



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À SAÚDE**

RITA DE CÁSSIA SANTA ROSA MATOS

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE
BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ISOLADAS EM UM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

**LAGARTO-SE
2025**

RITA DE CÁSSIA SANTA ROSA MATOS	CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ISOLADAS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO	2025

RITA DE CÁSSIA SANTA ROSA MATOS

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE
BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ISOLADAS EM UM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante

Linha de Pesquisa: Pesquisa Clínica Avançada

**LAGARTO-SE
2025**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CAMPUS DE LAGARTO

M433c Matos, Rita de Cássia Santos Rosa.
Caracterização fenotípica e molecular de bactérias
multirresistentes isoladas em um hospital universitário / Rita de Cássia
Santos Rosa Matos ; orientador Rafael Ciro Marques Cavalcante. –
Lagarto, SE, 2025.
101 f. ; il.

Dissertação (mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) –
Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Infecção hospitalar. 2. Resistência a medicamentos
antimicrobianos. 3. Anti-infecciosos. 4. Fatores de Virulência. I.
Cavalcante, Rafael Ciro Marques, orient. II. Título.

CDU 616-008.87

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

CRB-5/ 2100

RITA DE CÁSSIA SANTA ROSA MATOS

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE
BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ISOLADAS EM
UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Aprovado em: 29/08/2025



Documento assinado digitalmente
RAFAEL CIRO MARQUES CAVALCANTE
Data: 14/10/2025 14:29:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante



Documento assinado digitalmente
NATALIA NOGUEIRA SARAIVA
Data: 14/10/2025 12:00:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

1º Examinador: Profª Drª Natália Nogueira Saraiva



Documento assinado digitalmente
CARLOS EDUARDO PALANCH REPEKE
Data: 14/10/2025 14:07:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

2º Examinador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Palanch Repeke

PARECER

A aluna apresentou conjunto de dados e volume de trabalho suficientes para o período de mestrado. O trabalho foi aprovado, considerando alterações pontuais na metodologia e aprofundamento da discussão.

À minha família: Inês, Elizeu, Marcos Paulo e
Ana Paula (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho, que culmina na finalização de um ciclo, algumas pessoas foram essenciais, sem as quais, certamente os caminhos percorridos teriam sido diferentes. Por isso expresso a todas elas minha gratidão:

A Deus, pelo dom da vida e por me dá condições físicas e psicológicas para desenvolver este trabalho e vencer os obstáculos nesse processo de mestrado, permitindo-me chegar ao fim desse ciclo.

À minha família, Elizeu e Inês (meus pais) e Marcos Paulo (irmão), por estarem sempre ao meu lado, apoiando-me em todas as decisões, por serem meu porto seguro, onde encontro paz e me revigoro, e por compreenderem minhas ausências durante esse período. Vocês são meu lar.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Ciro, pela orientação desde a graduação, pela confiança, compreensão nos momentos de cansaço e por não desistir de mim, mesmo diante das dificuldades em conciliar o mestrado com o trabalho. Obrigada!

Agradeço aos amigos do laboratório pelos momentos compartilhados — desde as dificuldades com experimentos e prazos apertados até as alegrias das conquistas e comemorações. Um agradecimento especial a Felipe e Mariana pelo apoio constante, inclusive nas madrugadas de trabalho, e à Meyre, por toda ajuda, pelas piadas sem graça, pelos equipamentos consertados. E por ser responsável pela maior ameaça que recebi no laboratório “vou abrir sua placa fora da chama”. Com vocês, meus dias foram mais leves e significativos!

Aos meus amigos, de quem eu me afastei durante esses dois anos e meio, recusei convites, ... por aceitarem continuar nossa amizade, mesmo à distância. Que sorte a minha ter o mundo virtual, assim pude encontrá-los vez em quando!

Às técnicas Rute e Márjory, pela organização do Laboratório e pelas contribuições neste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho, especialmente aos meus chefes Marianne e Vicente, por toda compreensão.

Por fim, agradeço a todos, que de maneira direta ou indiretamente se fizeram presentes durante esse período. Cada gesto e palavra foi extremamente relevante e jamais será imêmore.

Um galo sozinho não tece uma manhã:
ele precisará sempre de outros galos.
De um que apanhe esse grito que ele
e o lance a outro; de um outro galo
que apanhe o grito que um galo antes
e o lance a outro; e de outros galos
que com muitos outros galos se cruzem
os fios de sol de seus gritos de galo,
para que a manhã, desde uma teia tênue,
se vá tecendo, entre todos os galos.
João Cabral de Melo Neto

RESUMO

Caracterização Fenotípica e Molecular de Bactérias Multirresistentes Isoladas em um Hospital Universitário, Rita de Cássia Santa Rosa Matos, Lagarto-SE, 2025.

As infecções relacionadas à assistência à saúde são uma preocupação global, pois nelas estão envolvidos, principalmente, microrganismos multirresistentes e virulentos, aumentando a mortalidade, os custos hospitalares e a insegurança dos pacientes. Essas bactérias, tanto Gram-negativas, quanto as Gram-positivas, disseminam-se facilmente e podem se tornar superbactérias ao adquirirem fatores de virulência e desenvolverem mecanismos de resistência como produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), carbapenemases, e resistência à vancomicina. Assim, o presente estudo investigou o perfil de resistência a antimicrobianos e fatores de virulência em bactérias multirresistentes isoladas pelo Hospital Universitário de Lagarto (HUL), por meio de caracterização fenotípica e genética. O projeto foi aprovado pela Gerência de Ensino e Pesquisa do HUL e pelo comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe. A pesquisa foi desenvolvida entre setembro de 2023 e janeiro de 2025. Foram analisadas 50 cepas e realizados testes para detecção de resistência a antimicrobianos, detecção fenotípica de ESBL, através do teste de sinergismo de disco duplo, e detecção fenotípica de carbapenemases através do teste de inativação de carbapenêmicos modificado. Pesquisas moleculares foram realizadas para verificar a presença de genes codificadores de ESBLs e carbapenemases. Realizou-se testes para detecção de fatores de virulência (cápsula polissacarídica, fímbrias tipo 1, hipermucoviscosidade e biofilme). As espécies de *P. aeruginosa* foram submetidas a testes genéticos em busca de genes de virulência (*aprA*, *plcN*, *plcH*, *algD* e *lasB*). O microrganismo mais encontrado foi *Klebsiella pneumoniae* (52 %), seguido de *Pseudomonas aeruginosa* (14 %), *Escherichia coli* (10 %), *Enterococcus faecalis* (6 %) e outras bactérias (18 %). A principal origem dos isolamentos foi a urina (52 %). Quanto à resistência a antimicrobianos, *K. pneumoniae* apresentou 92 % de resistência a cefalosporinas de quarta geração, e 73 % aos carbapenêmicos. *P. aeruginosa* 100% aos carbapenêmicos e *E. coli* 100 % às fluoroquinolonas. *Enterococcus faecalis* e *faecium*, 100 % à vancomicina e teicoplanina simultaneamente. O gene ESBL mais prevalente foi *TEM* com 51,1 %. 22,2 % das amostras Gram-negativas abrigavam concomitantemente os genes *TEM* + *SHV* + *CTX-M-1*. O gene *bla_{KPC}* foi o mais prevalente, detectado em 40 % dos isolados, com destaque para *P. aeruginosa* (85,7 %). 35,1% das amostras Gram-negativas apresentaram genes carbapenemases e ESBLs simultaneamente. O gene *vanA* foi encontrado em 60% dos *Enterococcus*. Entre os fatores de virulência, 78% tinham cápsula polissacarídica, 66% fímbrias tipo 1, 94 % foram produtoras de biofilme e todas as estirpes de *P. aeruginosa* apresentaram os genes de virulência testados. Os resultados confirmaram a tendência no país, de aumento de detecção de bactérias Gram-negativas multirresistentes, com destaque para *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. A detecção expressiva de biofilme e outros fatores de virulência indicam um alto poder infeccioso das estirpes. Os achados servirão como base para novos estudos, e podem contribuir com a melhoria dos protocolos da instituição no combate às Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.

Descritores: Infecção Hospitalar; Resistência a Antimicrobianos; Anti-infecciosos; Fatores de Virulência.

ABSTRACT

Phenotypic and Molecular Characterization of Multidrug-Resistant Bacteria Isolated in a University Hospital, Rita de Cássia Santa Rosa Matos, Lagarto-SE, 2025.

Healthcare-associated infections are a global concern, as they often involve multidrug-resistant and virulent microorganisms, increasing mortality, hospital costs, and patient insecurity. These bacteria, both Gram-negative and Gram-positive, spread easily and can become superbugs by acquiring virulence factors and developing resistance mechanisms such as extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production, carbapenemases, and vancomycin resistance. Thus, the present study investigated the antimicrobial resistance profile and virulence factors in multidrug-resistant bacteria isolated by the University Hospital of Lagarto (HUL), through phenotypic and genetic characterization. The project was approved by the Teaching and Research Management of HUL and by the Ethics Committee of the Federal University of Sergipe. The research was conducted between September 2023 and January 2025. Fifty strains were analyzed, and tests were performed for the detection of antimicrobial resistance, phenotypic detection of ESBL through the double-disk synergy test, and phenotypic detection of carbapenemases through the modified carbapenem inactivation method. Molecular tests were carried out to verify the presence of genes encoding ESBLs and carbapenemases. Tests were also conducted to detect virulence factors (polysaccharide capsule, type 1 fimbriae, hypermucoviscosity, and biofilm). *P. aeruginosa* species were subjected to genetic testing for virulence genes (*aprA*, *plcN*, *plcH*, *algD*, and *lasB*). The most frequently found microorganism was *Klebsiella pneumoniae* (52 %), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (14 %), *Escherichia coli* (10 %), *Enterococcus faecalis* (6 %), and other bacteria (18 %). The main source of isolates was urine (52 %). Regarding antimicrobial resistance, *K. pneumoniae* showed 92% resistance to fourth-generation cephalosporins and 73 % to carbapenems. *P. aeruginosa* showed 100 % resistance to carbapenems, and *E. coli* showed 100 % resistance to fluoroquinolones. *Enterococcus faecalis* and *faecium* showed 100 % resistance to both vancomycin and teicoplanin. The most prevalent ESBL gene was *TEM*, with 51.1 %. 22.2 % of Gram-negative samples simultaneously harbored *TEM* + *SHV* + *CTX-M-1* genes. The *bla_{KPC}* gene was the most prevalent carbapenemase, detected in 40% of isolates, especially in *P. aeruginosa* (85.7 %). 35.1 % of Gram-negative samples presented both carbapenemase and ESBL genes simultaneously. The *vanA* gene was found in 60 % of *Enterococcus* isolates. Among the virulence factors, 78 % had a polysaccharide capsule, 66 % had type 1 fimbriae, 94 % were biofilm producers, and all *P. aeruginosa* strains presented the tested virulence genes. The results confirmed the national trend of increasing detection of multidrug-resistant Gram-negative bacteria, especially *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. The significant detection of biofilm and other virulence factors indicates a high infectious potential of the strains. The findings will serve as a basis for future studies and may contribute to improving the institution's protocols in combating healthcare-associated infections.

Descriptors: Cross Infection; Drug Resistance, Microbial; Anti-Infective Agents; Virulence Factors

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sequência de iniciadores específicos para cada gene codificador de ESBLs.	38
Tabela 2 - Sequência de iniciadores específicos para cada gene codificador de carbapenemases.....	39
Tabela 3 - Sequência de iniciadores específicos para detecção de genes de resistência à vancomicina.	39
Tabela 4 - Fórmula para classificação da produção do biofilme	42
Tabela 5 - Sequência de iniciadores específicos para detecção de fatores de virulência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
Tabela 6 - Percentual de isolados bacterianos de acordo com o material clínico	47
Tabela 7 - Perfil de Resistência a Antimicrobianos, dos Isolados Clínicos.....	10
Tabela 8 - Perfil genético dos isolados Gram-negativos quanto à presença de genes codificadores de β -lactamases	48
Tabela 9 - Presença de fatores de virulência	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos principais β -lactâmicos	23
Figura 2 - Estrutura química da vancomicina	27
Figura 3 - Mapa do Estado de Sergipe	33
Figura 4 - Teste fenotípico para detecção de ESBLs.....	46
Figura 5 - Resultado de teste fenotípico de detecção de carbapenemases	47
Figura 6 - Placa de 96 poços utilizada na detecção da produção de biofilme	55
Figura 7 - Teste de detecção de cápsula polissacarídica	56
Figura 8 - Teste de detecção de fímbrias tipo 1	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Microrganismos isolados no HUL	45
Gráfico 2 - Perfil fenotípico e genético de sensibilidade a antimicrobianos	52
Gráfico 3 - Classificação das cepas quanto à produção de biofilme	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS	Absorbância
<i>algD</i>	<i>GDP-mannose dehydrogenase</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<i>aprA</i>	<i>alkaline protease A</i>
BGM	Bactéria Gram Negativa
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BrCast	<i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility</i>
CPS	Cápsula polissacarídica
CTX-M	Cefotaximase de Munich
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
ESBL	β -lactamases de espectro estendido
GEP	Gerência de Ensino e Pesquisa
HMKP	<i>Klebsiella pneumoniae</i> hipermucoviscosa
HMV	Hipermucoviscosidade
HUL	Hospital Universitário de Lagarto
IRA	Infecções Relacionada à Assistência à Saúde
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase
LabMic	Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia
<i>lasB</i>	elastase B
LB	Luria Bertani
mCIM	Método de inativação de carbapenêmicos modificado
MDR	<i>Multidrug-Resistant</i>
MEG	Elementos Genéticos Móveis
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
NDM	<i>New Delhi</i> metalo- β -lactamase
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxilinase
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PDR	<i>Pan Drug-Resistant</i>

<i>plcH</i>	<i>hemolytic phospholipase C</i>
<i>plcN</i>	<i>non-hemolytic phospholipase C</i>
PNPCIRAS	Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
PPB2a	<i>Penicilin Binding Protein</i> tipo 2a
RM	Resistência Microbiana
SHV	<i>Sulfhydryl variable</i>
TAE	Tris-Acetato-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEM	Temoneira
Tm	Temperatura Média
TSSD	Teste de sinergismo de disco duplo
UFS	Universidade Federal de Sergipe
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> com Resistência Reduzida À Vancomicina
VRE	<i>Vancomycin-Resistant Enterococcus</i>
VRSA	<i>Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)	20
2.2 Resistência a Antimicrobianos.....	21
2.2.1 Resistência aos β -lactâmicos	22
2.2.1.1 β -lactamases de espectro estendido (ESBLs)	24
2.2.1.2 Carbapenemases	24
2.2.1.3 Proteína de Ligação à Penicilina (<i>PBP2a</i>).....	25
2.2.2 Resistência à vancomicina	26
2.3 Fatores de Virulência.....	28
2.3.1 Fatores de virulência em <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
3 OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Tipo de Estudo	32
4.2 Caracterização do Local de Estudo.....	32
4.3 Aspectos Éticos da Pesquisa	34
4.4 Amostra	34
4.5 Coleta e recuperação das Amostras	34
4.6 Confirmação Fenotípica da Produção de β -Lactamases de Espectro Estendido – ESBLs	35
4.7 Confirmação Fenotípica da Produção de Carbapenemases	36
4.8 Detecção molecular de β -lactamases de espectro estendido e Carbapenemases	37
4.8.1 Extração do DNA total	37
4.8.2 Amplificação do DNA.....	38
4.9 Detecção genética de resistência à vancomicina no gênero <i>Enterococcus</i>	39

4.10 Visualização dos amplicons	40
4.11 Pesquisa de fatores de virulência	40
4.11.1 Teste de hipermucoviscosidade (<i>stringtest</i>) para <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
4.11.2 Cápsula polissacarídica (CPS)	40
4.11.3 Fímbrias tipo 1	41
4.11.4 Produção de biofilme	41
4.12 Detecção molecular de fatores de virulência em <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
4.14 Análise dos resultados	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos	48
5.2 Produção de ESBLs e Carbapenemases pelos isolados Clínicos	45
5.2.1 Produção Fenotípica de β -lactamases	45
5.2 Pesquisa de Genes Codificadores de Enzimas β -lactamases nos Isolados Clínicos Gram-negativos	47
5.3 Caracterização dos microrganismos quanto à presença de fatores de virulência	54
5.3.1 Quantificação da produção de biofilme	57
5.3.2 Pesquisa de genes codificadores de fatores de virulência em estirpes de <i>P.</i> <i>aeruginosas</i>	59
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	62
ANEXO A – PARECER 1 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - UFS	88
ANEXO B – PARECER 2 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - UFS	90

1 INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um dos principais problemas de saúde no mundo inteiro. Elas geram, além da insegurança nos ambientes de saúde, elevação dos gastos e aumento da mortalidade (Facciolá, *et al.*, 2019). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA), IRAS são todas as infecções que o paciente adquire, que estejam relacionadas a qualquer procedimento de assistência à saúde ou internação (ANVISA, 2021).

Dentre os principais microrganismos bacterianos envolvidos nessas infecções, destacam-se os Gram-negativos: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, e Gram-positivos: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), Enterococos resistente à vancomicina (VRE) e *Clostridium difficile*. Estes microrganismos possuem a capacidade de fácil disseminação e podem sobreviver em superfícies por longos períodos, podendo ser de horas até meses. Isso possibilita a dispersão entre os pacientes, mesmo que não estejam internados no mesmo momento, mas utilizem um leito previamente ocupado por alguém infectado. Além disso, podem infectar pessoas da comunidade, quando recebem alta e, em caso de reinternação em outra unidade de saúde, podem espalhar a infecção para outras instituições (Drohan *et al.*, 2019; Facciolá *et al.*, 2019).

As IRAS tornam-se um problema ainda maior, pois elas podem estar ligadas a microrganismos resistentes a antimicrobianos (Drohan *et al.*, 2019). A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a resistência bacteriana a esses medicamentos, como uma preocupação global. As infecções simples tornam-se difíceis de tratar por serem causadas por estirpes multirresistentes (resistência a pelo menos um agente em três ou mais classes de antimicrobianos distintas) e até mesmo pan-resistentes (quando não são susceptíveis a nenhum tratamento disponível), exigindo o desenvolvimento de novos antimicrobianos, além de associações empíricas de medicamentos (WHO, 2021).

As bactérias Gram-negativas têm se tornado cada vez mais comuns nas infecções, sendo que, dentre elas, as que apresentam multirresistências são potencialmente mais perigosas (Lin *et al.*, 2022). *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. estão causando grandes preocupações, pois altas taxas de resistência a carbapenêmicos foram encontradas nesses microrganismos. Especialmente depois da pandemia de COVID-19, é

esperado que essas taxas tenham aumentado devido ao uso desses medicamentos em larga escala para tratar infecções associadas à internação de pacientes com COVID-19 grave (Coppola *et al.*, 2022).

Os principais medicamentos utilizados na terapia contra infecções causadas por bactérias Gram-negativas são os β -lactâmicos, os quais estão sendo usados amplamente desde o século vinte (XX). As classes de medicamentos que compõem esse grupo são as cefalosporinas, carbapenêmicos, penicilinas e monobactâmicos. O longo tempo de utilização associado ao uso irracional destes medicamentos, certamente contribuiu para seleção de linhagens multirresistentes. Grande parte dessa resistência se deve à produção de enzimas (β -lactamases) capazes de inativarem as moléculas dos fármacos (Bush; Badford, 2020). Nas últimas décadas, tem-se observado um aumento global de cepas resistentes a mais de uma classe dessas drogas, as chamadas Bactérias Produtoras de β -lactamases de Espectro Estendido (ESBLs), visto primeiro em *Klebsiella pneumoniae* e depois em outros microrganismos (Roschetto *et al.*, 2021).

As ESBLs mais prevalentes são as mediadas por plasmídeos, sendo a do tipo CTX-M, a enzima mais detectada (Liu *et al.*, 2023; Peirano; Pitout, 2019). Elas conferem às bactérias, resistência a quase todos os β -lactâmicos, mas não aos carbapenêmicos. Porém, o uso desta última classe de medicamentos em pacientes, especialmente aqueles internados em unidades de terapia intensiva (UTI), com uso de ventilação mecânica, aumentou a pressão seletiva e já foram isoladas estirpes resistentes a carbapenêmicos e produtoras de carbapenemases (Roschetto *et al.*, 2021; Bush; Badford, 2020). As carbapenemases são subdivididas em classes moleculares de Ambler, classe A com KPC (*Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase), sendo a principal representante, Classe B, NDM (*New Delhi* metalo- β -lactamase), e classe D, OXA-48 (oxilina) (Boonyasiri *et al.*, 2021).

Embora geograficamente a distribuição mundial desses perfis seja diferente, eles possuem a capacidade de disseminação global de maneira rápida (Bush; Badford, 2020). Essa disseminação pode ser impulsionada pelo uso de antibióticos, número alto de internações em hospitais devido à recente pandemia de COVID-19, transferência de pacientes entre hospitais (Thomas *et al.*, 2022; Tryfinopoulou *et al.*, 2023), aumento de ligações comerciais entre diferentes países, viagens, uso de antimicrobianos em alimentos levando esses a abrigarem microrganismos resistentes, entre outros. Esses microrganismos podem transferir horizontalmente, material

genético entre outras bactérias da mesma espécie ou de espécies diferentes, através de elementos genéticos móveis facilitando a disseminação (Harding-Crooks *et al*, 2023).

Apesar da resistência aos β -lactâmicos ser mais comum em Gram-negativas, pela produção de β -lactamases, em Gram-positivas, podem acontecer outros mecanismos, como no caso dos *S. aureus*, com a produção de PPB2a' (*Penicilin Binding Protein* tipo 2a), que resulta na expressão do gene *mecA*, conferindo ao microrganismo resistência à meticilina, cloxacilina e oxacilina (MRSA) (Bush; Badford, 2020; Roschetto *et al.*, 2021; Alfouzan *et al.*, 2019).

