsic pharmacokinetic limitations. Here, polymyxin B, which is administered as the active drug, has been used in most of combinations and monotherapy schemes and the benefit of combination with another *in vitro* active could be shown as well. It should be mentioned that previous studies addressing combination therapy with polymyxin B have not found differences in combination schemes, although limitations discussed in each of these studies might have hampered such findings.[9,10,12]

Second, we compared different groups of antimicrobial regimes according to their *in vitro* activity against KPC-KP isolates, and we could demonstrate that there was no benefit in the association of a second antimicrobial that the isolate was resistant *in vitro*. Notably, 23 out of 25 patients in this group received a combination of polymyxin B (with *in vitro* activity) with meropenem (for isolates with MIC \geq 16mg/L). This finding is relevant since it apparently contrasts with what has been found by Giannella *et al.*,[23] whose findings indicated a benefit of

association of high-dose meropenem to colistin in isolates with MICs >8mg/L. However, this apparently contrasting finding must be analyzed with caution because both it was not the objective of the latter study to compare this high-dose regimes with schemes containing two *in vitro* active agents, when they could occasionally find a lower mortality in these patients, and the limited number of patients in monotherapy group impaired our ability to make robust comparison between combination with one *in vitro* active plus one non-active with monotherapy.

Third, our study provides some data supporting the use of amikacin in combination with polymyxin B when the isolate is *in vitro* susceptible to both agents. Indeed, the major components of combination schemes have been colistin and meropenem (for isolates with MIC≤8mg/L) or tigecycline. Nonetheless, although polymyxin B plus amikacin was the most frequent combination among schemes containing two or more *in vitro* agents, the overall mortality was similar among all combinations schemes, 40-50%, which included polymyxin B plus tigecycline and triple combination with polymyxin B, tigecycline and amikacin, with the exception of schemes containing meropenem against isolates with meropenem MIC≤8mg/L (all of three were survivors). Thus, we were not able to demonstrate superiority of any combination scheme over another.

Fourth, in our study we compared dosage regimes of each agent in different schemes and we could ruled out this issue as a potential cause of the observed differences. It is important since previous studies have not fully addressed dosage of all antimicrobials in different schemes, and this has still been a point of controversy on the potential benefit of combing two *in vitro* active antimicrobials. Actually, the mean doses administered to our patients may be considered generally adequate, 2.8 mg/kg/day of polymyxin B, 6g/day of meropenem (2g every 8 hours over 3-h infusion), with the exception of tigecycline, since the mean dose corresponds to the usual dosage regime (50 mg every 12 hours) that may be suboptimal for isolates with MICs of 1.0mg/L or even 0.5mg/L[24]. Finally, the mean dose of amikacin (15.1mg/kg, administered once daily) may also be considered low, especially for susceptible isolates with MICs of 8 or 16mg/L.[24] However, most (60%) of the isolates of patients receiving amikacin had an MIC≤2mg/L, for which these doses might be effective especially in combination with other active antimicrobial.

All the other variables independently associated with 30-day mortality could be expected or have been found in previous studies, i.e. need of vasoactive drugs and cancer associated with increased risk of death as well as urinary source of BSI associated with lower risk.[5,6,9,11,25,26] We also found that non-surgical admission was a factor associated with high mortality rate. In fact, in the institution the work has been carried out, most surgical admissions had been elective and/or in patients with fewer comorbid conditions (data not shown) and we believe that this was the reason for impacting in our main findings.

Noteworthy, the largest multicenter study performed so far could only demonstrate a benefit for combination therapy in the subgroup of patients with high-risk for mortality.[7] Although we could not stratified our patients by mortality risk, our cohort included patients with a median Charlson and Pitt Bacteremia index of 4 and 5, respectively, which are higher than the median values for these variables in the entire cohort of INCREMENT study (2 and 2, respectively).[7] Thus, it might suggest that the severity of our patients resembles that of high-risk group of INCREMENT where combination has been shown superior to monotherapy.

Another remarkable finding is that the 10 patients (9,5%) with polymyxin B-resistant KPC-KP BSIs, presented an extremely high 30-day mortality and 100% in-hospital mortality. This finding is worrisome especially considering sharp increase in resistance to polymyxins that has been observed in some countries, including Brazil, over the last years.[20,27–29]

Beyond some previously discussed, this study has other limitations that must be acknowledged, such as the relatively small number of patients, which precluded the evaluation of specific drug combinations. Additionally, it is a single center study, so any extrapolation warrants caution. Finally, 34/82 isolates were not tested for polymyxin B MIC and were considered susceptible to this agent based on the susceptibility rates of tested isolates.

In conclusion, this retrospective cohort showed a 60.0% 30-day mortality in KPC-KP BSIs. Polymyxin B-containing schemes in combination with other *in vitro* active antimicrobial, mostly amikacin, were independently associated with lower 30-day. Further studies are necessary to evaluate specific drug combination regimens.

Funding: None

Competing interests: A.P.Z. is a research fellow of CNPq. A.P.Z has received honoraria for speaking engagements and consultancy from AstraZeneca, Cipla, MSD, Pfizer and United Pharmaceuticals. All other authors: none to declare.

Ethical approval: The local ethics committee has approved the study (CAEE 52205315.0.3001.5530).

References

- [1] Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis* 2013;13:785–96. doi:10.1016/S1473-3099(13)70190-7.
- [2] Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009;9:228–36. doi:10.1016/S1473-3099(09)70054-4.
- [3] Tamma PD, Goodman KE, Harris AD, Tekle T, Roberts A, Taiwo A, et al. Comparing the Outcomes of Patients with Carbapenemase-Producing and Non- Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Bacteremia. *Clin Infect Dis* 2017:[epub ahead of print]. doi:10.1093/cid/ciw741.
- [4] Bassetti M, Giacobbe DR, Giamarellou H, Viscoli C, Daikos GL, Dimopoulos G, et al. Management of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. *Clin Microbiol Infect* 2017. doi:10.1016/j.cmi.2017.08.030.
- [5] Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: Importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012;55:943–50. doi:10.1093/cid/cis588.
- [6] Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*

- bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2322–8. doi:10.1128/AAC.02166-13.
- [7] Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh PR, Viale P, Paño-Pardo JR, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2017;17:726–34. doi:10.1016/S1473-3099(17)30228-1.
- [8] Tumbarello M, Viale P, Bassetti M, De Rosa FG, Spanu T, Viscoli C. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study--authors' response. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:2922. doi:10.1093/jac/dkv200.
- [9] Gomez-Simmonds A, Nelson B, Eiras DP, Loo A, Jenkins SG, Whittier S, et al. Combination Regimens for Treatment of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:3601–7. doi:10.1128/AAC.03007-15.
- [10] Crusio R, Rao S, Changawala N, Paul V, Tiu C, van Ginkel J, et al. Epidemiology and outcome of infections with carbapenem-resistant Gram-negative bacteria treated with polymyxin B-based combination therapy. *Scand J Infect Dis* 2014;46:1–8. doi:10.3109/00365548.2013.844350.
- [11] Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:1798–803. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03514.x.
- [12] Nguyen M, Eschenauer GA, Bryan M, O'Neil K, Furuya EY, Della-Latta P, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67:180–4. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.001.
- [13] Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: Peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis* 2014;59:88–94. doi:10.1093/cid/ciu213.
- [14] Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: The Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis* 2015;15:225–34.