Como estratégia para tratar infecções causadas por bactérias Gram-positivas resistentes à oxacilina, adotou-se o uso da vancomicina, um glicopeptídeo que age na parede celular dos Gram-positivos. Porém seu uso levou à seleção de estirpes não susceptíveis a esse fármaco, como os VRSA (*Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus*) e os VRE (*Vancomycin-Resistant Enterococcus*). De modo geral, a resistência a este fármaco pode ser classificada em seis grupos *vanA*, B, C, D, E, G, porém, os *vanA* e B são os mais relevantes, pois também podem transportar resistência a outros fármacos (Li; Walker; De Oliveira, 2023; Mühlberg, 2020).

Diante da preocupação global, como destaca a OMS, com essa disseminação de estirpes cada vez mais resistentes aos tratamentos disponíveis, além da oneração dos serviços de saúde e a insegurança dos pacientes, torna-se cada vez mais necessário detectar esses microrganismos e tornar mais eficientes os protocolos de controle das infecções relacionadas à assistência à saúde (WHO, 2021). Assim, o presente trabalho realizou testes fenotípicos e genéticos a fim de caracterizar essas cepas multirresistentes, quanto aos genes envolvidos e seu potencial de virulência em culturas isoladas no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário de Lagarto (HUL). O referido hospital está ligado à Universidade Federal de Sergipe, localizado no interior do estado, servindo como hospital escola para os estudantes dessa instituição. Hospitais são instituições de saúde que prestam assistência especializada a pacientes de forma contínua, podendo ser classificados de acordo com tamanho, especialidade, entre outros. Dentre eles, os hospitais de ensino ou universitários se destacam por estarem ligados a universidades sendo responsáveis pela formação de profissionais de saúde e serem centros de excelência clínica pela prática baseada em evidências, além do desenvolvimento, estudos, pesquisas e ensaios clínicos (Sebire *et al*, 2025; Teixeira *et al*, 2023).

Conhecer o perfil genético e os fatores de virulência, além da resistência aos antimicrobianos dentro dos hospitais possibilita ao profissional saber os mecanismos de defesa e a capacidade invasora do microrganismo. Essas informações auxiliam os profissionais de saúde na escolha da terapia mais adequada, e na implementação de medidas de prevenção e controle de IRAS. Estudos que apresentam esses tipos de dados são de grande relevância, pois contribuem não somente com o conhecimento acerca das bactérias circulantes no ambiente, como também com o controle delas, melhorando o uso de agentes anti-infecciosos e, por conseguinte, diminuindo a ocorrência e/ou melhorando o prognóstico de infecções, desonerando os serviços de saúde.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)

As infecções associadas aos cuidados de saúde (IRAS) são adquiridas em ambientes de saúde e não estavam presentes no momento da admissão, mas se desenvolvem dentro de 48 a 72 horas depois do paciente ser assistido ou em, até dez dias depois de receber alta (Hanna *et al.*, 2023; Tosun *et al.*, 2023). Elas representam um dos mais relevantes problemas de saúde pública do mundo (Facciolá, 2019). Seus sintomas podem acontecer, inclusive, depois da alta hospitalar, como observado em 60% de infecções de sítio cirúrgico, o que está associado ao aumento da mortalidade, nesses casos (Garvey, 2023).

Estima-se que, nos Estados Unidos, 1,7 milhão de pacientes internados adquiram pelo menos uma IRA anualmente. Já na Europa, a prevalência é de 7,1%, com cerca de 4 milhões de casos a cada ano. Elas aumentam o tempo de internação dos pacientes, a mortalidade e os encargos financeiros tanto para os pacientes quanto para os Serviços de Saúde (Drohan, 2019; WHO, 2019). No Brasil, um estudo realizado nas cinco regiões do país, apontou um percentual de 26,4% de IRAS, suspeitas ou confirmadas. Na região Nordeste, as taxas de IRAS foram de 19,2% e 12,5% para UTIs cirúrgica e UTIs coronarianas, respectivamente (Machado *et al.*, 2025). Em 2015 a estimativa do custo médio diário de um paciente que adquiriu IRA no Brasil foi 55% superior ao do paciente que não a adquiriu (Kiffer *et al.*, 2015).

As IRAS estão ligadas, principalmente, à resistência a antimicrobianos, desenvolvida por bactérias patogênicas (Drohan, 2019). No entanto, incluem também variáveis relacionadas ao paciente como o estado de saúde e gravidade da doença; cuidados ao paciente, como o uso de antimicrobianos, procedimentos invasivos e de dispositivos médicos por tempo prolongado; influências institucionais como proporção profissional-paciente e técnicas assépticas usadas pelos prestadores de saúde (Hanna *et al.*, 2023).

No Brasil, em 2013, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a primeira versão do Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS). O programa visa reduzir, em âmbito nacional, a incidência de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde e de Resistência Microbiana (RM) em serviços de saúde, por meio da implementação

de práticas de prevenção e controle de infecções baseadas em evidências. Desde então, o programa vem sendo avaliado e novas versões com novas metas vêm sendo lançadas. A última versão, data de 2021 com vigência até 2025, a qual busca, além do objetivo principal, que é reduzir as IRAS e RM, preencher lacunas que possam existir e fortalecer nacional e localmente o programa (Brasil, 2021).

2.2 Resistência a Antimicrobianos

O uso inadequado ou excessivo de antibióticos na medicina humana, veterinária e na produção de alimentos, tem favorecido a disseminação de bactérias resistentes a múltiplas classes de medicamentos ao mesmo tempo (Roschetto *et al.*, 2021).

As bactérias utilizam vários mecanismos de resistência, alguns são “intrínsecos”, através dos quais a célula pode utilizar genes que já possui para sobreviver à exposição aos antibióticos, e alguns são “adquiridos”, através dos quais o ganho de novo material genético proporciona novas capacidades que medeiam a sobrevivência (Darby *et al.*, 2022). Os mais comumente envolvidos na resistência aos antibióticos são a modificação da molécula do antibiótico, diminuição da penetração e efluxo da droga, alterações no local alvo do antibiótico e adaptação celular global (Bassetti *et al.*, 2020).

Os microrganismos podem adquirir resistência primariamente, tendo contato ou não com o medicamento, através da mutação genética codificada no cromossomo e pode ser transferida a outras bactérias da mesma espécie ou de espécies diferentes. Essa alteração da susceptibilidade pode ocorrer também, de maneira secundária, em contato com o antimicrobiano, seu mecanismo é extracromossômico, e os genes que conferem resistência ficam localizados em pequenas moléculas circulares de DNA (plasmídeos) no citoplasma. Os genes podem ser transferidos para outras bactérias através da transferência vertical (para as novas células filhas) ou horizontal, que pode ser para microrganismos da mesma espécie, ou de espécies diferentes, através da transferência de elementos genéticos móveis (MEGs) (Urban-Chmiel *et al.*, 2022; Meng *et al.*, 2022).

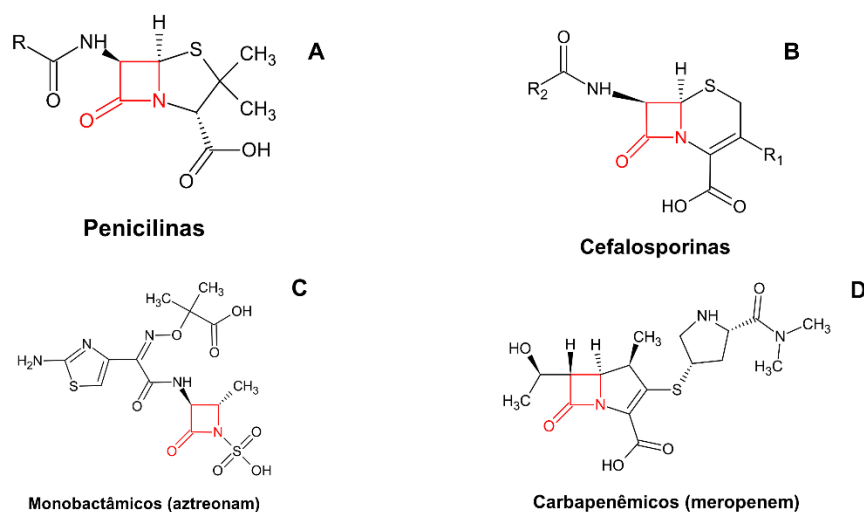
Essa transferência de genes pode acontecer através de três mecanismos, conjugação, quando uma célula recebe o gene de outra, através do contato físico; transdução, quando o material genético é recebido da célula doadora através de um

bacteriófago e transformação, que é a recombinação genética através de captação de fragmentos livres de DNA de bactérias mortas que são incorporados ao da célula receptora (Christaki *et al.*, 2020).

A resistência adquirida por transferência horizontal de MEGs tem sido uma grande preocupação, principalmente a mediada por plasmídeos devido à sua capacidade de adquirir prontamente genes exógenos e depois transferi-los para uma ampla gama de hospedeiros através das fronteiras ecológicas, ligando assim diretamente conjuntos de genes de diferentes membros nas comunidades microbianas (Urban-Chmiel *et al.*, 2022; Li, Zang, 2023). Os plasmídeos desempenham um papel fundamental na evolução e disseminação dos mecanismos de resistência a antimicrobianos (Liu *et al.*, 2024) pois além da capacidade de disseminação, podem carregar em sua estrutura uma grande variedade de genes de resistência a esses fármacos (Meng *et al.*, 2022).

2.2.1 Resistência aos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos são um grupo de moléculas com ação antimicrobiana, produzidos naturalmente por diferentes organismos (fungos pertencentes aos gêneros *Penicillium* e *Cephalosporium* para penicilinas e cefalosporinas, respectivamente, e bactérias pertencentes a diferentes espécies (para monobactâmicos e carbapenêmicos). Possuem, em sua estrutura química, um anel β -lactâmico e estão divididos em quatro classes químicas principais, penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos (Figura 1). São muito utilizados na prática clínica e estima-se que quase dois terços das prescrições em ambiente hospitalar incluem esses agentes antimicrobianos (Bush; Bradford, 2020; Lima *et al.*, 2020; De Rosa *et al.*, 2021).

Figura 1 - Estrutura química dos principais β -lactâmicos

Em vermelho estão destacados os anéis β -lactâmicos de cada estrutura
 Fonte: autoria própria. Chemskech 2024.

Esses fármacos servem como substratos substitutos para proteínas de síntese da parede celular bacteriana, conhecidas como proteínas de ligação à penicilina (PBPs), que são responsáveis pela ligação cruzada de fragmentos da parede celular antes que a divisão celular aconteça. Apesar dessas PBPs serem estruturalmente diferentes entre as espécies bacterianas, o mecanismo é idêntico, permitindo a ação do fármaco (Bush; Bradford, 2020).

Grande parte da resistência aos β -lactâmicos se deve às enzimas que inativam essas moléculas, as β -lactamases, que catalisam sua hidrólise (Bush; Bradford, 2020; Yang *et al.*, 2023). Essas enzimas são classificadas como, β -lactamases de espectro estreito, β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) e Carbapenemases. As ESBLs conferem resistência à maioria dos antibióticos β -lactâmicos, incluindo penicilina, cefalosporinas de terceira geração, monobactam e aztreonam, mas não aos carbapenêmicos, e podem ser inibidas pelo ácido clavulânico (Sinyawa *et al.*, 2024; Roscetto *et al.*, 2021). Já as carbapenemases são capazes de hidrolisar os carbapenêmicos, além dos demais β -lactâmicos (Boonyasiri *et al.*, 2021).

De acordo com a classificação proposta por Ambler, há mais de 1.800 variantes de β -lactamases descritas. Elas são classificadas em quatro grupos, separados a partir de sua sequência proteica: A (serina penicilinases), B (metalo- β -lactamases), C (cefalosporinases) e D (oxilinas), que conferem resistência à penicilina, à maioria

dos β -lactâmicos, cefalosporinas e à cloxacilina, respectivamente (Hussain *et al.*, 2021).

2.2.1.1 β -lactamases de espectro estendido (ESBLs)

As β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) têm grande significado clínico, pois ameaçam tanto a terapêutica antimicrobiana quanto o controle de infecções em humanos e animais. Normalmente, elas derivam das β -lactamases de espectro estreito, TEM-1, TEM-2 e SHV-1, que geralmente dão origem a ESBLs através de mutações pontuais. Os microrganismos que carregam esses genes tornam-se ainda mais preocupantes pois além da resistência aos β -lactâmicos, carregam outros determinantes de resistência, tornando-os multirresistentes. Isso acontece porque os genes ESBLs são frequentemente transportados por plasmídeos, e esses plasmídeos geralmente carregam genes que codificam resistência a outras classes de medicamentos e têm uma alta taxa de disseminação (Sinyawa *et al.*, 2024; Brolund *et al.*, 2019).

As ESBLs fazem parte da classe A de Ambler, as serino β -lactamases, que degradam os β -lactâmicos, mas são inibidos pelos inibidores de β -lactamases. São enzimas de natureza diversa e podem ser agrupadas em várias famílias. As famílias, apesar de possuírem características bioquímicas comuns como a capacidade de hidrólise de β -lactâmicos, existem características que são exclusivas de cada uma, e as proteínas são agrupadas a partir dessas semelhanças (Castanheira; Simner; Bradford, 2021).

Os tipos de ESBLs mais prevalentes mundialmente no passado eram TEM e SHV, no entanto, o CTX-M tornou-se mais dominante, o grupo recebeu esse nome devido à ação hidroeletrolítica preferencialmente contra a cefoxatima (Sinyawa *et al.*, 2024; Worku *et al.*, 2024). Especialmente a variante CTX-M-15 tem sido a mais prevalente mundialmente, seguido pela CTX-M-14 e a CTX-M-27 já está surgindo em algumas partes do mundo (Castanheira; Simner; Bradford, 2021; Ventura *et al.*, 2024).

2.2.1.2 Carbapenemases

Os carbapenêmicos são considerados a classe de antibióticos de escolha para os microrganismos que apresentam resistência aos β -lactâmicos. No entanto, nas

últimas décadas surgiram e disseminaram-se patógenos resistentes a essa classe de medicamentos, os produtores de carbapenemases. Essas enzimas pertencem ao grupo das β -lactamases que têm um espectro maior, capazes de hidrolisar os carbapenêmicos, além de outros fármacos β -lactâmicos, com poucas exceções (Hammoudi; Halat; Moubareck, 2020).

As carbapenemases são subdivididas entre as classes A, B e D de Ambler (Boonyasiri *et al.*, 2021). A disseminação e aquisição dos genes estão frequentemente ligadas a plasmídeos e outros MEGs (Baleivanualala *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2021). O gene *bla_{KPC}* é o principal representante da classe A e geralmente é transportado pelo transposon *Tn 4401* nos países ocidentais. No grupo B, os mais prevalentes são *bla_{NDM}* e *bla_{IMP}* e são mobilizadas dentro da sequência de inserção IS Aba125 e IS Aba26. Na classe D, o *bla_{OXA-48}* é o que tem maior prevalência, deriva do cromossomo de *Shewanella* spp. e pode transpor para plasmídeos através de *Tn 1999* ou *Tn 2013* (Zhu *et al.*, 2021; Boonyasiri *et al.*, 2021; Strydom *et al.*, 2020).

No Brasil, um estudo publicado em 2023 analisou as taxas de detecção de carbapenemases e o impacto da pandemia de COVID-19 no banco de dados de saúde pública, de 2015 a 2022. O trabalho destacou o aumento nas taxas de detecção do gene *bla_{NDM}* em todas as espécies testadas. O Complexo *Acinetobacter baumannii* apresentou aumento também nas taxas de *bla_{OXA23}*, já *P. aeruginosa*, além do *bla_{NDM}*, teve ampliação na detecção de *bla_{KPC}* (Kiffer *et al.*, 2023).

2.2.1.3 Proteína de Ligação à Penicilina (*PBP2a*)

A meticilina, assim como a oxacilina, são fármacos da classe das penicilinas utilizados para tratar infecções causadas por bactérias produtoras de penicilinases (especialmente o *S. aureus*), devido à sua resistência a essas enzimas bacterianas. Dois anos depois da introdução desses fármacos em 1960, foram identificados os primeiros isolados de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). Acredita-se que antes da introdução dessas drogas, a resistência já existia, porém com o seu uso, as cepas resistentes foram selecionadas e disseminaram-se, inicialmente nos hospitais e depois na comunidade (Giulieri; Tong; Williamson, 2020).

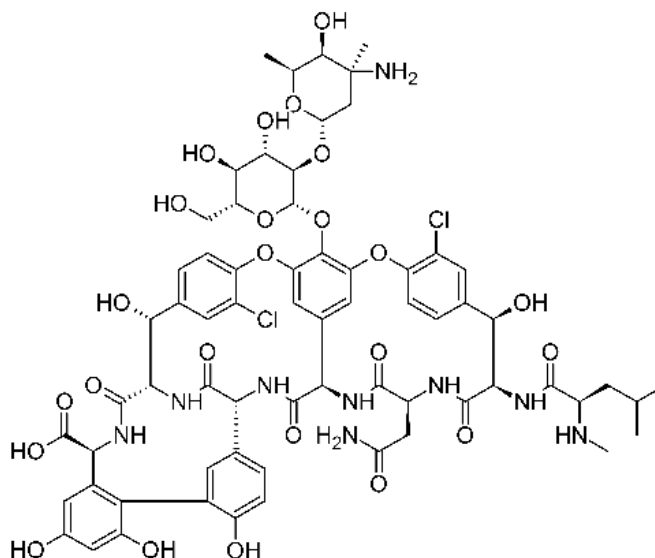
A resistência à meticilina se dá pela expressão de uma proteína de ligação à penicilina, a *PBP2a*, que é codificada pelo gene *mecA*. Essa proteína tem baixa afinidade a praticamente todos os β -lactâmicos e permite que as cepas de *MRSA*

sobrevivam em diferentes concentrações desse antimicrobiano (Giulieri; Tong; Williamson, 2020; Patil *et al.*, 2022; Ghia; Waghela; Rambhad, 2020). Esse gene é transportado por um MEG estruturalmente complexo, chamado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*SCCmec*), que também pode transportar outros determinantes de resistência, virulência e outros genes de importância para sobrevivência do microrganismo em condições de estresse. Dessa forma, a aquisição de genética do *SCCmec*, pode tornar os estafilococos multirresistentes e mais virulentos (Rolo *et al.*, 2017; Jaber *et al.*, 2024).

As infecções causadas por *MRSA* podem ser de muitos tipos, envolvendo tecidos moles, ossos, corrente sanguínea, pele, trato urinário, respiratório, feridas cirúrgicas, infecções associadas a dispositivos como catéteres, próteses, entre outros (Mehta *et al.*, 2020; Alsolami *et al.*, 2023). Os *S. aureus* podem ser transmitidos de paciente para paciente, através do profissional de saúde, procedimentos invasivos, contato direto com secreções contaminadas e objetos inanimados de quarto anteriormente ocupado por paciente contaminado (Jaber *et al.*, 2024; Mehta *et al.*, 2020).

2.2.2 Resistência à vancomicina

A vancomicina (Figura 2) é um antimicrobiano da classe dos glicopeptídeos, usada para tratar infecções causadas por bactérias Gram-positivas, especialmente o *S. aureus* resistente à metilicina (Mühlberg *et al.*, 2020). Sua ação bactericida se dá pela interação do fármaco com o precursor D-ala-D-ala (D-alanil-D-alanina), através de ligações de hidrogênio. O complexo formado impede a ação das enzimas transglicosilase e transpeptidase, evitando a formação da parede celular (Li; De Oliveira, 2022).

Figura 2 - Estrutura química da vancomicina

Fonte: autoria própria. Chems sketch 2024.

O uso generalizado da vancomicina resultou previsivelmente no rápido surgimento e disseminação da resistência à substância entre várias bactérias Gram-positivas, como por exemplo, os gêneros *Staphylococcus* e *Enterococcus* (Li; De Oliveira, 2022). Em 1997, foi detectada a primeira cepa de *S. aureus* com resistência reduzida à vancomicina (VISA), e em 2002 o primeiro caso *S. aureus* com resistência completa (VRSA), em um paciente diabético, nos Estados Unidos (Shariati *et al.*, 2020). Já para o *Enterococcus*, foram registrados em 1986 os primeiros isolados de cepas resistentes à vancomicina (VRE), em algumas espécies, como *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* (Stogios; Savchenko, 2020). Começou de maneira inofensiva e depois espalhou-se rapidamente, chegando a uma taxa de 22% dos isolados do gênero, em UTIs (Mühlberg *et al.*, 2020).

A resistência à vancomicina é codificada pelos genes *vanA*, *B*, *C*, *D*, *E* e *G* e tem duas vias principais, de modificação da cadeia de peptideoglicano. A primeira via, considerada resistência de alto nível, compreende os grupos *A*, *B* e *D*, que substituem a D-alanina no precursor D-ala-D-ala, por D-Lactato (D-alanil-D-lactato) na parede celular, diminuindo a interação com o fármaco em 1.000 vezes, devido à perda de uma ligação de hidrogênio. Já os grupos *C*, *E* e *G*, substituem a D-alanina por D-Serina (D-alanil-D-serina) e é considerada de baixo nível. O gene mais prevalente é o *vanA*, seguido pelo *vanB*, e sua transmissão está associada aos MEGs, o que aumenta o

espectro da disseminação através da transferência horizontal de genes (Mühlberg *et al.*, 2020; Li; De Oliveira, 2022; Stogios; Savchenko, 2020).

2.3 Fatores de Virulência

Além dos genes codificadores de resistência a antimicrobianos, características outras conferem aos microrganismos uma resistência maior dentro ou fora do hospedeiro, como a capacidade de formação de biofilme, presença de cápsula polissacarídea (CPS), adesinas, hipermucoviscosidade, entre outras (Thomas; Thomas, 2021; Cangui-Panchi *et al.*, 2022; Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2023).

O biofilme é considerado um problema importante quando se trata de infecções bacterianas, pois afeta mais de 80% das infecções em humanos. As bactérias capazes de formar biofilme organizam-se em um ambiente revestidos por uma matriz extracelular e podem aderir-se a superfícies diversas. Dentro desta estrutura, ocorrem trocas de material genético, minimizam a ação do sistema imunológico do hospedeiro e aumento da resistência a agentes químicos, tornam-se cerca de 100 a 1000 vezes mais tolerantes (Thomas; Thomas, 2021; Cangui-Panchi *et al.*, 2022).