- doi:10.1016/S1473-3099(14)70850-3.
- [15] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Seventh Edition. 2017.
- [16] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 7.0, 2017. 2017.
- [17] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40:373–83. doi:10.1016/0021-9681(87)90171-8.
- [18] Rhee J-Y, Kwon KT, Ki HK, Shin SY, Jung DS, Chung D-R, et al. Scoring Systems for Prediction of Mortality in Patients With Intensive Care Unit-Acquired Sepsis. *Shock* 2009;31:146–50. doi:10.1097/SHK.0b013e318182f98f.
- [19] CDC, NHSN. CDC/NHSN Surveillance Definition of Healthcare-Associated Infection and Criteria for Specific Types of Infections in the Acute Care Setting. vol. 2015. 2014. doi:10.1016/j.ajic.2008.03.002.
- [20] Falcone M, Russo A, Iacovelli A, Restuccia G, Ceccarelli G, Giordano A, et al. Predictors of outcome in ICU patients with septic shock caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:444–50. doi:10.1016/j.cmi.2016.01.016.
- [21] Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* 2013;57:524–31. doi:10.1093/cid/cit334.
- [22] Landersdorfer CB, Nation RL. Colistin: How should It Be dosed for the critically ill? *Semin Respir Crit Care Med* 2015;36:126–35. doi:10.1055/s-0034-1398390.
- [23] Giannella M, Trecarichi EM, Giacobbe DR, De FG, Bassetti M, Bartoloni A, et al. Effect of combination therapy containing a high dose carbapenem on mortality in patients with carbapenem-resistant *klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *Int J Antimicrob Agents* 2017. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.08.019.
- [24] Zavascki AP, Klee BO, Bulitta JB. Aminoglycosides against carbapenem-

- resistant Enterobacteriaceae in the critically ill: the pitfalls of aminoglycoside susceptibility. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2017;15:519–26. doi:10.1080/14787210.2017.1316193.
- [25] Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, Iosifidis E, Karapanagiotou A, Giasnetsova T, et al. Bloodstream Infections Caused by Metallo- β -Lactamase/Klebsiella pneumoniae Carbapenemase–Producing K. pneumoniae among Intensive Care Unit Patients in Greece: Risk Factors for Infection and Impact of Type of Resistance on Outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:1250–6. doi:10.1086/657135.
- [26] Batirel A, Balkan I, Karabay O, Agalar C, Akalin S, Alici O, et al. Comparison of colistin-carbapenem, colistin-sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:1311–22. doi:10.1007/s10096-014-2070-6.
- [27] Monaco M, Giani T, Raffone M, Arena F, Garcia-Fernandez A, Pollini S, et al. Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: A rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Eurosurveillance* 2014;19. doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.42.20939.
- [28] Seco BMS, Mello JL, Santa S, De C, Paulo S, Santos CC Dos, et al. Polymyxin B Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*, São Paulo, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2016;22:1849–51. doi:10.3201/eid2210.160695.
- [29] Rojas LJ, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, et al. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory Detection and Impact on Mortality. *Clin Infect Dis* 2017;64:711–8. doi:10.1093/cid/ciw805.

Table 1. Characteristic of the cohort and univariate analysis of risk factors associated with 30-day mortality

Variables ^a	Total (n=105)	30-day mortality		p value
		Yes (n=63)	No (n=42)	
Age (years)	58.2±17	59.7±17	54.1±18	0.10
Gender (male)	69 (65.7)	44 (69.8)	25 (59.5)	0.70
Body Mass Index (kg/m ²)	24.8±6	25.3±7	24.4±6	0.51
Charlson comorbidity index	5 (2-8)	6 (2-8)	5 (2-8)	0.62
Cardiovascular disease	45 (42.9)	26 (41.3)	19 (45.2)	0.70
Cancer	47 (44.8)	33 (52.4)	14 (33.3)	0.07
Chronic lung disease	15 (14.3)	10 (15.9)	5 (11.9)	0.80
Cirrhosis	17 (16.2)	9 (14.3)	8 (19.0)	0.60
Diabetes	24 (22.9)	15 (23.8)	9 (21.4)	0.82
HIV	8 (7.6)	5 (7.9)	3 (7.1)	0.99
Nervous system disease	24 (22.9)	15 (30.9)	9 (21.4)	0.82
Baseline creatinine clearance (mL/min)	54.0 (32.2-90.6)	47.4 (30.3-78.5)	69.5 (40.1-105.4)	0.62
Non-surgical patients	68 (64.8)	47 (74.6)	21 (50.0)	0.01
Length of stay before BSI (days)	23.0 (12-45)	22.0 (11-41)	30.0 (12.0-57.0)	0.10
Pitt bacteremia score	4 (1-10)	7 (2-10)	2 (0-8)	0.01
Primary infection site				
Catheter-associated bacteremia	13 (12.4)	8 (12.7)	5 (11.9)	0.99
Pulmonary	32 (30.5)	20 (31.7)	12 (27.9)	0.83
Urinary	10 (9.5)	4 (6.3)	6 (13.9)	0.20
Abdominal	17 (16.2)	11 (17.4)	6 (14.3)	0.80
Endocarditis	1 (1.0)	0	1 (2.4)	0.40
Skin and Soft Tissue	14 (13.3)	7 (11.1)	7 (16.7)	0.56
Not defined	18 (17.1)	13 (20.6)	5 (11.9)	0.30
Intensive Care Unit admission	66 (62.9)	49 (77.8)	17 (40.5)	<0.01

Vasoactive drugs	59 (59.6)	45 (71.4)	14 (33.3)	<0.01
Mechanic ventilation	61 (61.6)	46 (73.0)	15 (35.7)	<0.01
Renal Replacement Therapy	47 (45.6)	35 (55.6)	12 (28.6)	<0.01

BSI, bloodstream infection; HIV, human immunodeficiency virus

^a Variables are n (%), mean±SD or median (Interquartile range)

Table 2. Thirty-day mortality according to empiric and definitive antimicrobial regimen received for bloodstream infection

Antimicrobial regimen	Empiric		<i>p</i>	Definitive		<i>p</i>
	30-day mortality			30-day mortality		
	Yes (n=63)	No (n=42)		Yes (n=63)	No (n=42)	
No <i>in vitro</i> active antimicrobial^a	36 (61.0)	23 (39.0)	0.84	19 (82.6)	4 (17.4)	0.01
Polymyxin B	1 (100.0)	0		0	0	
Polymyxin B + Meropenem	1 (33.3)	2 (66.7)		3 (75.0)	1 (25.0)	
Meropenem	9 (56.2)	7 (43.8)		2 (50.0)	2 (50.0)	
None	25 (64.1)	14 (35.9)		14 (93.3)	1 (6.7)	
One <i>in vitro</i> active in monotherapy^b	3 (33.3)	6 (66.7)	0.08	8 (73.0)	3 (27.0)	0.52
Polymyxin B	1 (16.7)	5 (83.3)		5 (66.5)	3 (37.5)	
Tigecycline	0	0		1 (100.0)	0	
Amikacin	1 (50.0)	1 (50.0)		2 (100.0)	0	
Meropenem	1 (100.0)	0		0	0	
Combination of one <i>in vitro</i> active plus one non-<i>in vitro</i> active antimicrobial^{c*}	21 (72.4)	8 (27.6)	0.07	18 (72.0)	7 (28.0)	0.24
Polymyxin B + Meropenem	20 (74.1)	7 (25.9)		17 (73.9)	6 (26.1)	
Amikacin + Meropenem	0	1 (100.0)		1 (100.0)	0	
Amikacin + Polymyxin B	0	0		0	1 (100.0)	
Tigecycline + Polymyxin B + Meropenem	1 (100.0)	0		0	0	
Combination therapy with two <i>in vitro</i> active antimicrobials^d	3 (37.5)	5 (62.5)	0.26	18 (39.0)	28 (61.0)	<0.01
Polymyxin B + Amikacin	2 (50.0)	2 (50.0)		12 (40.0)	18 (60.0)	
Polymyxin B + Amikacin + Tigecycline	1 (50.0)	1 (50.0)		4 (50.0)	4 (50.0)	
Polymyxin B + Tigecycline	0	0		2 (40.0)	3 (60.0)	
Polymyxin B + Meropenem**	0	2 (100.0)		0	2 (100.0)	

Polymyxin B + Amikacin + Meropenem**	0	0	0	1 (100.0)
--------------------------------------	---	---	---	-----------

^a In the empiric treatment 2 samples weren't tested to meropenem and were considered as resistant.