A Cápsula polissacarídica (CPS) é uma camada mais externa de uma célula bacteriana que interage com o hospedeiro. As CPS têm caráter ácido e protege o microrganismo das respostas imunológicas do hospedeiro, como fagocitose, morte oxidativa, entre outros. A *K. pneumonie*, por exemplo, escapa do sistema imunológico, imitando os glicanos do hospedeiro, através dos antígenos presentes na cápsula (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2023). Ela induz uma resposta imunológica defeituosa, como por exemplo, a maturação de células dendríticas e produção de citocinas pró-Th1, que impedem a ligação e internalização bacteriana (Dai; Hu, 2022).

Fímbrias são estruturas filamentosas que podem mediar a adesão (por isso chamadas de adesinas) de bactérias aos receptores hospedeiros (Bessaiah *et al.*, 2019). Por exemplo, nas infecções urinárias causadas por *E. coli*, as fímbrias tipo 1 são importantes para a patogênese do microrganismo, pois através delas o patógeno liga-se ao urotélio humano e a cateteres urinários para iniciar o processo de colonização, além de contribuir para a formação de reservatórios intracelulares que podem ajudar em processos infecciosos recorrentes (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2023; Bessaiah *et al.*, 2019).

A Hipermucoviscosidade muito observada em cepas de *K. pneumoniae*, denominadas hipermucoviscosas (HMV) são frequentemente usadas como sinônimo para hipervirulentas, porém nem todas as cepas hipervirulentas apresentam o fenótipo de HMV, e nem as hipermucoviscosas levam a uma síndrome invasiva (Choby; Howard-Anderson; Weiss, 2021). Por outro lado, a perda do fenótipo HMV diminui a virulência da cepa. *K. pneumoniae* hipermucoviscosa (HMKP) está associada a várias infecções invasivas como pneumonias e abscessos hepáticos, por exemplo. O fenótipo pode ser visualizado pela produção em grande quantidade, de cápsula hipermucoviscosa, observadas no cultivo em placas com ágar, através do teste de *string*, quando um cordão com mais de 5 mm é formado ao esticar uma colônia isolada. Elas contribuem para diminuição da adesão às células do hospedeiro e fuga da fagocitose pelas células fagocíticas (Mike *et al*, 2021; Hyun; Lee; Kim, 2024; Guo *et al*, 2024)

2.3.1 Fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é um microrganismo Gram-negativo, oportunista que está relacionado a muitas infecções no ambiente hospitalar, inclusive sendo o terceiro patógeno mais isolado em UTIs brasileiras em 2021 (Rodrigues *et al.*, 2024). Na lista dos patógenos prioritários da OMS divulgada em 2024, ela aparece na lista de alta prioridade, foi reclassificada, saindo da lista de prioridade crítica, devido ao surgimento de outros microrganismos mais críticos, mas continua sendo de grande importância clínica pelas altas taxas de resistência intrínseca que apresentam bem como adquirir novas durante tratamentos com antibióticos (WHO, 2024; Eladawy, Thomas, Hoyles, 2023).

O gene *lasB* codifica uma elastase, o *aprA*, uma protease alcalina, ambas proteases extracelulares, que estão associadas à invasão mais agressiva nas infecções agudas. O primeiro codifica a protease mais abundante do ambiente extracelular, o segundo codifica a aeruginolisina, responsável por interferir nos componentes do endotélio, degradar citocinas, proteínas do complemento e fugir da fagocitose, além de estar associada a outros fatores de virulência, como a piocianina (Tuon *et al.*, 2025). O gene *plcH*, codificador da fosfolipase C hemolítica, está relacionado a danos a órgãos e morte celular; *algD* contribui para o amadurecimento do biofilme além de romper as estruturas dos eritrócitos (Ali *et al.*, 2025) e *plcN*,

produtor da fosfolipase C não hemolítica e pode atuar juntamente com o *plcH*, como por exemplo, promovendo hidrólise da fosfatidilserina nas membranas dos eritrócitos pulmonares (Ghanem *et al.*, 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar o perfil de resistência antimicrobiana e fatores de virulência em bactérias multirresistentes isoladas pelo Hospital Universitário de Lagarto (HUL), por meio de caracterização genética e fenotípica.

3.2 Objetivos Específicos

- Classificar as bactérias isoladas quanto à sua resistência aos antimicrobianos;
- Identificar, através de testes fenotípicos, a presença de enzimas β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases, em bactérias Gram-negativas;
- Detectar genes de enzimas β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases em isolados de bactérias Gram-negativas;
- Detectar genes de resistência à vancomicina em bactérias Gram-positivas;
- Caracterizar isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* quanto à presença do fenótipo da hiper mucoviscosidade;
- Classificar as bactérias Gram-negativas quanto à presença de fímbrias tipo 1;
- Detectar a presença de cápsula polissacarídica nos isolados bacterianos;
- Caracterizar as bactérias quanto à capacidade de produção de biofilme;
- Detectar genes relacionados a fatores de virulência (*aprA*, *plcN*, *plcH*, *algD* e *lasB*) em cepas de *P. aeruginosa*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

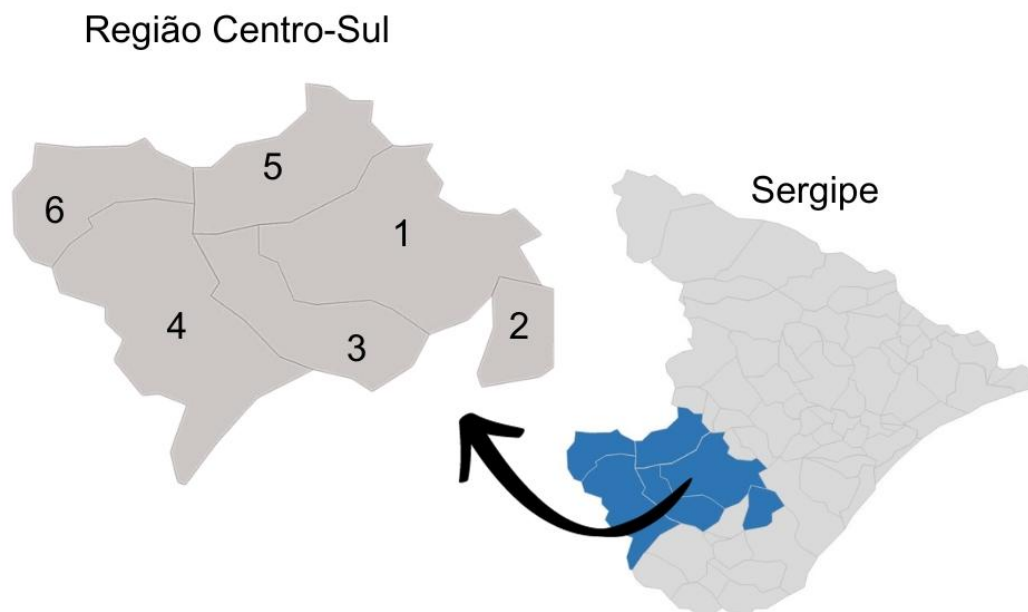
4.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo observacional transversal, de natureza quali-quantitativa, o qual propôs-se a analisar cepas de bactérias multirresistentes isoladas no laboratório do Hospital Universitário de Lagarto, quanto à presença de enzimas carbapenemases e β -lactamases de espectro estendido em bactérias Gram-negativas, e genes de resistência à vancomicina em Gram-positivas. Além disso foi avaliada a presença de fatores de virulência em todos os microrganismos.

4.2 Caracterização do Local de Estudo

O Hospital Universitário de Lagarto (HUL-UFS) está inserido no processo de expansão e interiorização da Universidade Federal de Sergipe (UFS) para atender as necessidades de saúde da população de Lagarto e região e, para funcionar como espaço de formação, ensino e pesquisa. Nesse aspecto, está incorporado à universidade para atender as demandas de formação dos alunos do Campus Universitário de Lagarto, que conta com os cursos de Medicina, Odontologia, Enfermagem, Fisioterapia, Farmácia, Fonoaudiologia, Nutrição e Terapia Ocupacional (Brasil, 2022; Brasil, 2020).

Administrado pela Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), o HUL-UFS oferta serviços assistenciais de forma integral, exclusivamente pelo SUS. Atende ao conjunto populacional da região Centro-Sul do Estado de Sergipe (Figura 3), incluindo seis municípios que compõem a Região de Saúde de Lagarto (Lagarto, Simão Dias, Salgado, Riachão do Dantas, Poço Verde e Tobias Barreto), com uma população estimada em cerca de 263.601 habitantes, de acordo com a última estimativa de julho de 2024 – além de cidades de outras regionais e da Bahia que fazem divisa com Sergipe como Paripiranga, Adustina, Fátima e Nova Soure (Brasil 2022; Brasil, 2023; IBGE, 2024).

Figura 3 - Mapa do Estado de Sergipe

Destacado em azul, tem-se a Região Centro-Sul do estado de Sergipe, (1) representa o município de Lagarto, (2) o município de Salgado, (3) o município de Riachão do Dantas, (4) o município de Tobias Barreto, (5) o município de Simão Dias e (6) o município de Poço Verde.

Fonte: do autor, adaptado de IBGE, 2022.

O HUL é um hospital geral (atende várias especialidades), de médio porte (possui entre 51 e 150 leitos de internamento), de acordo com a classificação dos Hospitais do SUS (Brasil, 2023; Negri Filho; Barbosa, 2014). Os leitos de internamento distribuem-se em setores chamados de alas, as quais são: Ala azul (destinada a consultas de baixa e média complexidade, atendimento de acordo com a ordem de chegada), Clínica médica (Local para internamento de pacientes estabilizados, mas que precisam de cuidados “como um todo”), Eixo crítico – que é dividido entre alas vermelha (local destinado à assistência rápida e imediata às emergências); e amarela (área destinada ao atendimento e assistência a pacientes críticos e semicríticos estabilizados) (Berg, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015)-, ala pediátrica (destinado ao atendimento pediátrico, de 0 anos a 15 anos) (Brasil, 2015), clínica cirúrgica (setor para recuperação pós-cirúrgica) e Unidade de Terapia Intensiva adulto II (área destinada a receber pacientes graves com idade igual ou superior a 18 anos, que requerem atenção profissional especializada de forma contínua, materiais específicos e tecnologias necessárias ao diagnóstico, monitorização e terapia, além de serem

pacientes que necessitam de uso de drogas vasoativas em infusão contínua e assistência respiratória (Brasil, 2010; CFM, 2019).

4.3 Aspectos Éticos da Pesquisa

O presente projeto foi aprovado pela Gerência de Ensino e Pesquisa (GEP) do Hospital Universitário de Lagarto, e pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe CAAE 80237723.7.0000.0217 (Anexo A) e CAAE 04919318.7.0000.5546 (Anexo B). Somente se iniciaram os procedimentos de pesquisa, após sua aprovação no âmbito do Sistema CEP/CONEP, bem como observando rigorosamente as diretrizes estabelecidas pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e pelas demais normas aplicáveis.

4.4 Amostra

A amostra foi constituída por culturas de bactérias Gram-positivas e negativas, multirresistentes, ou seja, que apresentaram resistência a pelo menos um agente em três ou mais classes de antimicrobianos distintas (WHO, 2021), isoladas pelo laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Lagarto. Os microrganismos foram oriundos de infecções em pacientes admitidos no referido Hospital (sem distinção de idade) e independente do sítio de infecção.

4.5 Coleta e recuperação das Amostras

As amostras foram coletadas entre os meses de setembro de 2023 a janeiro de 2025, no Laboratório de Análises Clínicas do HUL, identificadas e com o perfil de resistência a antimicrobianos já determinado, ambos realizados por meio do sistema de identificação automatizado VITEK® 2 (BioMérieux Brasil). Elas foram transportadas em caixas térmicas, sob refrigeração, para o Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia (LaBMic) da Universidade Federal de Sergipe, campus Lagarto, onde foram realizadas as demais análises.

Para a identificação das amostras foi utilizado um código alfanumérico contendo 4 dígitos (uma letra e três números), sem nenhuma referência aos pacientes de onde foi coletado o material. Esses microrganismos, ao chegarem no Laboratório de Microbiologia, foram transferidos para o meio de cultura específico para sua espécie a fim de retirar qualquer contaminação que tenha ocorrido durante a análise e/ou transporte das cepas. As placas foram incubadas em estufa microbiológica (*Incubator, SPX-350B*) a 37 °C por 24h.

Decorrido esse período, elas foram inoculadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) (HIMEDIA®) sob agitação de 200 rpm em incubadora microbiológica com agitação, a 37 °C até atingir absorvância a λ 600 nm de 0,6 aferida em espectrofotômetro (Edutec, EEQ-9023, Brasil). Dessas culturas, foram preparados os estoques congelados dos microrganismos em micro tubos de polipropileno de 1,5 mL, com 750 μ L de glicerol previamente esterilizado e 250 μ L da suspensão bacteriana, em duplicata e acondicionados em *ultrafreezer* (ThermoScientific®, 8922, Estados Unidos) à temperatura de -80 °C, para posteriores análises.

4.6 Confirmação Fenotípica da Produção de β -Lactamases de Espectro Estendido – ESBLs

Para a confirmação fenotípica das β -lactamases de espectro estendido utilizou-se a metodologia de sinergismo de disco duplo (TSSD), descrita no BrCast (*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility*, 2023), com algumas modificações. Inicialmente foi feito um semeio a partir do estoque congelado em uma placa de Petri contendo meio de ágar Luria Bertani (Kasvi®). As placas foram incubadas em estufa microbiológica (*Incubator, SPX-350B*) a temperatura de 37 °C por 24h. Decorrido este período, foram preparados inóculos em caldo BHI, e os cultivos incubados em estufa microbiológica a 37 °C, por aproximadamente 4h. Em seguida, ajustou-se a absorvância a λ 600 nm (nanômetros) a 0,1 em espectrofotômetro (Edutec, EEQ-9023, Brasil), o que é equivalente à turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland ($1,2 \times 10^8$ UFC/mL – Unidades formadoras de colônia por mililitro). Esta suspensão foi semeada com *swab* (estéril) em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (MH) previamente preparado e esterilizado (BrCast, 2023).

Posteriormente, foi adicionado ao centro da placa inoculada, um disco contendo amoxicilina com ácido clavulânico, e ao redor dele, com uma distância de

aproximadamente 20 mm, discos de cefalosporinas (cefotaxima (CTX), cefepima (CFM) e ceftazidima (CAZ)) (Sensidisc®, Brasil). Então, a placa foi incubada em estufa microbiológica a 37 °C por 24h. Foi considerado resultado positivo, quando houve aumento do halo de inibição em direção ao disco do centro, que contém inibidor de β -lactamase (Figura 4) (BrCast, 2023).

4.7 Confirmação Fenotípica da Produção de Carbapenemases

Para detecção de microrganismos produtores de carbapenemases foi utilizado o teste de inativação de carbapenêmicos modificado (mCIM) (Brasil, 2020), com algumas adaptações. Esse teste consistiu em inocular uma colônia de bactérias, crescidas em ágar LB, em 4 mL de caldo LB (Kasvi®) e colocou-se em estufa microbiológica por 4h. Após esse período, ajustou-se a absorbância de 1 a λ 600 nm em espectrofotômetro. Em um tubo com 2 mL dessa suspensão ajustada, foi acrescentado um disco de meropenem de 10 μ g (Sensidisc®, Brasil), de forma que ficasse totalmente imerso. O tubo foi incubado a 35($\pm$ 2) °C durante 2 ($\pm$ 15 min) h sem agitação. Decorrido esse tempo, retirou-se o disco de meropenem do tubo e o colocou em uma placa contendo *E. coli* (PROEX 408), susceptível a carbapenêmicos, previamente testada, semeada de acordo com a técnica de disco-difusão (Brasil 2020; Seyedi *et al*, 2022).

A placa foi incubada por 24 horas em estufa bacteriológica, a temperatura de 35($\pm$ 2) °C. Após esse tempo, o halo formado ao redor do disco foi medido e interpretado, de acordo com os valores de corte estabelecidos *pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility* (BrCast). Considerou-se negativo para produção de carbapenemases a zona inibitória $\geq$ 22 mm; positivo, $<$ 16 mm; e intermediário entre 16 e 21 mm. Além disso, caso fossem observadas colônias isoladas na área de 16 a 18 mm (intermediário), o teste foi considerado positivo para produção da enzima (Brasil, 2020; BrCast, 2025).

4.8 Detecção molecular de β -lactamases de espectro estendido e Carbapenemases

Para detecção molecular de β -lactamases de espectro estendido e carbapenemases, inicialmente foi extraído o DNA total de todas as bactérias Gram-negativas incluídas no estudo, em seguida, esse DNA passou pela amplificação da região escolhida, através da *polymerase chain reaction* (PCR) e, posteriormente foi visualizado em transluminador (Loccus®) com luz ultravioleta a 306 nm.

4.8.1 Extração do DNA total

Para a extração do DNA total, foi escolhida a técnica da extração térmica (Andretti Filho *et al.*, 2011; Baratto; Magiolaro, 2012). A partir do estoque congelado a -80 °C, foram feitos inóculos em caldo BHI, os quais foram incubados em estufa bacteriológica por 18 a 24 h, a 37 °C, sob agitação contínua a 200 rpm (rotações por minuto). Decorrido esse tempo, transferiu-se 1,5 mL das culturas para micro tubos. Na sequência, os tubos foram submetidos à centrifugação a 10.000 rpm, em temperatura ambiente por 5 minutos.

Após esse procedimento, o sobrenadante foi descartado e submeteu-se o *pellet* (precipitado na parte inferior do tubo) a três lavagens com 1 mL de água ultrapura. Em seguida, o sobrenadante foi descartado novamente e o *pellet* ressuspendido 200 μ L de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 8,0). Agitou-se a mistura em agitador vórtex e, em seguida, a submeteu ao aquecimento em banho-maria a 95 °C por 10 minutos. Seguidamente, resfriou-se a suspensão em *freezer* a -20 °C por 30 minutos.

Decorrido o tempo de resfriamento, o produto foi centrifugado novamente sob as mesmas condições iniciais. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para outro micro tubo livre de contaminação e o *pellet* descartado. O DNA foi quantificado em espectrofotômetro de nano volumes (Lite. Thermo Scientific®, Washington, EUA) no comprimento de onda de 260 nm. A pureza do material obtido foi aferida a partir da razão entre as absorbâncias a 260 e 280 nm. Foram consideradas adequadas para as análises posteriores as relações compreendidas entre 1,7 e 2,0 (Bruijns *et al*, 2022) Para padronizar as concentrações dos DNA's extraídos, as concentrações do ácido

nucléico foram ajustadas para 50 µg/µL, com solução tampão TE. O DNA foi mantido sob refrigeração a -20 °C até a utilização.

4.8.2 Amplificação do DNA

O DNA extraído e ajustado para a concentração de 50 µg/µL foi submetido à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Termociclador (Analytikjena®, FlexCycler²) para amplificação dos genes de interesse (Tabela 1). Para o preparo das PCR, foram utilizados 12,5 µL de Taq Pol Green Master Mix 2x (Cellco Biotech®, São Paulo, Brasil), 1,25 µL de cada iniciador, 1 µL do DNA total do microrganismo e água ultrapura em quantidade suficiente para completar o volume de 25 µL.

As misturas reacionais foram submetidas às seguintes condições, para os genes codificadores de β-lactamases, uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguindo-se de 30 ciclos com desnaturação por 1 minuto a 94 °C, 1 minuto de anelamento, considerando-se a temperatura e cada primer, extensão durante 1 minuto a 72 °C, seguido de uma extensão final de 10 minutos a 72 °C (Pereira, 2016).

Tabela 1 – Sequência de iniciadores específicos para cada gene codificador de ESBLs.

Gene	Iniciadores	Sequência 5'-3'	Tm (°c)	Amplicom (pb)	Referência
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	<i>CTX-M-1_Fw</i>	TTAGGAARTGTGCCGCTGT	59	815	Pavez <i>et al.</i> 2019
	<i>CTX-M-1_Rv</i>	TACAAACCGTTGGTGACGA			
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	<i>CTX-M-2_Fw</i>	GACGCTACCCCTGCTATTTA	58	829	
	<i>CTX-M-2_Rv</i>	AGAAACCGTGGGTACGATT			
<i>bla</i> _{CTX-M-8}	<i>CTX-M-8_Fw</i>	TCGCGTTAAGCGGATGATGCT	64	828	
	<i>CTX-M-8_Rv</i>	TCGGTGACGATTTTCGCGGCA			
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	<i>CTX-M-9_Fw</i>	TGGTGACAAAGAGARTGCAA	58	856	
	<i>CTX-M-9_Rv</i>	GATTCTCGCCGCTGAAG			
<i>bla</i> _{CTX-M-25}	<i>CTX-M-25_Fw</i>	CGACAGCCTGTGTTTCGCTGC	64	854	
	<i>CTX-M-25_Rv</i>	TCGGTGACWATTCTGGCGGCA			
<i>bla</i> _{TEM}	<i>TEM_Fw</i>	AAACGCTGGTGAAAGTA	45	720	Oduro-Mensah <i>et al.</i> , 2016
	<i>TEM_Rv</i>	AGCGATCTGTCTAT			
<i>bla</i> _{SHV}	<i>SHV_Fw</i>	ATGCGTTATATTCGCCTGTG	60	726	
	<i>SHV_Rv</i>	TGCTTTGTTATTCGGGCCAA			

Na qual, Tm significa temperatura ideal para os iniciadores reconhecerem e se ligarem à região de interesse; pb, pares de bases; *Fw forward primer* (iniciador direto) e *Rv reverse primer* (iniciador reverso).

Fonte: do autor.

Para os genes codificadores de carbapenemsases (Tabela 2), foram utilizadas as seguintes condições, para o gene *bla_{KPC}*, foi utilizado tempo de 3 minutos a 94 °C, desnaturação inicial, 35 ciclos com 1 minuto a 94 °C para desnaturação, 1 minuto a 50 °C para ligação dos iniciadores e 1 minuto a 72°C para extensão da cadeia

nucleotídica, seguidos de uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Para o *bla_{NDM}*: 10 minutos a 94°C; 36 ciclos de amplificação: 30 segundos a 94 °C, 40 segundos a 52 °C, e 50 segundos a 72 °C; seguido de 5 minutos a 72°C para extensão final (Pereira, 2016).