^b In the empiric treatment 2 samples weren't tested to PMB and were considered as susceptible, in the definitive treatment 1 sample wasn't tested to PMB and was considered as susceptible

^c In the empiric treatment 11 samples weren't tested to PMB (all in the combination with no active meropenem) and were considered as susceptible. In the definitive treatment 10 samples weren't tested to PMB and were considered as susceptible

^d In the empiric treatment 1 sample was tested to PMB (combination with amikacin) and 1 sample was tested to PMB (combination with meropenem) and were considered as susceptible. In the definitive treatment 10 samples weren't tested to PMB (combination with amikacin) and were considered as susceptible. Besides that, 1 sample wasn't tested to tigecycline and were considered as susceptible.

* The first antimicrobial presented is the *in vitro* active antimicrobial

** Meropenem MIC \leq 8

Table 3. Multivariate analysis of factors associated with 30-day mortality in patients with KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections

Variable	Model 1			Model 2 ^b		
	aHR	95% CI	<i>p</i>	aHR	95% CI	<i>p</i>
Combination therapy ^a	0.32	0.18-0.57	<0.01	0.38	0.20-0.70	<0.01
Vasoactive drugs	2.90	1.59-5.29	<0.01	3.64	1.73-7.67	<0.01
Non-surgical admission	2.91	1.56-5.42	<0.01	2.49	1.24-5.00	<0.01
Cancer	1.98	1.18-3.32	0.01	1.73	0.93-3.20	0.08
Urinary source	0.29	0.09-0.95	0.04			