Em relação a oxilinasas, foi testado apenas o *bla_{OXA-48}* para o qual, a reação foi conduzida com um ciclo de 5 minutos a 94 °C para desnaturação inicial do DNA, seguindo-se de 30 ciclos de: 1 minuto a 94 °C; 1 minuto a 57 °C e 1 minuto a 72 °C, seguidos de uma extensão final de 5 minutos a 72 °C (Pereira, 2016).

Tabela 2 – Sequência de iniciadores específicos para cada gene codificador de carbapenemases.

Gene	Iniciadores	Sequência 5'-3'	Tm (°c)	Amplicom (pb)	Referência
<i>bla_{KPC}</i>	<i>KPC-Fw</i>	TGTCACTGTATCGCCGTC	50	1011	Pereira, 2016
	<i>KPC-Rw</i>	CTCAGTGCTCTACAGAAAAACC			
<i>bla_{NDM}</i>	<i>NDM-Fw</i>	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC	52	608	
	<i>NDM-Rw</i>	CGGAATGGCTCATCACGATC			
<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>OXA48-Fw</i>	TTGGTGGCATCGATTATCGG	57	755	Pereira, 2016
	<i>OXA48-Rw</i>	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC			

Na qual, T_m significa temperatura ideal para os iniciadores reconhecerem se ligar à região de interesse; pb, pares de bases; Fw *forward primer* (iniciador direto) e Rv *reverse primer* (iniciador reverso).

Fonte: do autor.

4.9 Detecção genética de resistência à vancomicina no gênero *Enterococcus*

Para detecção dos genes codificadores de resistência ao antimicrobiano vancomicina em *Enterococcus*, inicialmente foi extraído o DNA total das cepas isoladas, seguindo a mesma técnica descrita no item 3.8.1. Com o DNA extraído, foram realizadas as reações para amplificação do gene de interesse (Tabela 3), como descrito no item 3.8.2, alterando apenas as condições para as reações. Para *vanA* e *vanB*, foram utilizadas as seguintes condições, 94°C por 5 min, seguida por 30 ciclos de 94°C por 30 s, temperatura de anelamento descrita na tabela 3 por 1 minuto e 72°C por 1 min. Uma etapa final de extensão foi realizada a 72°C por 5 min (Li *et al*, 2022).

Tabela 3 – Sequência de iniciadores específicos para detecção de genes de resistência à vancomicina.

Gene	iniciadores	Sequência 5'-3'	Tm (°C)	Amplicon	Referência
VanA	VanA1	GCTATTCAGCTGTACTC	54	783	Li <i>et al</i> , 2022
	vanA2	CAGCGGCCATCATACGG			
vanB	vanB1	CATCGCCGTCCCCGAATTTCAA	55	297	
	VanB2	GATGCGGAAGATACCGTGGCT			

Na qual, T_m significa temperatura ideal para os iniciadores reconhecerem se ligar à região de interesse; pb, pares de bases; Fw *forward primer* (iniciador direto) e Rv *reverse primer* (iniciador reverso).

Fonte: do autor.

4.10 Visualização dos amplicons

Após as reações de PCR, as bandas obtidas foram separadas por eletroforese em gel de agarose. Os géis foram preparados utilizando Agarose (Kasvi®) a 2% dissolvida em tampão TAE (Tris-HCl 40 mM, Ácido acético 20 mM, EDTA 1 mM). A eletroforese foi conduzida em tampão TAE a 80 (± 5) Volts por 90 minutos, e os géis corados com brometo de etídio a 0,5 $\mu\text{g/mL}$. Após a separação, os fragmentos foram visualizados em luz ultravioleta em um transluminador (Sambrook; Russell, 2001).

4.11 Pesquisa de fatores de virulência

4.11.1 Teste de hipermucoviscosidade (*stringtest*) para *Klebsiella pneumoniae*

Para verificação da produção de hipermucosividade, foi realizado o *stringtest*, no qual um inóculo foi preparado em um tubo contendo 3 mL de caldo Luria Bertani (LB). Em seguida, o tubo foi incubado em estufa bacteriológica por 18h a 37 °C sob agitação de 180 rpm. Após esse tempo, foi retirada uma alíquota do crescimento, por meio de uma alça de inoculação, e semeada em Ágar MacConkey (Kasvi®), seguido da incubação por 18h a 37 °C. Decorrido este período, uma alça de platina esterilizada foi colocada em cima da colônia e levantada, verificando a formação de um fio. Foi considerado positivo o *stringtest* quando o fio víscido formado apresentou 5 mm ou mais de comprimento (Arabaghian, 2019).

4.11.2 Cápsula polissacarídica (CPS)

Para avaliar a capacidade de produção de cápsula polissacarídica, foi utilizada tinta Nanquim como corante diferencial. Inicialmente as cepas foram cultivadas em ágar LB (Kasvi®) por um período de 24 horas a 37 °C. Depois desse tempo de incubação, foi feito um esfregaço em lâmina livre de gorduras, usando uma gota de tinta Nanquim (Renylab®, Brasil) e aguardou-se a secagem em temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado o corante Fucsina 1%, por 30 segundos. Para observação dos resultados, foi utilizado microscopia óptica, com aumento de 1000X. Foram consideradas produtoras de cápsulas as bactérias que apresentaram halos claros ao redor da bactéria com coloração rósea adquirida pelo Fucsina (Nunes, 2017) (Figura

6). Foram utilizados como controles positivo, a cepa de *K. pneumoniae* ATCC700603 e negativo, *E. coli* OP50, bactérias integrantes da coleção do LabMic.

4.11.3 Fímbrias tipo 1

Para avaliar as cepas em relação à expressão de fímbrias tipo 1, foi utilizada a técnica de aglutinação de levedura com *Saccharomyces cerevisiae*, semelhante ao teste de hemaglutinação, citado por Mohammad Zadeh *et al.* (2021), com modificações. A técnica consiste em fazer uma cultura bacteriana em Ágar LB (Kasvi®) e deixar por 24 horas em estufa bacteriológica a uma temperatura de 37 °C (± 2). Após esse período, foi preparado um inóculo em caldo LB (Kasvi®) e incubado por, aproximadamente, 48 horas nas mesmas condições, sem agitação. Após esse tempo, ajustou-se o inóculo a uma absorbância de 0,6 ($\pm 10\%$) em espectrofotômetro a 600 nm (Katani *et al.*, 2021; Stærk *et al.*, 2021).

Em um tubo de ensaio estéril, foi misturado, na proporção 1:1, 200µL da suspensão bacteriana padronizada com uma suspensão de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) 3% (m/v), preparada em tampão PBS (13 mM de cloreto de sódio, 10 mM de fosfato de sódio e 2,7 mM de cloreto de potássio pH 7,4) e misturada em agitador vórtex por, aproximadamente, 2 minutos. Em seguida, uma alíquota de 100 µL da mistura foi colocada em uma placa de vidro com fundo preto, e a formação de grumos foi observada a olho nu (Figura 7) (Katani *et al.*, 2021; Stærk *et al.*, 2021; Crépin *et al.*, 2012). A formação de grumos demonstra a presença de fímbrias tipo 1 pois a proteína FimH presente nessas adesinas, medeia a ligação do microrganismo à manose (Terlizzi; Gribaudo; Maffei, 2017), que está presente na parede celular da *Saccharomyces cerevisiae*, provocando a aglutinação das células (Zhang *et al.*, 2025). Como controle positivo foi utilizada *E. coli* PROEX 408, testada anteriormente, e como controle negativo, caldo LB (Kasvi®) mais a suspensão de levedura, nas mesmas proporções.

4.11.4 Produção de biofilme

A capacidade de produção de biofilme foi testada em todas as cepas isoladas e foi realizada de acordo com metodologia já descrita (Stepanovic *et al.*, 2000), com

algumas modificações. As bactérias foram cultivadas em caldo BHI (HIMEDIA®) a 37 °C por 24h, em estufa bacteriológica. Decorrido esse tempo, foi ajustada a absorbância para 0,1 ($\pm 10\%$), a λ 600 nm, que equivale a aproximadamente 10^8 UFC/mL (turbidez de 0,5 Mac Farland). Em seguida, a suspensão padronizada foi diluída em caldo triptona de soja (TSB) enriquecido com 0,24% de glicose, na proporção 1:10 (em tubo de vidro). De cada suspensão bacteriana diluída, alíquotas de 200 μ L foram acrescentadas, em quintuplicata, em uma placa de 96 poços. A placa foi incubada em estufa bacteriológica por 24h a 37 °C (± 2), sem agitação (Sayed *et al*, 2025; Stepanovic *et al*, 2000; Dan *et al*, 2023). Como controle positivo, foi utilizado *S. aureus* ATCC6538P e como controle negativo, que também serviu como o branco, na classificação das amostras, TSB enriquecido com glicose + BHI, na mesma proporção citada.

Após incubação, a detecção do biofilme foi realizada de acordo com a metodologia citada por Ji *et al* (2023), com algumas modificações. As células planctônicas foram descartadas e a placa lavadas três vezes, mergulhando-a em água destilada, o excesso de água foi retirado por inversão. As células aderidas à parede dos poços foram fixadas com 200 μ L de metanol (P.A.) por 15 min. Após esse período, os poços foram esvaziados da mesma maneira já citada e seca ao ar. Em seguida 125 μ L de solução de cristal violeta a 0,1% (p/v) foram adicionados e a placa foi incubada a temperatura ambiente por 15 min. O excesso de cristal violeta foi removido e a placa lavada como citado, e seca ao ar novamente. O biofilme aderido à placa foi solubilizado com 125 μ L de ácido acético 33% (v/v). Em seguida, 100 μ L de cada poço foi transferido para uma nova placa de 96 poços e a absorbância foi medida em λ 590 nm em leitor de microplacas.

Após a quantificação do biofilme produzido, as cepas foram classificadas de acordo com os critérios descritos por Stepanovic *et al*. (2020) (Tabela 4).

Tabela 4- Fórmula para classificação da produção do biofilme

Fórmula	Classificação	Referência
$ABS_A \leq ABS_C$	Não formadora de biofilme	
$ABS_C < ABS_A \leq 2 \times ABS_C$	Formadora fraca de biofilme	Adaptado de Stepanovic <i>et al</i> , 2000
$ABS_C < ABS_A \leq 4 \times ABS_C$	Formadora moderada de biofilme	
$ABS_A > 4 \times ABS_C$	Formadora forte de biofilme	

ABS_A corresponde a absorbância da amostra e ABS_C , absorbância do branco ou controle.
Fonte: autoria própria.

4.12 Detecção molecular de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa*

Para detecção dos genes codificadores dos fatores de virulência das cepas de *P. aeruginosa*, foi utilizado o DNA total, extraído de acordo com o item 4.8.1 e submetido a reações de PCR, como descrito no item 4.8.2. Os genes de interesse estão listados na tabela 5.

Para o gene *algD*, utilizou-se uma desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos com 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 30 segundos a 58 °C para o anelamento, 1 minuto a 72 °C para a extensão e 7 minutos a 72 °C para uma extensão final. Considerando os genes *plcH*, *plcN* e *lasB*, a desnaturação inicial foi de 94 °C por 3 minutos, seguidos de 30 ciclos com desnaturação por 30 segundos a 94 °C, anelamento durante 1 minuto a 55 °C, extensão por 1,5 minuto a 72 °C e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Já para o gene *aprA* foi 3 minutos a 94 °C, para desnaturação inicial, e depois 30 ciclos com 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 1 minuto de anelamento a 62 °C e extensão a 72 °C (Fazeli; Momtaz, 2014; Silva *et al.*, 2023).

Tabela 5 - Sequência de iniciadores específicos para detecção de fatores de virulência de *Pseudomonas aeruginosa*.

Gene	Iniciadores	Sequência 5'-3'	Tm (°C)	Amplicon	Referência
<i>algD</i>	<i>AlgD-F</i>	AAGGCGGAAATGCCATCTCC	58°	1310	Fazeli N, Momtaz (2014)
	<i>AlgD-R</i>	AGGGAAGTTCCGGGCGTTTG			
<i>plcH</i>	<i>plcH1-F</i>	GCACGTGGTCATCCTGATGC	55°	307	
	<i>plcH2-R</i>	TCCGTAGGCGTCGACGTAC			
<i>plcN</i>	<i>PlcN-F</i>	TCCGTTATCGCAACCAGCCCTACG	55°	466	
	<i>PlcN-R</i>	TCGCTGTCGAGCAGGTCTGAAC			
<i>lasB</i>	<i>LasB-F</i>	GGAATGAACGAAGCGTTCTCCGAC	55°	284	
	<i>LasB-R</i>	TGGCGTCGACGAACACCTCG			
<i>aprA</i>	<i>aprA-F</i>	GTCCTATACCGTCGACCAGGC	62°	928	Silva <i>et al</i> (2023)
	<i>aprA-R</i>	GTCGCTACCCGAGCCGCCGAT			

Na qual, Tm significa temperatura ideal para os iniciadores reconhecerem se ligar à região de interesse; pb, pares de bases; *Fw forward primer* (iniciador direto) e *Rv reverse primer* (iniciador reverso).

Fonte: autoria própria.

Após a amplificação dos genes, as bandas foram separadas por eletroforese, coradas com Brometo de etídeo e visualizadas em luz ultravioleta como descrito no item 4.10.

4.14 Análise dos resultados

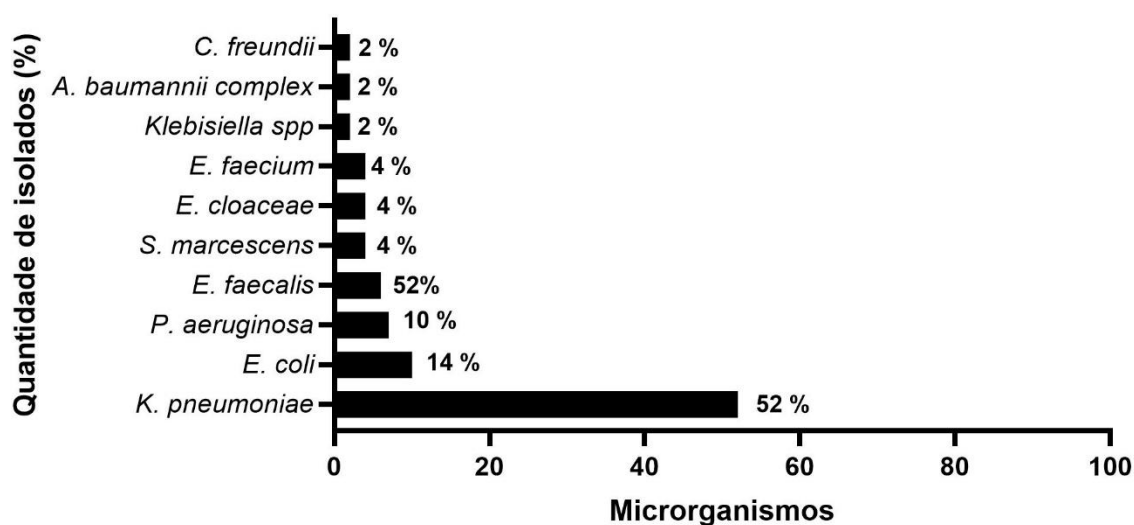
No estudo foram analisadas as seguintes variáveis: sítio da infecção, produção de ESBLs, produção de carbapenemases, perfil de resistência a antimicrobianos, resistência à vancomicina pelo gênero *Enterococcus*, expressão de fatores de virulência (produção de hipermucoviscosidade, CPS, Fímbrias tipo 1 e produção de biofilme) e presença de genes codificadores de fatores de virulência em *P. aeruginosa*. A tabulação dos dados obtidos foi realizada com o auxílio do programa *Microsoft Excel 365*[®], os gráficos foram feitos *Graph Prism 10*[®]. Para análise dos resultados foi utilizado a média aritmética simples e percentual de positividade dos testes realizados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionadas 53 amostras de microrganismos multirresistentes, pelo Laboratório de Análises Clínicas do HUL, 3 delas foram descartadas por contaminação e 50 foram consideradas para as análises do estudo. Os isolados englobaram tanto cepas Gram-positivas (10 %) quanto Gram-negativas (90 %) e distribuíram-se nos gêneros e espécies apresentados no gráfico 1.

Dentre as espécies isoladas, as mais prevalentes foram, *Klebsiella pneumoniae*, (52 %), *Pseudomonas aeruginosa* (14 %), *Escherichia coli* (10 %) e *Enterococcus faecalis* (6%), representando 82 % do total de amostras. Os 18 % restantes foram constituídos por *Klebsiella* spp (2%), *Serratia marcescens* (4%), *Acinetobacter baumannii* complex (2%), *Enterobacter cloacae* complex (4%), *citrobacter freundii* (2%) e *Enterococcus faecium* (4%).

Gráfico 1 - Microrganismos isolados no HUL



No eixo X estão representadas as espécies dos microrganismos, no eixo Y, o percentual dos microrganismos isolados.

Fonte: autoria própria, feito no *GraphPad Prism 10*®.

Em um estudo publicado em 2022, sobre a carga global da resistência bacteriana a antimicrobianos, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *P. aeruginosa*, estavam entre os seis principais causadores de mortes associadas à resistência a antimicrobianos em 2019 (*Antimicrobial Resistance Collaborators*, 2022). Vale ressaltar que, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* complex, *Escherichia*

coli estão no grupo de prioridade crítica pela OMS, em sua lista de patógenos prioritários atualizada em 2024, e *P. aeruginosa* e *E. faecium* no grupo de alta prioridade (WHO, 2024).

Estudos vêm mostrando um crescimento nas infecções causadas por microrganismos Gram-negativos (BGN). No Brasil, trabalhos realizados no Ceará (hospital universitário - público), Rio Grande do Sul (hospitais privados) e Minas Gerais (hospital de ensino público) apresentaram maior taxa de isolados BGN, com destaque para maior incidência de *K. pneumoniae* com 59,67%, 27,5% e 65,21% respectivamente (Rodrigues *et al.*, 2022; Jara *et al.*, 2020; Fochat *et al.*, 2024). Na Coreia do Sul, uma pesquisa realizada durante vinte anos mostrou um crescimento nas taxas de detecção dos microrganismos resistentes a múltiplas drogas, com destaque na maior prevalência de infecções causadas por Gram-negativos (Park *et al.*, 2024).

Em contrapartida, um trabalho que avaliou a resistência a antimicrobianos nas Américas em 2019 trouxe *S. aureus* resistentes à meticilina como o patógeno mais prevalente, seguido de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* que apareceu em 4º lugar (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2023). Já na União Europeia, a predominância, no mesmo período foi *E. coli* seguida de *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosas*, *E. faecium*, e por último, *A. baumannii* (European Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022).

Apesar de muitos avanços nas descobertas de fármacos, antibacterianos, os melhores resultados têm sido contra Gram-positivos. Os maiores desafios aparentam ser em infecções causadas por BGNs, impostos pela resistência intrínseca devido à barreira de permeabilidade, conferida pela membrana externa, presentes nesses microrganismos (Ho *et al.*, 2025). Isso pode justificar o aumento nas taxas de detecção e a maior preocupação da OMS com esse grupo de bactérias.

Considerando os sítios anatômicos ou materiais clínicos de onde foram isolados, neste estudo (Tabela 6). Os dados encontrados nesse trabalho para *K. pneumoniae* diferem dos achados em Salvador, relatados por Cunha *et al.* (2022) o qual teve o sangue como principal local de isolamento (42,9%), seguido de sistema respiratório inferior (14,3%) e pneumonia associada à ventilação mecânica (9,5%). Diferenciou-se também, dos achados por Rocha *et al.* (2022) e Diamartino *et al.* (2024), que tiveram maiores taxas de isolamento em *swab* anal com 67,8% e 48,3%, sangue 8,9% e 20%, ligadas ao sistema respiratório 5,3% e 20% e urina 3,6% e

77,7%, respectivamente. As diferenças entre os achados neste estudo podem estar relacionadas ao período de estudo, o primeiro foi realizado durante a pandemia de COVID-19, o segundo antes da pandemia e o nosso, após a pandemia. Os resultados podem ter sofrido influência direta desse período, o que já era esperado, pois a pressão adicional imposta pela COVID-19 aos sistemas de saúde provavelmente contribuiu para o aumento de infecções causadas por microrganismos multirresistentes (Diamartino *et al.*, 2024).

Tabela 6: Percentual de isolados bacterianos de acordo com o material clínico

Material clínico	Microrganismos					
	<i>K. pneumoniae</i> (n=26)	<i>E. coli</i> (n=5)	<i>P. aeruginosas</i> (n=7)	<i>E. faecalis</i> (n=3)	Outras (n=9)	Todos os Isolados (n=50)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Aspirado traqueal	1 (3,8)	-	3 (42,9)	-	-	4 (8,0)
Cateter venoso	6 (23,1)	-	-	1 (33,3)	1 (11,1)	8 (16,0)
Partes moles	-	-	-	-	1 (11,1)	1 (2,0)
Sangue	4 (15,4)	-	-	-	1 (11,1)	5 (10,0)
Swab anal	-	-	-	2 (66,7)	3 (33,3)	5 (10,0)
Trocantérica	1 (3,8)	-	-	-	-	1 (2,0)
Urina	14 (53,8)	5 (100,0)	4 (57,1)	-	3 (33,3)	26 (52,0)

Fonte: autoria própria, elaborada no *microsoft Excel 365*®.

A *E. coli* teve todas as cepas isoladas da urina, resultado esperado, visto que ela é um patógeno que faz parte da microbiota do trato intestinal e pode estar associada a muitas infecções nosocomiais, principalmente do trato urinário e corrente sanguínea (Daga *et al.*, 2019). Nos Estados Unidos, um trabalho desenvolvido entre os anos de 2019 e 2020, encontrou 93% dos isolados de *E. coli* em urina (Mills *et al.*, 2022). Em Moçambique, um estudo teve 86,5% do total de estirpes de *E. coli*, isoladas de urina e os outros 13,5% foram oriundos de hemoculturas (Estaleva *et al.*, 2021). Ambos os estudos se diferem dos achados no nosso, pois o primeiro, apesar das altas taxas de isolados em urina, nossos achados foram 7% mais elevados e 13,5% em relação ao segundo. Considerando que nos Estados Unidos a amostra estudada foi constituída por 2075 isolados e no continente africano o estudo foi realizado em um hospital de 1000 leitos e analisados 230 isolados, além da distância geográfica entre os locais de estudo de ambas as pesquisas, as diferenças são esperadas.

Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* também se originaram de urina em sua maioria (57,1%), achados que diferem dos relatados por Li *et al* (2023), que

encontrou em infecções respiratórias 72,52% e 4,73% na urina. Por outro lado, assemelha-se com as taxas de isolados em infecções respiratórias por El-Far, Abukhatwah *et al.*, (2023) e Rodrigues *et al.* (2020), que relataram 44% e 42,6% respectivamente, mas diferenciou-se quanto aos isolados de urina em todos os trabalhos citados, sendo superior. As diferenças entre esses resultados podem se justificar pelo número de amostras em cada estudo, o perfil do hospital analisado, e o perfil populacional de cada região. Esse microrganismo tornou-se um patógeno humano oportunista e está relacionado a infecções principalmente pulmonares, tecidos moles e trato urinário associado a catéteres (Husseini *et al.*, 2024; Weimann *et al.*, 2024). Diante disso, esperava-se que fossem isolados dos sítios infecciosos já citados (Tabela 6), porém é preciso destacar que a alta taxa de isolados em urina, pode ser influenciada, além das diferenças já citadas, por tempo de uso de catéteres urinários (Gad; AbdelAziz, 2021).

Enterococcus faecalis foi a espécie enterocócica clínica mais prevalente e teve sua maior detecção em *swab* anal 66,7%. Resultados diferentes foram encontrados por Mokhtar *et al.* (2025), os quais foram obtidos, principalmente de urina 46,5%, sangue 18,9%, *swab* de ferida 8,5% e cultura respiratória 6,7%. Em contrapartida, assemelham-se aos achados por Rocha *et al.* (2025), que trouxe o *swab* anal como a principal fonte de isolamento 85,7%. Apesar das diferenças entre os achados no primeiro estudo, nossos achados eram esperados, uma vez que esses microrganismos geralmente não apresentam altos níveis de virulência e estão presentes, principalmente no trato gastrointestinal dos seres humanos (Euchel *et al.*, 2023). As diferenças encontradas podem ser devido às diferenças entre as estirpes circulantes em cada região, visto que o estudo brasileiro teve um resultado mais próximo, além dos períodos em que foram realizados os estudos.

5.1 Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos

Considerando as bactérias Gram-negativas (fermentadoras de lactose), todas apresentaram resistência a pelo menos uma das gerações das cefalosporinas. Analisando as gerações, 59,5% foram resistentes à primeira geração, 94,6 % à segunda, 97,3% à terceira e 83,5% à quarta. Todas as que foram resistentes à primeira geração, também apresentaram resistência à segunda, 1 delas não foi resistente à terceira e duas apresentaram sensibilidade à cefepima. Ao associar um inibidor de β -

lactamase, a resistência diminuiu, 32,4% apresentaram resistência a um dos medicamentos testados (Tabela 7).

Analisado todos os β -lactâmicos associados com inibidor de β -lactamase, os maiores percentuais de resistência foram observados em *K. pneumoniae* (88,5%) e *P. aeruginosa*, (100%) para piperacilina + tazobactam; 11,5% e 28,6% a ceftazidima + avibactam e, 38,5% e 11,5% a ceftolozane + avibactam, respectivamente. Resultados diferentes foram relatados por Kakaraskoska; Boceska *et al.* (2024) que observaram resistência em 35 % para *K. pneumoniae* e 67 % em *E. coli* para piperacilina + tazobactam. Rehman *et al.* (2021) encontraram taxa de resistência superior, 45,4% de resistência a piperacilina + tazobactam em isolados de *E. coli*, em nosso estudo, todas foram sensíveis. Azra *et al.* (2025) relataram taxas de resistência de *K. pneumoniae* de 17 % a piperacilina + tazobactam e 51,5% a ceftazidima + avibactam. Valzano *et al.* (2024) e Carvalho *et al.* (2023) encontraram resistência para ceftazidima + avibactam em 30,8% e 7,7% de isolados de *P. aeruginosa*.

Geralmente a associação do β -lactâmico com inibidor de β -lactamase é eficaz contra BGN produtoras de ESBLs, mas, como vemos em nosso trabalho, temos microrganismos apresentando taxas de resistências importantes, a esses fármacos. Quando isso ocorre, o microrganismo pode expressar, além da ESBL, outras formas de resistência, como enzimas carbapenemases, sistemas de bomba de efluxo, expressão da cefalosporinase *AmpC*, alterações na porina da membrana e formação de biofilme (Muddassir *et al.*, 2021; Valzano *et al.*, 2024; Azra *et al.*, 2025)

Tabela 7 - Perfil de Resistência a Antimicrobianos, dos Isolados Clínicos

ANTIMICROBIANOS	BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS				BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS		TOTAL DE ISOLADOS (n= 50) n (% R)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 26) n (% R)	<i>Escherichia coli</i> (n= 5) n (% R)	<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (n=7) n (% R)	Outras bactérias* (n= 7) n (% R)	<i>Enterococcus faecium</i> (n= 2) n (% R)	<i>Enterococcus faecalis</i> (n= 3) n (% R)	
Penicilinas							
Piperacilina+Tazobactam	23 (88,5)	0 (0,0)	7 (100,0)	5 (71,4)	-	-	35 (70,0)
Ampicilina	-	-	-		2 (100,0)	0 (0,0)	2 (40,0)
Amoxicilina + Clavulanato	24 (92,3)	1 (20,0)	1 (14,3)	6 (85,7)	-	-	32 (64,0)
Cefalosporinas							
Cefalexina	14 (53,8)	5 (100,0)	1 (14,3)	3 (42,9)	-	-	23 (46,0)
Cefuroxima	25 (96,2)	5 (100,0)	-	5 (71,4)	-	-	35 (70,0)
Cefuroxima Axetil	5 (19,2)	-	-	3 (42,9)	-	-	8 (16,0)
Ceftriaxona	26 (100,0)	5 (100,0)	-	5 (71,4)	-	-	36 (72,0)
Ceftazidima	7 (26,9)	-	3 (42,9)	3 (42,9)	-	-	13 (26,0)
Cefepime	24 (92,3)	4 (80,0)	6 (85,7)	4 (57,1)	-	-	38 (76,0)
Ceftazidima+Avibactam	3 (11,5)	-	2 (28,6)	1 (14,3)	-	-	6 (12,0)
Ceftolozane+Tazobactam	10 (38,5)	-	3 (11,5)	2 (28,6)	-	-	15 (30,0)
Carbapenêmicos							
Ertapenem	19 (73,1)	0 (0,0)	-	4 (57,1)	-	-	23 (46,0)
Meropenem	18 (69,2)	0 (0,0)	7 (100,0)	5 (71,4)	-	-	30 (60,0)
Aminoglicosídeos							
Amicacina	17 (65,4)	0 (0,0)	2 (28,6)	5 (71,4)	-	-	24 (48,0)
Gentamicina	22 (84,6)	1 (20,0)	-	3 (42,9)	-	-	26 (52,0)
Fluroquinolonas							
Ciprofloxacina	25 (96,2)	4 (80,0)	7 (100,0)	6 (85,7)	-	-	42 (84,0)
Norfloxacina	13 (50,0)	5 (100,0)	-	2 (28,6)	-	-	20 (40,0)
Outros antibacterianos							
Aztreonam	12 (46,2)	-	3 (42,9)	3 (42,9)	-	-	18 (36,0)
Fosfomicina	-	0 (0,0)	-	-	-	-	0 (0,0)
Linezolida	-	-	-	-	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Nitrofurantoina	11 (42,3)	0 (0,0)	-	0 (0,0)	-	-	11 (22,0)
Sulfametoxazol/Trimetoprim	10 (38,5)	0 (0,0)	-	2 (28,6)	-	-	12 (24,0)
Tigeciclina	7 (%)	-	-	3 (42,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	10 (20,0)
Teicoplanina	-	-	-	-	2 (100,0)	3 (100,0)	5 (10,0)
Vancomicina	-	-	-	-	2 (100,0)	3 (100,0)	5 (10,0)

**Klebsiella spp* (n=1).; *Serratia marcescens* (n=2); *Acinetobacter baumannii complex* (n=1); *Enterobacter cloacae complex* (n=2); *citrobacter freundii* (n=1);

Fonte: autoria própria, feito no *microsoft Excel 365®*

No tocante aos carbapenêmicos, que são a classe de antimicrobianos de escolha para os microrganismos que apresentam resistência aos produtores de ESBL (Hammoudi Halat; Moubareck, 2020), encontramos 68,9% das amostras Gram-negativas com resistência a, pelo menos 1 dos medicamentos testados, ertapenem (74,1%) e meropenem (96,8%). Todas as amostras resistentes ao meropenem foram também resistentes ao ertapenem ou não foram testadas. Microrganismos com esse perfil provocam infecções mais difíceis de tratar, pois diminuem as opções terapêuticas, precisando de terapias com associações de antibióticos, mais restritos (Perez; El Chakhtoura; Bonomo, 2025). Considerando as espécies isoladamente, *P. aeruginosa* apresentou 100 % de resistência, complexo *A. baumannii* 100 %, *K. pneumoniae* 76,0 %, *E. cloacae* 100 %, *C. freundii* 100 %, *S. marcescens* 50 %, foram resistentes aos carbapenêmicos. Já *E. coli* e *Klebsiella spp* foram sensíveis.

Esses achados, corroboram com os observados na Polônia, onde foi encontrado alta taxa de resistência aos carbapenêmicos em *P. aeruginosa*, com a (94,3 %) (Litwin; Fedorowicz; Duszynska, 2020). Por outro lado, superam os resultados encontrados por Pascale *et al.* (2025) Scaglione *et al.* (2024) e pelo comitê Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (2023) que observaram a prevalência de resistência a essa classe de antimicrobianos em *P. aeruginosas* em 19,2 %, 25,3 % e 16 %, respectivamente. A diversidade da amostra pode explicar essas diferenças, enquanto em nosso estudo, a coleta foi realizada em um único hospital os demais, estudos tiveram uma amostra maior e mais diversificada. Quanto ao Brasil, nossos resultados confirmam outros estudos já realizados, os quais têm apresentado altas taxas de BGN resistentes aos carbapenêmicos em várias regiões brasileiras, o que tem se mostrado uma tendência no país, com destaque para *Enterobacteriales*, *P. aeruginosas* e *A. baumannii* (Fochat *et al.*, 2024; Bittencourt *et al.*, 2025; Antochévis *et al.*, 2025; Dantas *et al.*, 2019; Porto *et al.*, 2022).

Quanto aos aminoglicosídeos em nosso estudo, as Bactérias Gram-negativas apresentaram resistência em 73,3 %, com maior destaque para *K. pneumoniae* (92,3 %), *P. aeruginosa* (28,6 %) e *E. coli* (20 %). Altas taxas de resistência aos aminoglicosídeos também foram encontradas no sul da Ásia, em que *K. pneumoniae* teve 75,3 %, *E. coli* 69,7 % e *A. baumannii* 68,1 % (Chaurasia *et al.*, 2019). Pascale *et al.* (2025) relataram 63 % de resistência à gentamicina em *Enterobacteriales*, e 8 % em *P. aeruginosa*. Prevalência superior, para *P. aeruginosa*, foi observado no Irã (48 %) (Saeli *et al.*, 2024), já na China, Zhang e colaboradores (2021), observaram 14,73

% de resistência à gentamicina em *K. pneumoniae*. No Brasil, entre os anos 2020 e 2021 um estudo relatou 2,3 % de resistência em *E. coli*, 21,8 % em *K. pneumoniae* e 10,6 % em *P. aeruginosa* (Bittencourt *et al.*, 2025). Desidério *et al.* (2022) relataram resistência à amicacina na região Nordeste do Brasil em 2021, nas espécies de *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, com 18,5 % e 24,6 % respectivamente. Nossos resultados tiveram percentuais mais elevados, para *K. pneumoniae* em todos os estudos, *P. aeruginosa*, teve taxa inferior, apenas, se comparado aos achados no Irã, já *E. coli*, confirmou o achado brasileiro por Bittencourt *et al.* (2025), mas diferenciou-se do estudo asiático.

Entre os isolados BGN encontramos 95,6 % de resistência às fluoroquinolonas, com destaque para *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* com 96,2 % e 100 % de resistência ao ciprofloxacino, respectivamente, e *E. coli* com 100 % de resistência ao norfloxacino e *P. aeruginosa*, 100 % a ciprofloxacino. Nossos resultados confirmaram achados na Itália descritos por Pascale e colaboradores (2025), em que *Enterobacteriales* apresentaram 97 % de resistência. Alta taxa de resistência de *K. pneumoniae* foi encontrada na China, por Zhan *et al.* (2025) que descreveram 79,5 % ao ciprofloxacino. Nossos achados diferenciaram-se de resultados encontrados na Síria, em espécies de *P. aeruginosa*, no qual 39,1 % foram resistentes ao ciprofloxacino (Shanan *et al.*, 2025). No Brasil, Bittencourt *et al.* (2025) relataram resistência ao ciprofloxacino em espécies de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* de 49,7 %, 65,4 % e 38,2 % respectivamente. No Nordeste brasileiro, uma pesquisa também relatou resultados diferentes para *E. coli*, que apresentou 58 % de sensibilidade ao ciprofloxacino (Desidério *et al.*, 2022). Essas diferenças entre os achados podem ser, tanto devido às diferenças de locais de realização das pesquisas, perfil das unidades de saúde, o uso empírico reduzido devido dessa classe de antimicrobianos (Chen *et al.*, 2025).

Para o tratamento de bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos, frequentemente recorrem-se à terapia combinada baseada em polimixinas, aminoglicosídeos e tigeciclina (Karakonstantis; Kritsotakis; Gikas, 2020), no entanto, como encontramos em nosso estudo, encontramos bactérias que apresentam resistência a ambos os fármacos (Gráfico 2). Isso tem acontecido também em nível global, um estudo, publicado em 2019, mostrou que está acontecendo uma disseminação mundial de BGN PDR (pan-resistente), sendo visualizada com dados dos 5 continentes. O que dificulta os tratamentos, pois eles são escassos, segundo o

autor, geralmente acabam fazendo uso de associações, empíricas, de antimicrobianos em doses e vias de administração ainda sem consolidação de eficácia (Karakonstantis; Kritsotakis; Gikas, 2019).

Outro grupo de bactérias de grande importância clínica são as Gram-positivas, dentre elas os *Enterococcus*, especialmente os resistentes à vancomicina inclusive, estão listadas no grupo de prioridade alta na lista de patógenos prioritários da OMS de 2024 (WHO, 2024). Neste trabalho, a espécie *E. faecium*, foi a mais resistente, aos antibióticos (Tabela 7), apresentou sensibilidade apenas à linezolida e tigeciclina, confirmando os achados por Hota; Pati; Mane (2024) que descreveram 100 % resistência dos isolados à vancomicina, porém distancia-se quando se trata de teicoplanina, seus achados foram de 15 %. Resultados diferentes foram encontrados por Ghazvinian *et al.* (2025), no Irã, os quais apresentaram 18,6 % de resistência à ampicilina, 6,6 % à vancomicina, 6,6 % à teicoplanina e 1,6 % à linezolida. Na China, um estudo relatou 100 % de resistência em cepas de *E. faecium* à ampicilina, assemelhando-se aos nossos achados, mas diferenciando-se em relação à vancomicina e teicoplanina, as quais apresentaram 100 % de sensibilidade (Wu *et al.*, 2025). No Brasil, Rocha *et al.* (2025), também relatou 100 % de resistência à vancomicina, mas encontrou diferentes resultados quanto à teicoplanina e ampicilina, descrevendo 28,6 % e 0 % de resistência, respectivamente.

Considerando a espécie *E. faecalis*, 100 % dos isolados foram sensíveis à ampicilina, linezolida e tigeciclina, em contrapartida, 100 % apresentaram resistência à vancomicina e teicoplanina. Resultados que destoaram dos relatados na Índia, os quais apresentaram 24 % de resistência à vancomicina e 100 % de sensibilidade à teicoplanina (Hota; Pati; Mane, 2024). Ghazvinian *et al.* (2025), também apresentaram achados divergentes, 3,6 % de resistência à ampicilina, 1,2 % à vancomicina e 4,8 % à linezolida, além 100 % de sensibilidade à teicoplanina. Espécies brasileiras isoladas no Nordeste tiveram um perfil dissemelhante, 24 % de estirpes de *E. faecalis* resistentes a vancomicina e 100 % de sensibilidade à teicoplanina (Rocha *et al.*, 2025), mas confirmaram nossos achados, em relação à linezolida e tigeciclina.

Analisando as duas espécies citadas *E. faecium* e *E. faecalis*, resultados relatados no presente trabalho possui mais semelhanças com os achados em Salvador, o que já é esperado, diante da proximidade geográfica dos locais de estudo, isso possibilita a circulação de células mais semelhantes, além da população ter a chance de ser mais símil. Comparando as duas espécies, encontramos mais

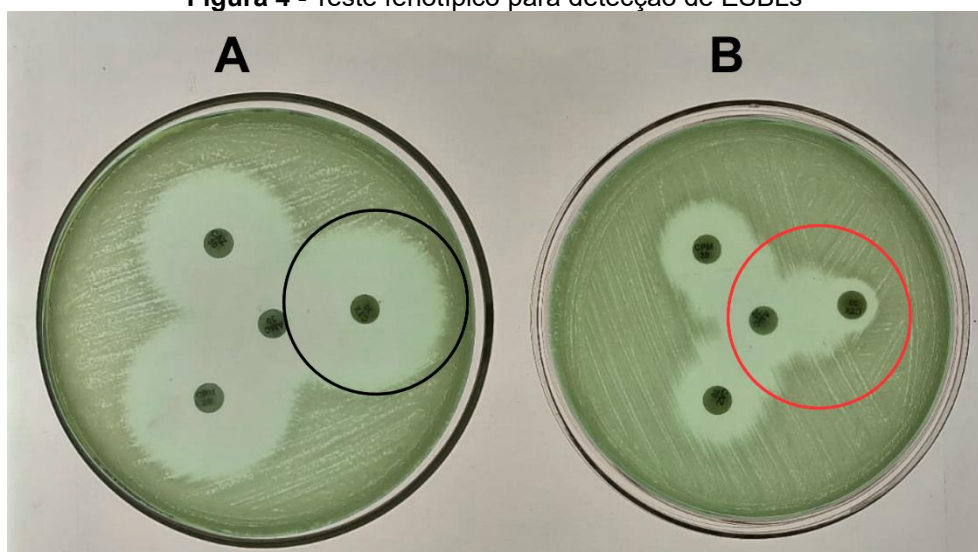
resistência em *E. faecium*, característica previsível, uma vez que essa espécie possui a capacidade de adquirir resistência rapidamente por diferentes mecanismos como mutações, transferência horizontal de genes e por plasmídeos, como transposons (Mirzaii *et al.*, 2023).

A disseminação de estirpes MDR no ambiente hospitalar pode apresentar sérios riscos à saúde dos pacientes, pois a dificuldade de controlar os processos infecciosos ficam maiores, deixando mais restritas as possibilidades terapêuticas (Kliffer *et al.*, 2023).

5.2 Produção de ESBLs e Carbapenemases pelos isolados Clínicos

5.2.1 Produção Fenotípica de β -lactamases

No tocante à produção de ESBLs, os isolados clínicos desse estudo apresentaram positividade em 40 % no teste fenotípico. Das amostras com fenótipo positivo (Figura 4), 100% delas abrigavam, pelo menos 1 dos genes ESBL testados e, 55,5% das que negativaram, foram positivas no teste genético. Um estudo desenvolvido no Paquistão com bactérias Gram-negativas encontrou positividade no teste fenotípico para ESBL em 22,1 %, mas na genotipagem, em 31,7 % foram localizados genes (Haider *et al.*, 2022). no Peru, 100 % das amostras de BGN apresentaram o fenótipo, porém, 2,2 % não apresentaram nenhum dos genes de interesse. (Aguilar-Ancori *et al.*, 2025) ambos os resultados foram divergentes. Em contrapartida, resultados análogos foram encontrados por Liu *et al.* (2023) com 42,11 % das amostras com resultado positivo no teste fenotípico, e todas as estirpes tiveram pelo menos um dos genes buscados.

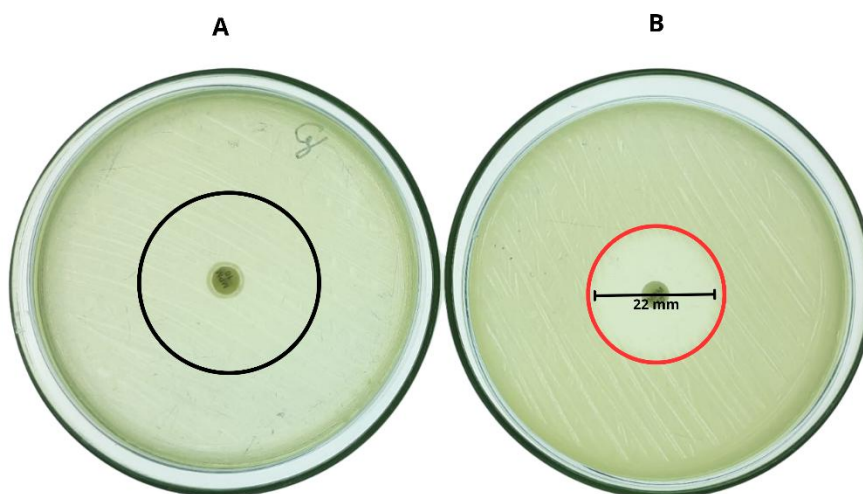
Figura 4 - Teste fenotípico para detecção de ESBLs

A) Teste negativo. O microrganismo apresentou sensibilidade à todas as cefalosporinas testadas, indicado pela presença de halos bem definidos, como destacado em preto. B) Teste positivo. Pode-se observar o aumento do halo de inibição, de uma das cefalosporinas, em direção ao disco de amoxicilina com clavulanato, colocado no centro da placa. No destaque em vermelho, o microrganismo apresentava um pequeno halo de inibição, indicando resistência, porém, do lado do disco em que ocorre contato com o clavulanato (inibidor de β -lactamase), a zona de inibição aumenta, indicando a inibição da enzima presente.