aHR, adjusted Hazard Ratio; CI, Confidence Interval

^a Combination therapy with two *in vitro* active antimicrobials

^b Excluding no *in vitro* active antimicrobials group

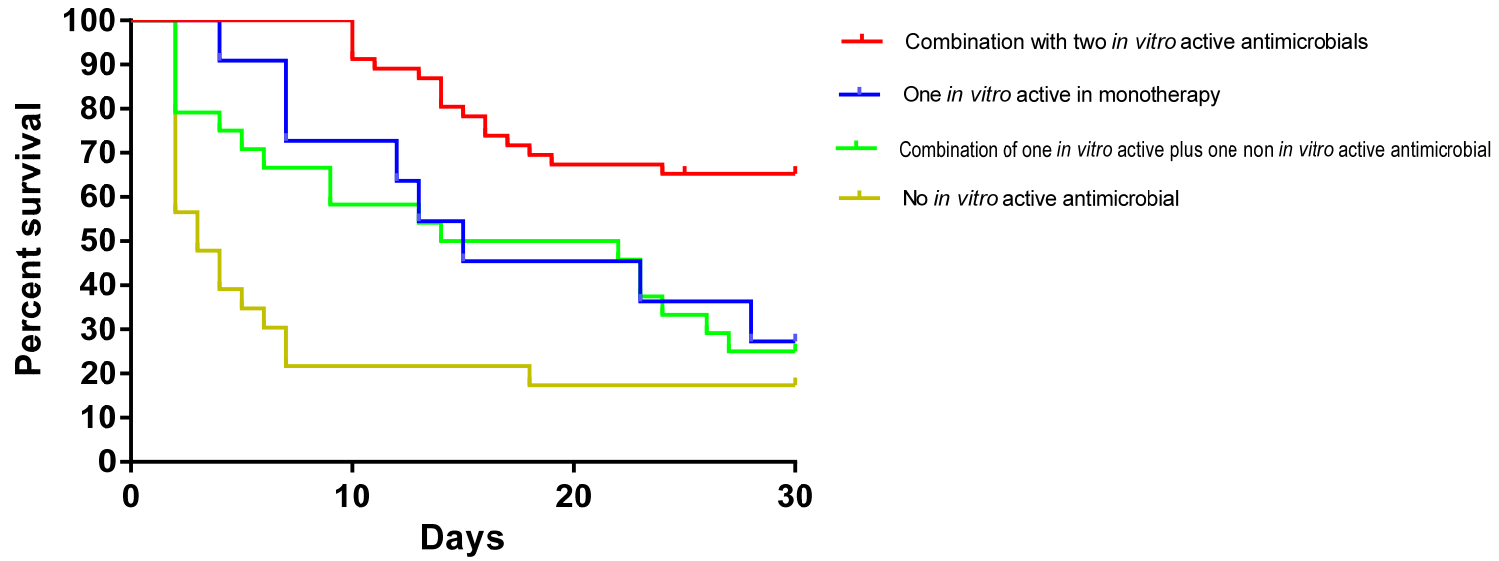


Figure 1A – 30-day survival and treatment regimens

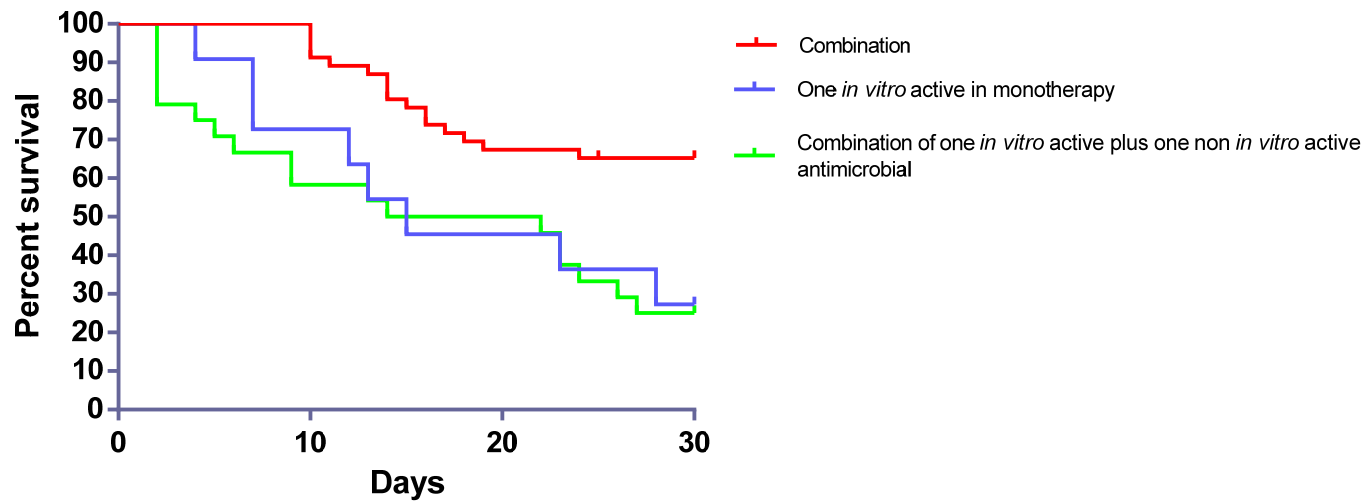


Figure 1B – 30-day survival without no *in vitro* active antimicrobial group

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi demonstrado a partir deste trabalho que esquemas terapêuticos contendo PMB com duas ou mais drogas ativas *in vitro* associam-se independentemente com a sobrevida em 30 dias em pacientes com bacteremias por KPC-KP. Ainda, verificou-se que combinações contendo um agente ativo *in vitro* com um ou mais agentes inativos não acrescentam benefício de sobrevida. Novos estudos são necessários para elucidar combinações específicas.

9. ANEXOS

9.1 Instrumento de coleta de dados

PROJETO DE PESQUISA: TERAPIA COMBINADA COM POLIMIXINA B NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUTORAS DE CARBAPENEMASE (KPC-KP) – ESTUDO DE COORTE RETROSPECTIVO