Fonte: autoria própria.

Em relação à produção carbapenemase, em nosso estudo encontramos positividade no teste mCIM (Figura 5), em 22,2 % das bactérias. Dessas, 80 % apresentaram, pelo menos um dos genes de interesse. Das que não apresentaram o fenótipo, 37,1 % apresentaram o gene *bla_{KPC}*. Achados discrepantes foram descritos por Kamel *et al.* (2022) no Egito, em que em que 46 estirpes, de 71 %, foram positivas no teste fenotípico. Resultados com prevalência inferior aos nossos, foram relatados por Aguilar-Ancori *et al.* (2025), 13,1% apresentaram fenótipo no teste de carbapenemase, dessas, 91,6 % apresentaram algum dos genes procurados, e nenhuma das que foram negativas no teste fenotípico apresentaram algum gene. Já Haider *et al.* (2022) relatou 59,2 % de positividade no teste fenotípico e 42,3 % de presença de algum dos genes buscados.

Figura 5 - Resultado de teste fenotípico de detecção de carbapenemases



Na imagem A) temos a representação de um teste com resultado positivo para carbapenemases, no qual o disco de meropenem, colocado no centro da placa, dentro do círculo preto, não foi capaz de inibir o crescimento do microrganismo semeado, mesmo ele sendo sensível ao antimicrobiano. Mostrando que o antibiótico sofreu inativação por uma carbapenemase à qual foi exposto anteriormente. Na imagem B), um resultado negativo, em que o halo formado, ao redor do meropenem foi de 22 mm de diâmetro, representado pelo círculo em vermelho, que, de acordo com o BrCast, 2025, representa halo de sensibilidade ao fármaco.

Fonte: autoria própria.

Diferenças na detecção genética e fenotípica podem acontecer, pois a PCR detecta apenas o determinante genético específico do primer, não significando que a proteína é traduzida, já os testes fenotípicos são aplicados para verificar a atividade enzimática de ESBL e carbapenemase. Além disso, o microrganismo pode expressar um gene não testado, sendo fenótipo positivo e genótipo negativo. Alterações genéticas podem dificultar a especificidade do primer, bem como, genes podem ser silenciados e por isso não são expressos (Haider *et al.*, 2022; Aguilar-Ancori *et al.*, 2025; Yee, Dien, Simner, 2021)

5.2 Pesquisa de Genes Codificadores de Enzimas β -lactamases nos Isolados Clínicos Gram-negativos

Os isolados foram caracterizados quanto à presença de genes codificadores de proteínas ESBLs e carbapenemases. Dentre as 45 cepas Gram-negativas testadas, 71,1 % apresentaram, pelo menos, um dos genes ESBLs testados, sendo que *E. coli* foi a espécie que teve maior detecção, em 100% dos isolados detectou-se pelo menos um dos genes, seguida de *K. pneumoniae* com 92,3 %. Em *P. aeruginosa* não foram encontrados genes para as ESBLs. Esse microrganismo pode apresentar

vários tipos de resistência aos fármacos, tanto intrínseca (bombas de efluxo e alteração da permeabilidade de membrana), como adquiridas, como as ESBLs (Salleh *et al.*, 2025; Edward *et al.*, 2024).

Vale destacar que no tocantes às famílias de ESBL, a TEM foi a que teve maior expressividade 57,8 %, SHV e CTX-M 46,7 %. O único gene da família CTX-M detectado foi o CTX-M1. Além disso, em 22,2 % das amostras, foram detectados os genes das três famílias coexistindo (Tabela 8).

Tabela 8: Perfil genético dos isolados Gram-negativos quanto à presença de genes codificadores de β -lactamases

Genes	Microrganismo				
	<i>K. pneumoniae</i> (n = 26) n (%)	<i>E. coli</i> (n = 5) n (%)	<i>P. aeruginosas</i> (n=7) n (%)	Outras bactérias (n = 7) n (%)	Todas as bactérias (n=45) n (%)
β-lactamases de espectro estendido					
Apenas SHV	0 (0,0)	1 (20,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	2 (4,4)
Apenas TEM	2 (7,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,4)
Apenas CTX-M-1	0 (0,0)	4 (80,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (8,8)
SHV + CTX-M-1	1 (2,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,2)
CTX-M-1 + TEM	3 (11,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (42,9)	6 (13,3)
TEM + SHV	8 (30,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (17,8)
TEM + SHV + CTX-M-1	10 (38,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	10 (22,2)
Carbapenemases					
Apenas KPC	11 (42,3)	0 (0,0)	6 (85,7)	1 (14,3)	18 (40,0)
Apenas NDM	3 (11,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	4 (8,8)
KPC + NDM	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Genes ESBL + Carbapenemases					
KPC + ESBL	9 (34,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	9 (20,0)
NDM + ESBL	3 (11,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	4 (8,8)

Outras bactérias compreendem: *Klebsiella spp* (n=1); *Serratia marcescens* (n=2); *Acinetobacter baumannii complex* (n=1); *Enterobacter cloacae complex* (n=2); *Citrobacter freundii* (n=1)

Fonte: autoria própria, feito no *microsoft Excel 365*®

No Peru, um estudo realizado com *K. pneumoniae*, 100% das amostras apresentaram, pelo menos um gene ESBL, uma diferença de 7,7% em relação aos achados nosso estudo. Porém os genes detectados foram os mesmos, diferenciando-se na prevalência de cada um, no Peru, o mais prevalente foi SHV, com 82,4%, em nosso estudo, o mais prevalente foi TEM, com 88,5% e a família CTX-M foi a menos prevalente em ambos, entre as cepas de *K. pneumoniae* (Aguilar-Ancori *et al.*, 2025).

Em um estudo realizado no Paquistão, o gene ESBL mais detectado em *K. pneumoniae* foi o TEM (81,8 %), alinhando-se com o estudo em questão, que, apesar do percentual ser inferior (62,2%), encontramos uma prevalência maior também, do gene TEM. Já em relação ao SHV, no estudo realizado no Paquistão ocorreu em

27,3% dos isolados (Haider *et al.*, 2022), no nosso, 46,7%. Vale ressaltar, que em muitas estirpes os genes coexistem em ambos os estudos.

Apesar das β -lactamases de espectro estendido conferirem resistência às classes de antimicrobianos já descritas, e serem, normalmente inibidas pelo inibidor de β -lactamases, saber qual o gene presente no patógeno é de grande relevância. De maneira geral, os microrganismos com CTX-M possuem mais capacidade de hidrolisar a ceftriaxona do que a ceftazidima, ao contrário dos que possuem TEM e SHV, que possuem mais resistência à ceftazidima. No entanto, com o surgimento de variantes como CTX-M-1, eles adquiriram a capacidade de hidrolisar a ceftazidima, já outros, são resistentes aos inibidores, como clavulanato, por exemplo (Castanheira; Simner; Bradford, 2021). Esse conhecimento pode direcionar o tratamento e a associação entre antibióticos, quando necessário, trazendo um maior sucesso terapêutico.

Uma outra questão que vale destacar é que como os genes que codificam ESBL estão localizados em plasmídeos transferíveis, outras espécies bacterianas também podem obtê-los e se tornar resistentes a antibióticos aos quais são suscetíveis. Além disso, esses elementos genéticos móveis podem transportar outros genes adicionais de resistência antimicrobiana conferindo resistência a aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, inclusive carbapenêmicos, por exemplo, e fatores de virulência. Eles também facilitam a rápida disseminação por serem transferidos de maneira horizontal dentro da mesma espécie e entre espécies diferentes de microrganismos (Fetahagić *et al.*, 2021; Castanheira; Simner; Bradford, 2021; Falahat; Shojapour; Sadeghi, 2016; Qamar *et al.*, 2025).

No tocante aos genes codificadores de enzimas que hidrolisam carbapenêmicos, o presente trabalho buscou especificamente por três *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} e *bla*_{OXA-48} (Tabela 8). O gene mais prevalente no isolados clínicos analisados foi o *bla*_{KPC} presente em 40 %, seguido de *bla*_{NDM} (8,8 %). A espécie com maior expressividade do gene *bla*_{KPC} foi *P. aeruginosa* (85,7 %), seguido de *K. pneumoniae* (42,3 %). Nenhuma das estirpes apresentaram mais de um gene carbapenêmico concomitantemente, corroborando com os achados de Aguilar-Ancori *et al.* (2025). O gene *bla*_{OXA-48} não foi detectado (Gráfico 2), confirmando resultados descritos por Pons *et al.* (2025) o que já era esperado, devido à sua prevalência. Um estudo publicado em 2024, relatou uma taxa de detecção de 0,4% de genes semelhantes a *bla*_{OXA-48}, na América Latina (Lee *et al.* 2024).

No Paquistão, isolados clínicos de uma UTI de queimados apresentaram o gene *bla_{KPC}* em 27,3%, *bla_{NDM}* (11,4 %) e *bla_{OXA-48}* (20,5 %) (Haider *et al*, 2022). Já no Peru, isolados de *K. pneumoniae* apresentaram *bla_{KPC}* em 7,7% e *bla_{NDM}* em 4,4% (Aguilar-Ancori *et al*, 2025), assim como no presente estudo, *bla_{OXA-48}* não foi identificado. Mohamed *et al.* (2021) relataram que em Assiute, Cidade Egípcia, microrganismos isolados de uma unidade de terapia intensiva apresentaram o gene *bla_{NDM}* em 89,5 %, sendo que as estirpes de *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* positivaram em, aproximadamente, 90 %. No Brasil, um trabalho realizado analisando a evolução da resistência a carbapenêmicos durante 7 anos, com dados de quase todo território nacional, encontrou uma prevalência maior do gene *bla_{KPC}* entre os isolados clínicos, sendo que *K. pneumoniae* apresentou 70,9 % de positividade, *P. aeruginosa*, 11,8 % e *E. coli*, 19,5%. Já no tocante ao gene *bla_{NDM}*, encontraram positividade em 21,9 % de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* 6,8 % e *E. coli* 51,3 %. *A. baumannii* teve uma taxa de detecção abaixo de 1 % para ambos os genes (Kiffer *et al.*, 2023).

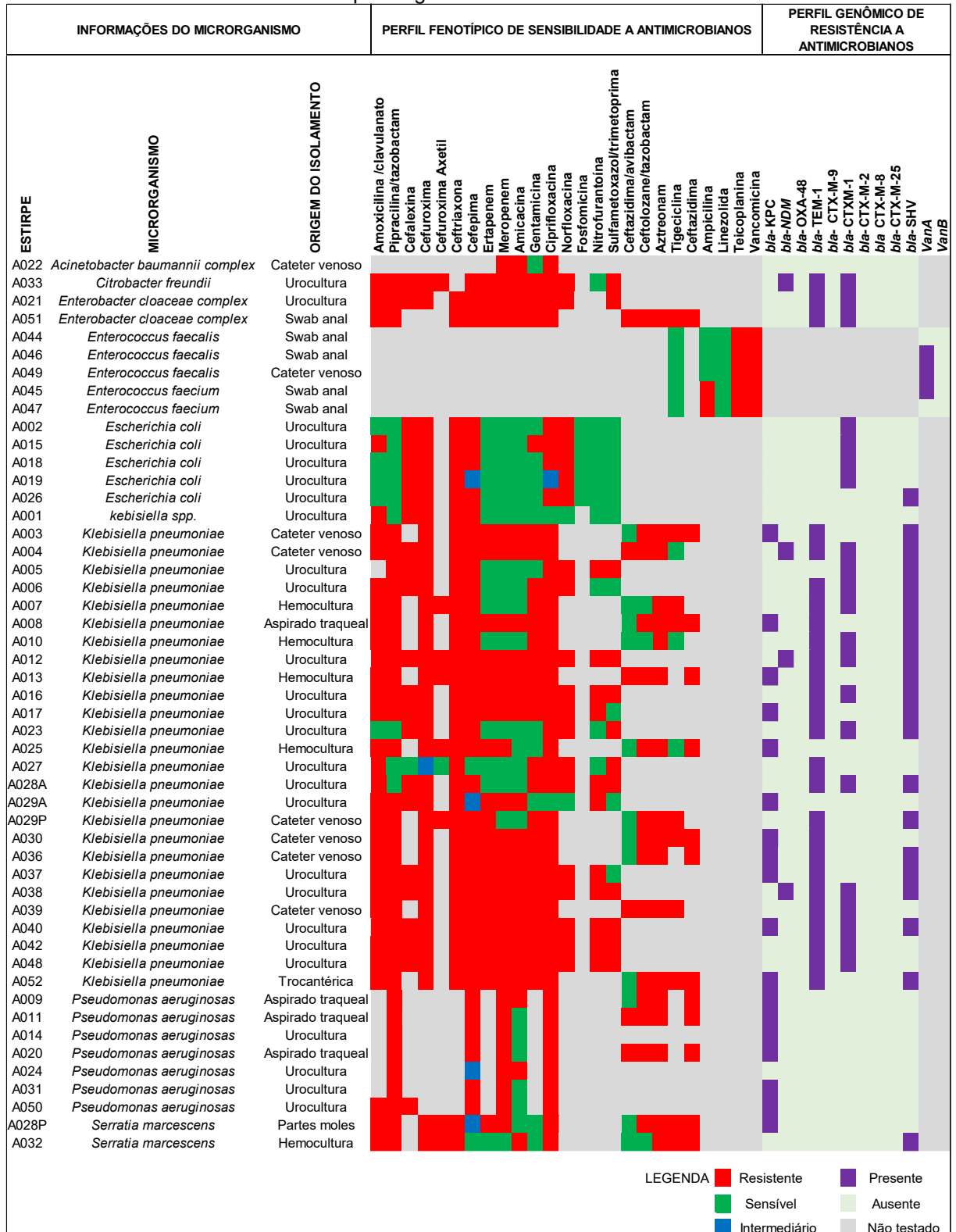
Apesar das taxas de detecção de cada gene serem diferentes, nossos achados confirmam os resultados descritos nos estudos citados, maior prevalência do gene *bla_{KPC}*. Se aproxima da detecção de *bla_{NDM}* no Paquistão e no Peru. Contrariamente aos relatados no Brasil por Kiffer *et al.* (2023), a prevalência maior de *bla_{NDM}* foi em *P. aeruginosa*. Tais diferenças podem estar relacionadas tanto à diferença entre a população, tamanho da amostra, tempo de duração dos estudos, perfil das unidades de saúde, bem como as características específicas de cada local, como por exemplo, política de medicamentos, no Egito os antibióticos são de venda livre (Mohamed *et al.*, 2021), no Brasil, esses fármacos são vendidos de maneira controlada, regidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 20 de 2011 (Brasil, 2011), o que diminui o acesso à essa classe de medicamentos. Além disso, a recente pandemia de COVID-19, associado com o uso de antibióticos em larga escala, pode ter influência (Golli *et al.*, 2025).

Podemos observar também, que das 30 estirpes Gram-negativas que apresentaram resistência ao meropenem, 26,7 % não apresentaram nenhum dos genes carbapenemases testados (gráfico 2). Essas bactérias podem ter outras formas de resistência, carregar carbapenemases não testadas, super expressar ESBL e/ou enzimas *AmpC* combinadas com perda de porina da membrana externa ou fatores de

resistência não enzimáticos, como bombas secretoras, e a ausência de expressão de proteínas de membrana externa (Falahat *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2021).

De maneira geral, o presente estudo apresentou altas taxas de resistência a antimicrobianos e Bactérias Gram-negativas MDR. Inclusive, em 20 % delas coexistiam gene *bla_{KPC}* e, pelo menos um, ESBL e em 8,8% *bla_{NDM}* e, pelo menos, um ESBL. Essas cepas são altamente resistentes e difíceis de tratar e têm cada vez mais surgido nos serviços de saúde. Além da rápida disseminação devido às transferências horizontais de genes, o uso empírico de antimicrobianos pode ter contribuído muito fortemente para selecionar cepas multirresistentes. De maneira geral, o tratamento empírico vem antes do diagnóstico, do resultado da cultura bacteriana. Esse uso, muitas vezes inadequado, tem sido relacionado às respostas inadequadas ao antimicrobianos, principalmente às cefalosporinas de última geração e carbapenêmicos (Mohamed *et al.*, 2021; Haider *et al.*, 2022).

Gráfico 2 - Perfil fenotípico e genético de sensibilidade a antimicrobianos



Representação tipo *heat map* do perfil de sensibilidade a antimicrobianos e presença de genes codificadores de proteínas que conferem, aos microrganismos, resistência às principais classes de antimicrobianos utilizadas atualmente.

Fonte: autoria própria, feito no *microsoft Excel 365®*

No tocante aos microrganismos Gram-positivos, os genes *vanA* e *vanB* que conferem resistência aos glicopeptídeos foram pesquisados nos isolados do gênero *Enterococcus*, os únicos Gram-positivos isolados. Apenas o gene *vanA* foi encontrado, em 60%, sendo 66,7 % *E. faecalis* e 33,7 % *E. faecium*. Da espécie *E. faecium*, 50 % apresentaram o gene e *E. faecalis* em 66,7 %. Nos Estados Unidos da América, em estudo feito com *Enterococcus*, todas as estirpes de *E. faecium* e *E. faecalis* que apresentaram resistência à vancomicina possuíam o gene *vanA* (Kent *et al.*, 2024). Na China, uma pesquisa encontrou *vanA* em 96,4 % das estirpes e, não teve positividade para *vanB* (Pan *et al.*, 2024). Na Índia, isolados de um hospital apresentaram *vanA* em 51,7 % e *vanB* em 48,3 % (Hota; Patil; Mane, 2024). Na região Nordeste do Brasil, Rocha *et al* (2024) encontrou o gene *vanA* em todas as amostras de *Enterococcus* isoladas em um hospital, mas não relata achados de *vanB*. Alinhado com a maioria dos estudos apresentados em partes diferentes do mundo, o nosso estudo não encontrou estirpes com o gene *vanB*.

A ausência de cepas susceptíveis à vancomicina e teicoplanina e com presença do genótipo de resistência em sua maioria (gráfico 2), mostra o desafio que é tratar IRAS provocadas por esses microrganismos. Essa resistência ocorre, principalmente, através de mutações genéticas e obtenção de material genético por transferência horizontal. O gene *vanA* é geralmente encontrado em plasmídeos, o que facilita a disseminação, o que pode justificar essa predominância nos estudos, ele dá às bactérias um alto nível de resistência, substituindo o D-Ala-D-Ala por D-Ala-D-Lac, diminuindo a afinidade dos glicopeptídeos à parede celular. As estirpes com o gene *vanA* são resistentes tanto à vancomicina quanto à teicoplanina, como encontrado em nosso estudo, já o *vanB* confere resistência à vancomicina, mas não à teicoplanina. A presença desses genes exige o desenvolvimento de estratégias de monitoramento e de manejo das infecções, como terapias para conter a crescente disseminação de VRE (Hota; Patil; Mane, 2025 e 2024; Rocha *et al.*, 2024; Pan *et al.*, 2024; Kent *et al.*, 2024).

Quando o material genético é recebido através de plasmídeo, ele pode vir acompanhado de outros genes de resistência e de virulência, o que pode dar ao microrganismo uma maior resistência aos antibacterianos. (Rao *et al.*, 2021; Lopes; Lencastre; Conceição, 2024).

5.3 Caracterização dos microrganismos quanto à presença de fatores de virulência

Os microrganismos isolados foram testados no tocante à presença de fatores de virulência. Hipermucoviscosidade apenas para *K. pneumoniae*, nenhuma das estirpes apresentou o fenótipo. Fímbrias tipo I (para BGN exceto *P. aeruginosa*) foi encontrado em 86,8 % dos microrganismos testados. Todas as amostras foram testadas para cápsula polissacarídica, com positividade em 78 % e biofilme 94% (tabela 9).

Tabela 9: Presença de fatores de virulência

Fator de virulência	Microrganismo					Todos os Isolados (n=50) n (%)
	<i>K. pneumoniae</i> (n=26) n (%)	<i>E. coli</i> (n=5) n (%)	<i>P. aeruginosa</i> (n=7) n (%)	<i>E. faecalis</i> (n=3) n (%)	Outras (n=9) n (%)	
Cápsula polissacarídica	23 (84,5)	4 (80)	5 (71,4)	1 (33,3)	6 (66,7)	39 (78)
Hipermucoviscosidade	0	-	-	-	-	0
Fímbrias tipo I	24 (92,3)	2 (40)	-	-	7 (77,8)	33 (66)
Biofilme	24 (92,3)	4 (80)	7 (100)	3 (100)	9 (100)	47 (94)

Outras bactérias compreendem: *Klebsiella spp* (n=1); *Serratia marcescens* (n=2); *Acinetobacter baumannii complex* (n=1); *Enterobacter cloacae complex* (n=2); *Citrobacter freundii* (n=1); *Enterococcus faecium* (n=2).

Fonte: autoria própria, feito no *Microsoft Excel 365*®

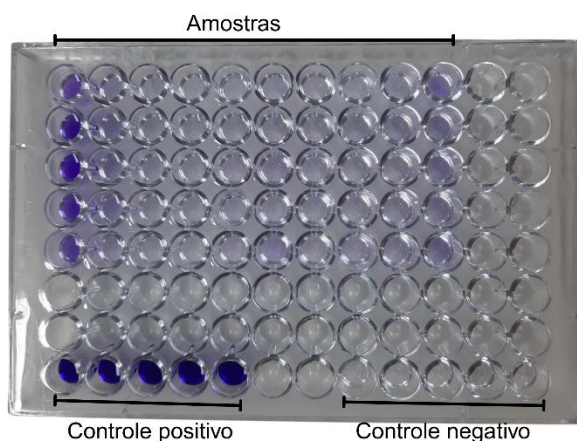
Bactérias que apresentam fatores de virulência além de resistência aos antimicrobianos são consideradas espécies hipervirulentas. Geralmente os genes de virulência e os genes β -lactamaes estão presentes em plasmídeos e podem ser transferidos horizontalmente. Assim, ao adquirir um plasmídeo contendo esses genes o microrganismo pode se tornar mais adaptado à sobrevivência em ambientes hospitalares (Lei *et al.*, 2024; Billane *et al.*, 2021; Rodríguez-Beltrán *et al.*, 2021).

K. pneumoniae, por exemplo, é uma espécie conhecida por possuir cepas hipervirulentas, resistentes a carbapenêmicos, e estarem associadas a infecções invasivas relacionadas a desfechos desfavoráveis (Namikawa *et al.*, 2025). Um estudo desenvolvido no Egito que buscou associar fatores de virulência à resistência a antimicrobianos revelou que 88,3 % das espécies de *K. pneumoniae*, 91,4 % de *E. coli*, 100 % de *A. baumannii* e 71,5 % de *P. aeruginosa* eram formadoras de biofilme. Quanto à hipermucoviscosidade, todas as estirpes de *K. pneumoniae* apresentaram o fenótipo e todas tinham o gene que regula a produção de CPS, assim como as cepas de *E. coli* (Sayed *et al.*, 2025). No Peru, uma pesquisa realizada com cepas de *K.*

pneumoniae encontrou o fenótipo CPS em 100 % das cepas, 93,4 % produziam biofilme e 7,7 % apresentaram HMV (Aguilar-Ancori *et al.*, 2025).

Contrastando com os achados em nosso estudo, nenhuma das amostras de *K. pneumoniae* foi positiva para o fenótipo HMV. Já em relação à formação de biofilme (Figura 6), a taxa de positividade foi superior ao Egito e semelhante ao Peru, para essa espécie (92,3%). Frequentemente, estudos têm mostrado a relação entre a presença de fatores de virulência e maior resistência a medicamentos, principalmente quanto à presença de cápsula polissacarídica e biofilme (Aguilar-Ancori *et al.*, 2025; Sayed *et al.*, 2025; Lei *et al.*, 2024; Rao *et al.*, 2021; Lopes; Lencastre; Conceição, 2024).

Figura 6- Placa de 96 poços utilizada na detecção da produção de biofilme

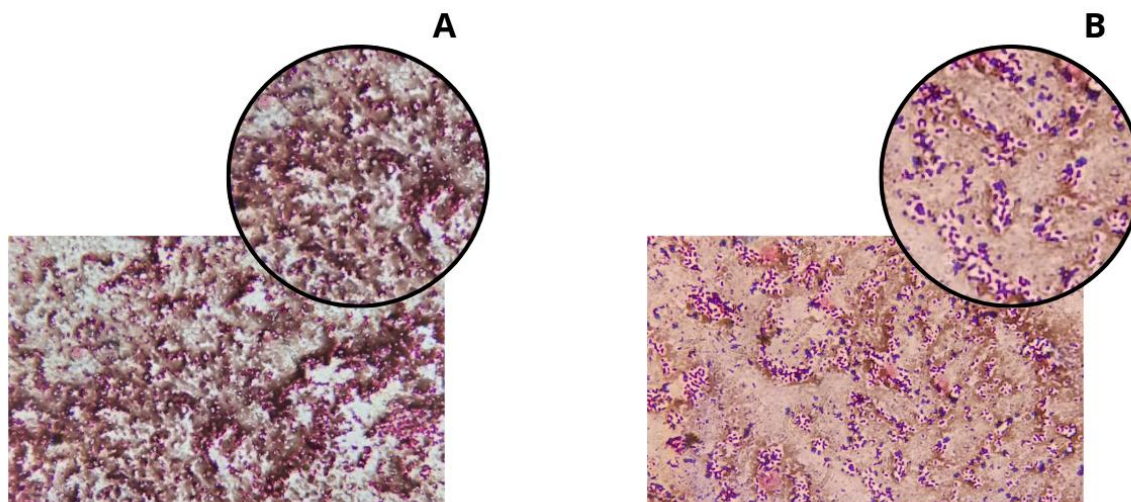


Na imagem está representada uma placa de 96 poços, preparada para leitura em leitor de microplacas. Nela é possível visualizar a distribuição das amostras, controle positivo e negativo
Fonte: autoria própria.

A CPS (Figura 7) é considerada um dos fatores de virulência mais importantes, envolvidos na resistência à morte celular, mediada pelo sistema complemento e a fagocitose mediada pelos neutrófilos (Tian *et al.*, 2022). Apesar da produção de cápsula polissacarídica e HMV serem características distintas dependerem de genes diferentes para a sua expressão (*rmpC* e *rmpD*, respectivamente), a hipermucoviscosidade depende da presença de alguns componentes capsulares, mas estes não precisam ser hiper expressos (Pu *et al.*, 2023; Walker *et al.*, 2019; Lam *et al.*, 2025). A cápsula polissacarídica é uma característica importante das estirpes de *K. pneumoniae*, que serve para sua defesa, contra agentes fagocíticos, porém, em nosso estudo nem todas os isolados dessa espécie apresentam esse fenótipo. Apesar de ser uma característica comum, quando semeada *in vitro*, especialmente em meios ricos em nutrientes, como o LB, por exemplo, ela pode não expressar esse fenótipo,

ou expressar em pouca quantidade (Unverdorben *et al.*, 2025; Liu *et al.*, 2025), que não seja possível ser visualizada através do teste realizado.

Figura 7 - Teste de detecção de cápsula polissacarídica

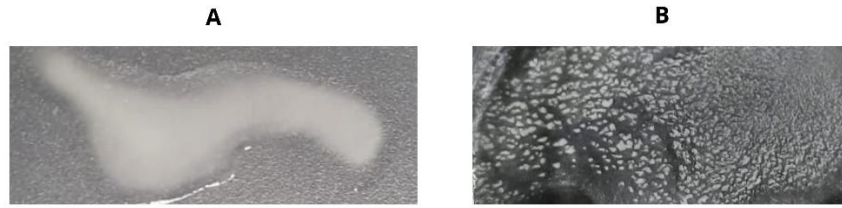


Na imagem A) está representado um teste negativo para produção de CPS, na qual não é possível visualizar o halo ao redor das colônias, a tinta nanquim cora todo o espaço até encostar no corante fucsina que cora a célula por dentro. Em B), pode ser visualizado um resultado positivo para produção de cápsula polissacarídica, no qual aparece um halo ao redor da célula bacteriana corada de rósea, pelo fucsina. Esse halo, é formado pela presença da cápsula polissacarídica, a qual não é corada pela tinta nanquim e nem pelo fucsina. Imagens obtidas por microscopia ótica em objetiva 1000X

Fonte: autoria própria.

As Fímbrias tipo 1 são estruturas em forma de bastonetes encontradas na superfície de inúmeras espécies bacterianas, incluindo patógenos entéricos e podem estar relacionadas tanto na adesão aos tecidos, quanto na defesa contra ataques externos (Dessartine *et al.*, 2024). Em nosso trabalho, 86,8 % das cepas testadas apresentaram este fenótipo (Figura 8). Microrganismos que apresentam essa característica possui uma maior capacidade de adesão ao hospedeiro, além da invasão às células epiteliais se comparado aos da mesma espécie, que não produzem. Além disso essa ligação às células do indivíduo ou às superfícies inanimadas é o primeiro passo para formação do biofilme. Nesse estudo, 91 % das amostras positivas para Fímbrias tipo 1 foram formadoras de biofilme, demonstrando que as estirpes possuem uma alta virulência e capacidade de defesa dos agentes antibacterianos (Liu *et al.*, 2022; Kallas *et al.*, 2020; Piperaki *et al.*, 2017; Isidro-Coxca *et al.*, 2024).

Figura 8 - Teste de detecção de fímbrias tipo 1



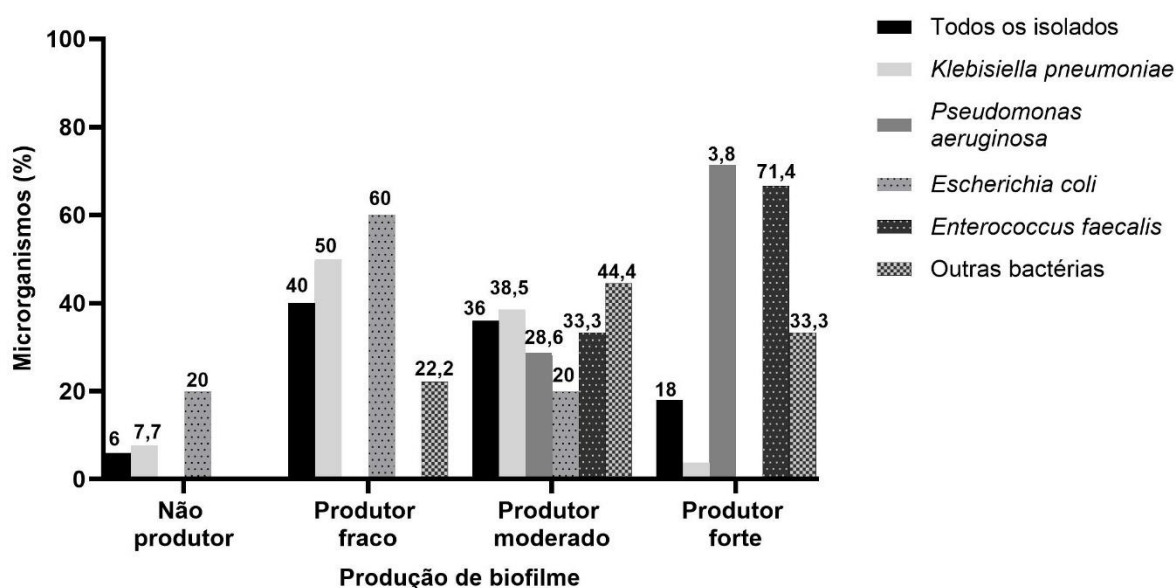
Em A) temos o resultado de um teste negativo para fímbrias tipo 1, no qual não houve aglutinação das células bacterianas às leveduras. Já em B), podemos visualizar os grumos formados pela adesão das células bacterianas às células de levedura, gerada pela afinidade das fímbrias tipo 1 à manose presente na parede celular do *Sacharomyces cerevisiae*.

Fonte: autoria própria.

Um grande desafio é subverter estes fatores de virulência dos microrganismos patogênicos e desenvolver dispositivos médicos, que diminuam, por exemplo, a adesão das bactérias produtoras de Fímbrias tipo 1. A modificação das propriedades das superfícies desses dispositivos pode representar uma maneira de diminuir as infecções nas unidades de saúde (Kallas *et al.*, 2020).

5.3.1 Quantificação da produção de biofilme

Os microrganismos foram classificados quanto à produção de biofilme em: não produtor, produtor fraco, produtor moderado e produtor forte. 40 % foram produtores fracos, 36 % produtores moderados e 18 % produtores fortes de biofilme. A espécie *K. pneumoniae* se destacou tanto em produtor fraco quanto moderado. Em relação à produção forte de biofilme *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, apresentaram os maiores percentuais 100 % (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Classificação das cepas quanto à produção de biofilme

No eixo x está representado o percentual que cada microrganismo apresenta em relação as características que estão elencadas no eixo y, que apresenta a capacidade de produzir ou não o biofilme e sua intensidade. Cada espécie ou grupo de microrganismos está representado como uma cor, conforme legenda à esquerda do gráfico.

Fonte: autoria própria, feito no *GraphPad Prism 10*®

O biofilme representa um importante fator de virulência dos microrganismos, pois aumenta sua resistência a antibióticos, representando desafios no tratamento (Guan *et al.*, 2024). Esses biofilmes protegem as bactérias dos agentes externos, além disso, patógenos que se organizam nessas comunidades podem ser 1000 vezes mais resistentes a antimicrobianos, se compararmos às outras da mesma espécie que não o formam. Somado a isso as bactérias produtoras de biofilme podem sobreviver a escassez extrema de nutrientes. Além dessa proteção, o biofilme contribui com a patogenicidade bacteriana, tornando mais fácil a invasão dos tecidos (Khalil *et al.*, 2022; Law; Tan, 2022; Khan *et al.*, 2020).

Um trabalho realizado com estirpes de *Enterococcus* isolados de um hospital na Arábia Saudita mostrou que havia diferença na resistência a antimicrobianos se comparado as amostras produtoras com as não produtoras de biofilme. Além disso, as produtoras fortes, apresentaram mais resistência do que as produtoras moderadas (Khalil *et al.*, 2022). Estudos realizados com bactérias Gram-negativas também mostraram uma relação entre a capacidade de formação e biofilme e a resistência a múltiplos medicamentos (Sayed *et al.*, 2025; Dan *et al.*, 2023).

Em nosso trabalho, a maioria das amostras foram formadoras de biofilmes 94 %, sendo que o maior percentual foi de produtoras fracas, seguido de moderado e

forte (Gráfico 3). Considerando a espécie, *P. aeruginosa* e *E. faecalis* destacaram-se como as estirpes que apresentaram classificadas como forte produtora. *K. pneumoniae* teve a maioria das cepas como produtoras fracas seguido de moderadas.

A organização das bactérias em comunidades pode contribuir, para o aumento da resistência a antimicrobianos e aumento da virulência, pois o biofilme é pode ser formado também, por multiespécies, que podem compartilhar material genético (Dan *et al*, 2023), transferindo não apenas genes relacionados a resistência a fármacos, mas também fatores de virulência (Lei *et al*, 2024; Billane *et al*, 2021). Independente da relação que possa existir entre resistência e produção de biofilme, estratégias terapêuticas que interfiram na formação do biofilme e/ou no equilíbrio dessas comunidades bacterianas são necessárias para o sucesso terapêutico de infecções causadas por esses microrganismos. Pois dentro do biofilme as bactérias estão adaptadas a baixas condições de oxigênio e podem parar o crescimento (divisão celular), atrapalhando a ação dos antibióticos que agem nas células metabolicamente ativas (Piperaki *et al.*, 2017). Mostrando que é necessário aprimorar os protocolos e as técnicas de enfrentamento desses microrganismos, além de diagnósticos mais avançados, que possam nortear os tratamentos, diminuindo o empirismo.

5.3.2 Pesquisa de genes codificadores de fatores de virulência em estirpes de *P. aeruginosas*

P. aeruginosa é um microrganismo que possui altas taxas de resistência intrínseca a antimicrobianos, além disso, tem a capacidade de secretar enzimas para se proteger das defesas do hospedeiro, gerar nutrientes para sua sobrevivência e gerar um ambiente favorável ao seu crescimento (Swain *et al.*, 2025). Em nosso trabalho, foi pesquisado a presença de genes codificadores de enzimas que conferem as características citadas acima. Todas as amostras 100 % apresentaram todos os genes buscados.

Um trabalho realizado com cepas clínicas de *P. aeruginosa* MDR isoladas de um hospital do Recife-PE encontrou em 100 % das cepas os genes *lasB* e *plcH* (Silva *et al.*, 2021), corroborando com os achados nesse estudo, mas diferenciou-se quanto ao gene *aprA*, que não foi detectado em todas as estirpes. Na China, uma pesquisa com isolados de *P. aeruginosa*, oriundas de um Hospital Universitário infantil, encontrou em 100 % das estirpes os genes *aprA*, *algD*, *plcH*, *plcN*, em relação ao *lasB*

teve uma pequena diferença, com 97,8% de positividade (Yin *et al.*, 2025). Outro trabalho realizado na China encontrou *aprA* e *plcN* em todas as amostras de *P. aeruginosa* MDR (Wang *et al.*, 2025). No Irã, em 100 % das amostras de uma pesquisa também foram detectados *aprA*, *algD*, *plcH* e *lasB*, e *plcN* em 98,78 % (Elahi *et al.*, 2024). Diante dessas altas taxas de detecção desses genes em estudos de locais diferentes do planeta, os resultados encontrados no presente trabalho eram esperados, e chamam a atenção para a importância dessa espécie nas IRAS.

Além disso, vale ressaltar que associados a esses genes, temos presença de biofilme, CPS resistência a meropenem em todas as estirpes, sendo que em 85,7 % foi detectado o gene *bla_{KPC}*. Isso destaca que a presença de cepas de *P. aeruginosa*, especialmente quando possuem um perfil de multirresistência, acompanhado fatores de virulência, representa uma ameaça global, pois estão associadas a infecções de alta gravidade e de difícil tratamento (Wang *et al.*, 2025). Diante disso, estudos que aprofundem o conhecimento dessa espécie e acompanhem a sua evolução são necessários, além do desenvolvimento de métodos diagnósticos mais rápidos e precisos, que possam auxiliar no enfrentamento das infecções e poder direcionar o tratamento mais adequado (Saha *et al.*, 2025).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O patógeno multirresistente mais prevalente no hospital foi *K. pneumoniae*, seguido de *P. aeruginosas* e *E. coli* dentre as Gram-negativas, e *E. faecium* do grupo das Gram-positivas. Estes foram isolados, principalmente da urina de pacientes. No tocante ao perfil de resistência aos antimicrobianos, as cefalosporinas foi a classe de antimicrobianos que apresentou maior taxa de resistência, porém, os carbapenêmicos tiveram um percentual expressivo de resistência, principalmente junto aos isolados de *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*.

No teste fenotípico para a detecção de enzimas betalactamases, as ESBLs foram notadas em maior, prevalência, em relação às carbapenemases. Foram encontradas estirpes com fenótipo positivo para as enzimas, porém não detectado. No teste molecular, o mesmo ocorreu, com positividade no teste molecular e ausência do fenótipo. Quanto aos genes de resistência, o TEM foi mais prevalente entre os ESBLs, inclusive foi observado coexistência de três genes ESBLs no mesmo microrganismo. No tocante aos genes carbapenemases, o *bla_{KPC}*, foi o mais expressivo, sendo *P. aeruginosa* o principal portador. Não foi visualizado genes de resistência a carbapenêmicos coexistindo na mesma estirpe, mas observou-se a existência concomitante de genes ESBLs com carbapenemases. Em relação à resistência à vancomina, todos os isolados Gram-positivos apresentaram resistência e, a maioria apresentou o gene *vanA*.

Os microrganismos expressaram, principalmente o biofilme, dos fatores de virulência testados, com maioria das estirpes como produtoras fracas e moderadas, seguido por fímbrias tipo 1 e cápsula polissacarídica. A hipermucoviscosidade não foi visualizada. Já os isolados de *P. aeruginosas* apresentaram em todas as estirpes, os genes de virulências buscados, *aprA*, *plcN*, *plcH*, *algD* e *lasB*.

Os achados neste trabalho servirão de base para novos estudos, de acompanhamento da evolução dos patógenos, tanto na Unidade de Saúde, como a nível estadual e nacional. Contribuirão ainda para o desenvolvimento e melhorias de protocolos institucionais e clínicos de enfrentamento das IRAS no hospital.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-ANCORI, Elsa Gladys *et al.* Identification of pandemic ST147, ESBL-type β -lactamases, carbapenemases, and virulence factors in *Klebsiella pneumoniae* isolated from southern Peru. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 14870, 28 abr. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-97464-8>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40295561>. Acesso em: 4 ago. 2025.
- ALFOUZAN Wadha *et al.* Molecular Characterization of Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* in a Tertiary Care hospital in Kuwait. **Scientific Reports**. [S.l.] v. 9, n. 18527, p. 1-8, dez 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54794-8>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6898362/>. Acesso em: 27 out 2019.
- ALI, Salah Al *et al.* Phenotypic and molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa* virulence and association with antibiotic resistance in Egypt. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [S.l.], v. 19, n. 05, p. 712–722, mai 2025. DOI: <https://doi.org/10.3855/jidc.20957>. Disponível em: <https://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/40452529>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- ALSOLAMI, Ahmed *et al.* Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals: age-specificity and potential zoonotic-zooanthroponotic transmission dynamics. **Diagnostics (Basel)**, [S.l.], v. 13, n. 12, p. 2089, 16 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics13122089>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37370983/>. Acesso em: 5 jun. 2024.
- ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* Comparação De Métodos Para Extração De Dna Na Reação Em Cadeia Da Polimerase Para Detecção De Salmone62hin62lenrica Sorovar Enteritidis Em Produtos Avícolas. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 12, n. 1, p. 115–119, 2011. DOI: 10.5216/cab.v12i1.3774. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/3774>. Acesso em: 16 out. 2023.
- ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. *The burden of antimicrobial resistance in the Americas in 2019: a cross-country systematic analysis*. **Lancet Regional Health – Americas**, [S.l.], v. 25, p. 100561, 8 ago. 2023. DOI: 10.1016/j.lana.2023.100561 Disponível em: <https://www.thelancet.com/journals/lanam/article/PIIS2667193X23001357/fulltext>. Acesso em: 4 ago. 2025. Erratum em: **Lancet Regional Health – Americas**, v. 28, p. 100632, 10 nov. 2023.
- ANTOCHEVIS, L. C. *et al.* World Health Organization priority antimicrobial resistance in *Enterobacterales*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* healthcare-associated bloodstream infections in Brazil (ASCENSION): a prospective, multicentre, observational study. **Lancet Regional Health – Americas**, [S.l.], v. 43, p. 101004, 30 jan. 2025. DOI: 10.1016/j.lana.2025.101004. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11830303/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

ARABAGHIAN, H. et al. Caracterização molecular de *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella quasipneumoniae* resistentes a carbapenêmicos isoladas do Líbano. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 9, n. 531, 2019. DOI: :10.1038/s41598-018-36554-2. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-36554-2>. Acesso em: 22 out. 2023.

AZRA et al. Antibiotic Susceptibility Patterns and Virulence Profiles of Classical and Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Clinical Samples in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. **Pathogens**, v. 14, n. 1, 2025. DOI: 10.3390/pathogens14010079. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39861040/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

BALEIVANUALALA, S. C. et al. Molecular and clinical epidemiology of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 in Oceania: a multicountry cohort study. **Lancet Regional Health – Western Pacific**, [S.l.], v. 40, art. 100896, 22 set. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2023.100896>. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanwpc/article/PIIS2666-6065\(23\)00214-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanwpc/article/PIIS2666-6065(23)00214-6/fulltext). Acesso em: 5 jun. 2024.