Instrumento de Coleta de Dados

1. Dados de Identificação

1.1 Registro: _____ (número do prontuário)

1.2 Sexo: () 1. Feminino. () 2. Masculino

1.3 Data de Nascimento: ____/____/____

Data da Internação: ____/____/____

2. Características do Paciente

2.1 Dados antropométricos: Peso (Kg): _____ Altura (m): _____

2.2 Creatinina (admissão): _____

2.3 Escore de Charlson (admissão): _____

2.4 Tipo de patologia (admissão): () 1. Clínica () 2. Cirúrgica

3. Características da Infecção

3.1 Data da hemocultura: ____/____/____

3.2 Antibiótico prévio (todos os utilizados): _____

() 1. Pipetazo () 2. Meropenem () 3. PoliB () 4. Aminoglicolico () 5. Tige

3.3 Escore de Pitt (48h antes até a coleta da hemocultura):

3.4 Foco: _____

()1. Pulmão ()2. Pele ()3. Abdome ()4. CVC ()5. Urina ()6. SNC
()7. Endocardite ()8. Não elucidado

3.5 Retirada do catéter (se foco): ()1. Sim ()2. Não.

Data : ____/____/____

3.6 Foco drenado: ()1. Sim ()2. Não ()3. Não se aplica.

Data : ____/____/____

3.7 UTI: ()1. Sim ()2. Não

Data : ____/____/____

3.8 Diálise: ()1. Sim ()2. Não

Data : ____/____/____

4. Características do Tratamento

4.1 Perfil de Sensibilidade

Amica ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC: _____

PoliB ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC: _____

Tige ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC _____

Mero ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC: _____

Imipe ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC: _____

Genta ()1. Sensível ()2. Resistente ()3. Interm ()4. Não Testado.

MIC: _____

4.2 Tempo de início do tratamento (após isolamento/dias):

4.3 Dose de Ataque: ()1. Sim ()2. Não

4.4 Droga utilizada

Amica ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

PoliB ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

Tige ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

Mero ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

Imipe () ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

Genta ()1. Sim ()2. Não. Tempo (dias): _____.

Dose total: _____

4.5 Número de drogas ativas: _____

4.6 Terapia combinada (pelo menos 48h) _____

4.7 Grupo: () Nenhum ativo () Monoterapia () Combinada com 1 ativo

() Combinada com 2 ou mais ativos

5. Desfecho

5.1 Tempo de permanência na UTI, se transferido: _____

5.2 Tempo de ventilação mecânica: _____

5.3 Tempo de vasopressor: _____

5.4 Tempo de permanência no hospital: _____

5.5 Alta: () 1. Sim () 2. Não

5.6 Óbito (30 dias): () 1. Sim () 2. Não

9.2 Charlson Comorbidity Index

CHARLSON COMORBIDITY INDEX (CCI)	
Comorbidade	Pontuação
Demência	1
Doença vascular periférica	1
Infarto do miocárdio	1
Insuficiência cardíaca congestiva	1
Doença cérebro-vascular	1
Úlcera	1
Doença hepática (leve)	1
Diabetes (leve ou moderada)	1
Doença pulmonar (moderada ou grave)	1
Doença do tecido conjuntivo	1
Diabetes (grave com dano de órgão alvo)	2
Doença renal (moderada ou grave)	2
Tumores sólidos (sem metástases)	2
Leucemia	2
Linfoma	2
Hemiplegia	2
Doença hepática (moderada ou grave)	3
Tumor sólido (com metástases)	6
Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)	6
Total	

Adaptado de Etienne, A, Esterni, B, Charbonnier, A, et al. Comorbidity is an independent predictor of complete remission in elderly patients receiving induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Cancer* 2007; 109:1376.¹²³

9.3 Pitt Bacteremia Score

PITT BACTEREMIA SCORE		
Critério	Descrição	Pontuação
Febre (temperatura oral)	≤35°C ou ≥40°C	2
	35,1-36°C ou 39,0-39,9°C	1
	36,1-38,9°C	0
Hipotensão	Evento hipotensor agudo com queda na PAS > 30mmHg e PAD >20mmHg ou necessidade de droga vasopresora intravenosa ou PAS <90mmHg	2
Ventilação mecânica		2
Parada cardíaca		4
Estado mental	Alerta	0
	Desorientado	1
	Torporoso	2
	Comatoso	4

Adaptado de Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections.[Summary for patients in *Ann Intern Med.* 2004 Jan 6;140(1):143; PMID: 14706996]. *Ann Intern Med.* 2004;140:26-32.¹²⁴