BARATTO, César Milton; MEGIOLARO, Fernanda. Comparação de diferentes protocolos de extração de dna de bactérias para utilização em RAPD-PCR. **Unoesc & Ciência - ACET**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 121–130, 2012. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/acet/article/view/1574>. Acesso em: 16 out. 2023.

BASSETTI, M.; VENA, A.; SEPULCRI, C.; GIACOBBE, D. R.; PEGHIN, M. Treatment of bloodstream infections due to Gram-negative bacteria with difficult-to-treat resistance. **Antibiotics (Basel)**, [S.l.], v. 9, n. 9, art. 632, 22 set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090632>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7558339/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

BERG, Julia Kleve. **Para que serve uma enfermagem de clínica médica?: reflexões a partir de um hospital universitário**. 2015. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Humanas e Saúde; Epidemiologia; Política, Planejamento e Administração em Saúde; Administração) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://www.btdt.uerj.br:8443/handle/1/4326>. Acesso em: 15 out. 2023

BESSAIAH, H.; POKHAREL, P.; HABOURIA, H.; HOULE, S.; DOZOIS, C. M. *yqhG* contributes to oxidative stress resistance and virulence of uropathogenic *Escherichia coli* and identification of other genes altering expression of type 1 fimbriae. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.l.], v. 9, art. 312, 29 ago. 2019. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00312. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31555608/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

BILLANE, K.; HARRISON, E.; CAMERON, D.; BROCKHURST, M. A. Why do plasmids manipulate the expression of bacterial phenotypes? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S.l.], v. 377, n. 1842, art. 20200461, 17 jan. 2022. Publicado online em: 29 nov. 2021.

<https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0461>. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8628079/>. Acesso em 04 ago. 2025.

BITTENCOURT, A. A. *et al.* Activity of ceftolozane/tazobactam and comparators against gram-negative bacilli: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART - Brazil), 2018–2021. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S.l.], v. 29, n. 1, art. 104497, jan./fev. 2025. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2024.104497>. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11699052/#sec0007>. Acesso em: 3 ago. 2025.

BOONYASIRI, A. *et al.* Genomic and clinical characterisation of multidrug-resistant carbapenemase-producing ST231 and ST16 *Klebsiella pneumoniae* isolates colonising patients at Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand from 2015 to 2017. **BMC Infectious Diseases**, [S.l.], v. 21, n. 1, art. 142, 4 fev. 2021. DOI:
<https://doi.org/10.1186/s12879-021-05790-9>. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm-nih.ez20.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC7859894/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7859894/). Acesso em: 27 out. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Programa Nacional de Prevenção e Controle De Infecções Relacionadas À Assistência À Saúde (Pnpcciras) 2021 a 2025**. Brasília, 05 mar. 2021. Disponível em:
https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpcciras_2021_2025.pdf. Acesso em: 25 out. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica**. Brasília: Anvisa, 2020. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf. Acesso em: 20 out. 2023.

BRASIL. Hospital Universitário de Lagarto – HUL – UFS. Portal Brasileiro de Dados Abertos, 2022. Disponível em: <https://dados.gov.br/organization/about/hospital-universitario-de-lagarto-hul-ufs>. Acesso em: 28 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Educação. Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares, 13 mar. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/acesso-a-informacao/institucional/sobre>. Acesso em: 28 out. 2023

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 7, de 24 de fevereiro de 2010. Dispõe sobre os requisitos mínimos para funcionamento de Unidades de Terapia Intensiva e dá outras providências. **Diário oficial da União**. Brasília, DF, 2010. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0007_24_02_2010.html#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20os%20requisitos%20m%C3%ADnimos,o%20inciso%20IV%20do%20Art. Acesso em: 15 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES). Consulta Estabelecimento – Módulo Hospitalar – Leitos, 2023. Disponível em:

https://cnes2.datasus.gov.br/Mod_Hospitalar.asp?VCo_Unidade=2803506568343. Acesso em: 15 out. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 20, de 5 de maio de 2011. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos de uso sob prescrição. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 85, p. 47–49, 6 maio 2011. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0020_05_05_2011.html. Acesso em: 11 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.130, de 5 de agosto de 2015. Institui a Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Criança (PNAISC) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 2015.

Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2015/prt1130_05_08_2015.html. Acesso em: 15 out. 2023.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (BrCAST). **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos de inibição**, versão 13, 2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-15-03-2023.pdf>. Acesso em: 19 out. 2023.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (BrCAST). **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos**, versão 15.0, 2025. Disponível em:

<https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 03 ago. 2025.

BROLUND, A. *et al.* Dynamics of resistance plasmids in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during postinfection colonization. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.l.], v. 63, n. 4, art. e02201-18, 27 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02201-18>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437490/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

BRUIJNS, Brigitte *et al.* Performance of Spectrophotometric and Fluorometric DNA Quantification Methods. **Analytica**, v. 3, n. 3, p. 371–384, 2022. DOI: 10.3390/analytica3030025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-4532/3/3/25>. Acesso em 07 ago. 2025.

BUSH, K.; BRADFORD, P. A. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 33, n. 2, art. e00047-19, 26 fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32102899/>. Acesso em: 2 out. 2023.

CANGUI-PANCHI, S. P. *et al.* Biofilm-forming microorganisms causing hospital-acquired infections from intravenous catheter: a systematic review. **Current Research in Microbial Sciences**, [S.l.], v. 3, art. 100175, 17 nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100175>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36518176/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CARVALHO, T. N. *et al.* Evaluation of in-vitro susceptibility of β -lactam-resistant Gram-negative bacilli to ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam from clinical samples of a general hospital in southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.l.], v. 56, art. e0277-2022, 23 jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0277-2022>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36700602/>. Acesso em: 03 ago. 2025.

CASTANHEIRA, M.; SIMNER, P. J.; BRADFORD, P. A. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. **JAC-Antimicrobial Resistance**, [S.l.], v. 3, n. 3, art. dlab092, 16 jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34286272/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CHAUURASIA, S. *et al.* Neonatal sepsis in South Asia: huge burden and spiralling antimicrobial resistance. **BMJ**, [S.l.], v. 364, art. k5314, 22 jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.k5314>. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/364/bmj.k5314>. Acesso em: 03 ago. 2025.

CHEN, Xiaoying *et al.* Distribution patterns and evolution of antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria within the intensive care unit of a tertiary hospital from 2019 to 2024. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, n. May, p. 1–10, 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1587132. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12119562/#sec21>. Acesso em: 10 ago. 2025.

CHOBY, J. E.; HOWARD-ANDERSON, J.; WEISS, D. S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* – clinical and molecular perspectives. **Journal of Internal Medicine**, [S.l.], v. 287, n. 3, p. 283–300, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/joim.13007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31677303/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of Molecular Evolution**, [S. l.], v. 88, n. 1, p. 26–40, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31659373/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). Parecer CFM nº 24/2019: definições de unidade de terapia intensiva e unidade de cuidados intermediários. Brasília, DF, 20 set. 2019. Disponível em: https://sistemas.cfm.org.br/normas/arquivos/pareceres/BR/2019/24_2019.pdf. Acesso em: 15 out. 2023.

COPPOLA, N. *et al.* Epidemiology, mechanisms of resistance and treatment algorithm for infections due to carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an expert panel opinion. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 1263, 17 set. 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091263>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9495208/>. Acesso em: 25 out. 2023.

COSTA, Jéssica Endy Scariot; NOGUEIRA, Keite da Silva; CUNHA, Clóvis Arns da. Carbapenem-resistant bacilli in a hospital in southern Brazil: prevalence and therapeutic implications. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 24, n. 5, p. 380–385, 2020. DOI: 10.1016/j.bjid.2020.07.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32866434/>. Acesso em 7 ago. 2025

CRÉPIN, S. *et al.* Decreased expression of type 1 fimbriae by a *pst* mutant of uropathogenic *Escherichia coli* reduces urinary tract infection. **Infection and Immunity**, [S. l.], v. 80, n. 8, p. 2802–2815, ago. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00162-12>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3434566/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

CUNHA, Anna Karenine Brauna *et al.* Surto De Klebsiella Pneumoniae Resistente Aos Carbapenêmicos Em Unidade De Terapia Intensiva (Uti) Adulto Destinada a Internação De Pacientes Com Covid-19 Em Hospital Privado Em Salvador (Ba). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 101955, 2022. DOI: 10.1016/j.bjid.2021.101955. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867021004244>. Acesso em: 7 ago. 2025.

DAGA, A. P. *et al.* *Escherichia coli* bloodstream infections in patients at a university hospital: virulence factors and clinical characteristics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 9, p. 191, 6 jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00191>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6563721/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DAI, P.; HU, D. The making of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, [S. l.], v. 36, n. 12, e24743, dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.24743>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36347819/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

DAN, B. *et al.* Relationship between drug resistance characteristics and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* strains. **Infection and Drug Resistance**, [S. l.], v. 16, p. 985–998, 17 fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S396609>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9942501/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DANTAS, L. F. *et al.* Predicting acquisition of carbapenem-resistant Gram-negative pathogens in intensive care units. **Journal of Hospital Infection**, [S. l.], v. 103, n. 2, p. 121–127, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.04.013>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31039381/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DARBY, E. M. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 280–295, mai. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41579-022-00820-y>. Acesso em: 5 jun. 2024.

DE PASCALE, Gennaro *et al.* Incidence of hospital-acquired infections due to carbapenem-resistant Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients in Italy: a multicentre prospective cohort study. **Critical Care**, v. 29, n. 1, p. 1–12, 2025. DOI: 10.1186/s13054-025-05266-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ez20.periodicos.capes.gov.br/39825453/>. Acesso em: 09 ago. 2025.

DE ROSA, M. *et al.* The odd couple(s): an overview of beta-lactam antibiotics bearing more than one pharmacophoric group. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 617, 9 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020617>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33435500/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

DESIDERIO, D. M. *et al.* O impacto da pandemia por COVID-19 na resistência antimicrobiana para os Gram negativos em ambiente hospitalar. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, e102257, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.102257>. Disponível em: <http://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8829288/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

DESSARTINE, M. M. *et al.* Type 1 fimbriae-mediated collective protection against type 6 secretion system attacks. *mBio*, [S. l.], v. 15, n. 4, e0255323, 10 abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.02553-23>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38497656/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

DIMARTINO, Valentina *et al.* Screening of *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* Strains with Multi-Drug Resistance and Virulence Profiles Isolated from an Italian Hospital between 2020 and 2023. **Antibiotics**, v. 13, n. 6, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13060561. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38927227/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

DROHAN, S. E. *et al.* Incentivizing hospital infection control. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 116, n. 13, p. 6221–6225, 26 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1812231116>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6442548/>. Acesso em: 25 out. 2023.

ECDC. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2023. **European Centre for Disease Prevention and Control**, v. 174, n. November, p. 1–51, 2024. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-eueea-ears-net-annual-epidemiological-report-2023>. Acesso em 09 ago. 2025.

EDWARD, Eva A. *et al.* Phenotypic and molecular characterization of extended spectrum- and metallo- beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Egypt. **Infection**, v. 52, n. 6, p. 2399–2414, 2024. DOI: 10.1007/s15010-024-02297-8. Disponível em: <http://pmc-ncbi.nlm.nih.gov/ez20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC11621155/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

EICHEL, V. M. *et al.* Epidemiology and outcomes of vancomycin-resistant *enterococcus* infections: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Hospital**

Infection, v. 141, p. 119–128, 2023. DOI: 10.1016/j.jhin.2023.09.008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37734679/>. Acesso em: 8 ago 2025.

EL-FAR, Shaymaa W.; ABUKHATWAH, Mohamed W. Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Taif, Saudi Arabia—An Emergence Indicative Study. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11092293. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10537265/#app1-microorganisms-11-02293>. Acesso em 8 ago. 2025.

EL HUSSEINI, N.; CARTER, J. A.; LEE, V. T. Urinary tract infections and catheter-associated urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [S. l.], v. 88, n. 4, e0006622, 18 dez. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/mmbr.00066-22>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39431861/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

ELADAWY, M.; THOMAS, J. C.; HOYLES, L. Phenotypic and genomic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from catheter-associated urinary tract infections in an Egyptian hospital. **Microbial Genomics**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 001125, out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001125>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37902186/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

ELAHI, G. *et al.* Antimicrobial resistance, virulence gene profiling, and genetic diversity of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Mazandaran, Iran. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 546, 28 dez. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03707-5>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39732629/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

ESTALEVA, Calvina E. L. *et al.* High prevalence of multidrug resistant ESBL- and plasmid mediated AmpC-producing clinical isolates of *Escherichia coli* at Maputo Central Hospital, Mozambique. **BMC Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p. 4–9, 2021. DOI: 10.1186/s12879-020-05696-y. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33407206/>. Acesso em: 7 ago. 2025.

EUROPEAN ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. The burden of bacterial antimicrobial resistance in the WHO European region in 2019: a cross-country systematic analysis. **Lancet Public Health**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. e897–e913, nov. 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(22\)00225-0](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(22)00225-0). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36244350/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

FACCIOLÀ, G. F. *et al.* The role of the hospital environment in the healthcare-associated infections: a general review of the literature. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 1266-1278, 2019. DOI: 10.26355/eurrev_201902_17020. Disponível em: <https://www.europeanreview.org/article/17020>. Acesso em: 25 out. 2023.

FALAHAT, S.; SHOJAPOUR, M.; SADEGHI, A. Detection of KPC Carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical samples using Modified Hodge Test and Boronic Acid Phenotypic Methods and their comparison with the Polymerase Chain Reaction. **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 9, n. 9, e27249, 3

mar. 2016. DOI: 10.5812/jjm.27249. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5081002/>. Acesso em: 03 ago. 2025.

FAZELI, N.; MOMTAZ, H. Virulence gene profiles of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian hospital infections. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, [S. l.], v. 16, n. 10, e15722, 5 out. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4329751/>. Acesso em: 28 out. 2023.

FEASEY, N. *et al.* Insights of SEDRIC, the Surveillance and Epidemiology of Drug-Resistant Infections Consortium. **Wellcome Open Research**, London, v. 10, p. 5, 13 jan. 2025. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.23494.1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40062317/>. Acesso em: 04 ago 2025.

FETAHAGIĆ, M. *et al.* Detection and characterisation of extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamase produced by *Escherichia coli* isolates found at poultry farms in Bosnia and Herzegovina. **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju**, Zagreb, v. 72, n. 4, p. 305–314, 30 dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.2478/aiht-2021-72-3560>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8785107/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

FILHO, Raphael Lucio Andreatti *et al.* Comparação de métodos para extração de dna na reação em cadeia da polimerase para detecção de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis em produtos avícolas. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 12, n. 1, p. 115–119, 2011. DOI: 10.5216/cab.v12i1.3774. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/3774>. Acesso em: 3 ago. 2025.

FOCHAT, R. C. *et al.* Prevalence and molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in patients from a public referral hospital in a non-metropolitan region of Brazil during and post the SARS-CoV-2 pandemic. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 55, n. 4, p. 3873–3884, dez. 2024. DOI: 10.1007/s42770-024-01531-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39352656/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

GAD, Mohamed H.; ABDELAZIZ, Hesham H. Catheter-Associated Urinary Tract Infections in the Adult Patient Group: A Qualitative Systematic Review on the Adopted Preventative and Interventional Protocols From the Literature. **Cureus**, v. 13, n. April, 2021. DOI: 10.7759/cureus.16284. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34422457/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

GARVEY, M. Medical device-associated healthcare infections: sterilization and the potential of novel biological approaches to ensure patient safety. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 201, 22 dez. 2023. DOI: 10.3390/ijms25010201. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38203372/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

GHANEM, S. M. *et al.* Prevalence of quorum sensing and virulence factor genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients suffering from different infections and their association with antimicrobial resistance. **Infection and Drug**

Resistance, [S. l.], v. 16, p. 2371–2385, 21 abr. 2023. DOI: 10.2147/IDR.S403441. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37113530/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

GHAZVINIAN, Maryam *et al.* Antimicrobial resistance patterns, virulence genes, and biofilm formation in enterococci strains collected from different sources. **BMC Infectious Diseases**, v. 24, n. 1, p. 1–12, 2024. DOI: 10.1186/s12879-024-09117-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38438983/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

GHIA, C. J.; WAGHELA, S.; RAMBHAD, G. A systemic literature review and meta-analysis reporting the prevalence and impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in India. **Infectious Diseases (Auckland)**, [S. l.], v. 13, p. 1178633720970569, 5 nov. 2020. DOI: 10.1177/1178633720970569. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33223835/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

GIULIERI, S. G.; TONG, S. Y. C.; WILLIAMSON, D. A. Using genomics to understand meticillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Microbial Genomics**, [S. l.], v. 6, n. 1, e000324, jan. 2020. DOI: 10.1099/mgen.0.000324. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7067033/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

GOLLI, Andreea Loredana *et al.* The Impact of the COVID-19 Pandemic on the Antibiotic Resistance of Gram-Negative Pathogens Causing Bloodstream Infections in an Intensive Care Unit. **Biomedicines**, v. 13, n. 2, p. 1–15, 2025. DOI: 10.3390/biomedicines13020379. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/13/2/379>. Acesso em: 10 ago. 2025.

GUAN, L. *et al.* Global status of antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecalis* isolates: systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 23, n. 1, p. 80, 24 ago. 2024. DOI: 10.1186/s12941-024-00728-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39182092/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

GUO, Yingyi *et al.* Ceftazidime-avibactam resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* accompanied hypermucoviscosity acquisition. **BMC Microbiology**, v. 24, n. 1, 2024. DOI: 10.1186/s12866-024-03508-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39468460/>. Acesso em 07 ago. 2025.

HARDING-CROOKS, Richard *et al.* Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and associated resistance determinants through global food systems. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 22, n. 4, p. 2706–2727, 2023. DOI: 10.1111/1541-4337.13159. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.13159>. Acesso em 05 ago. 2025.

HAIDER, M. H. *et al.* Detection of carbapenemases blaOXA48-blaKPC-blaNDM-blaVIM and extended-spectrum- β -lactamase blaOXA1-blaSHV-blaTEM genes in Gram-negative bacterial isolates from ICU burns patients. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 18, 19 maio 2022. Erratum em: *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 34, 7 jul.

2022. DOI: 10.1186/s12941-022-00510-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35590320/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HAMMOUDI HALAT, D.; AYOUB MOUBARECK, C. The current burden of carbapenemases: review of significant properties and dissemination among Gram-negative bacteria. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 186, 16 abr. 2020. DOI: 10.3390/antibiotics9040186. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7235769/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

HANNA, M. *et al.* Infant isolation and cohorting for preventing or reducing transmission of healthcare-associated infections in neonatal units. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. CD012458, 27 jun. 2023. DOI: 10.1002/14651858.CD012458.pub2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37368649/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

HO, C. S. *et al.* Antimicrobial resistance: a concise update. **The Lancet Microbe**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 100947, jan. 2025. DOI: 10.1016/j.lanmic.2024.07.010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39305919/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HOCHSTEDLER-KRAMER, B. R. *et al.* Comparative genomic analysis of clinical *Enterococcus faecalis* distinguishes strains isolated from the bladder. **BMC Genomics**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 752, 7 dez. 2023. DOI: 10.1186/s12864-023-09818-z. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10701997/>. Acesso em: 28 jun. 2025.

HOTA, S.; PATIL, S. R.; MANE, P. M. Antimicrobial resistance profile of enterococcal isolates from clinical specimens at a tertiary care hospital in Western Maharashtra, India. **Cureus**, [S. l.], v. 16, n. 11, p. e73416, 10 nov. 2024. DOI: 10.7759/cureus.73416. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39664120/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HOTA, S.; PATIL, S. R.; MANE, P. M. *Enterococcus*: understanding their resistance mechanisms, therapeutic challenges, and emerging threats. **Cureus**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. e79628, 25 fev. 2025. DOI: 10.7759/cureus.79628. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40151755/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

HUANG, C. *et al.* Global trends in antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium*: a systematic review and meta-analysis of clinical isolates. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 16, p. 1505674, 7 abr. 2025. DOI: 10.3389/fphar.2025.1505674. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40260375/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

HUSSAIN, H. I. *et al.* Genetic basis of molecular mechanisms in β -lactam resistant gram-negative bacteria. **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], v. 158, p. 105040, set. 2021. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105040. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34119627/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

HYUN, Miri; LEE, Ji Yeon; KIM, Hyun Ah. Clinical and Microbiologic Analysis of *Klebsiella pneumoniae* Infection: Hypermucoviscosity, Virulence Factor, Genotype, and Antimicrobial Susceptibility. **Diagnostics**, v. 14, n. 8, 2024. DOI:

10.3390/diagnostics14080792. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11048833/#sec4-diagnostics-14-00792>. Acesso em 07 ago. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Cidades e Estados: dados populacionais estimados – 1º de julho de 2024. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/>. Acesso em: 27 jul. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. IBGE divulga atualização anual das estruturas territoriais do país. Agência de Notícias, Rio de Janeiro, 18 dez. 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/42251-ibge-divulga-atualizacao-anual-das-estruturas-territoriais-do-pais>. Acesso em: 27 jul. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Cidades e Estados do Brasil. 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/>. Acesso em: 15 out. 2023.

ISIDRO-COXCA, M. I.; ORTIZ-JIMÉNEZ, S.; PUENTE, J. L. Type 1 fimbria and P pili: regulatory mechanisms of the prototypical members of the chaperone-usher fimbrial family. **Archives of Microbiology**, [S. l.], v. 206, n. 9, p. 373, 10 ago. 2024. DOI: 10.1007/s00203-024-04092-3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39127787/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

JABER, M. A. *et al.* Knowledge, practices, and nasal carriage rate of MRSA amongst dental professionals. **International Dental Journal**, [S. l.], v. 74, n. 2, p. 199–206, abr. 2024. DOI: 10.1016/j.identj.2023.07.170. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37612155/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

JARA, M. C. *et al.* Multidrug-resistant hospital bacteria: epidemiological factors and susceptibility profile. **Microbial Drug Resistance**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 433–440, mar. 2021. DOI: 10.1089/mdr.2019.0209. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32706621/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

Jl, Q. Y. *et al.* The effect of different organic acids and their combination on the cell barrier and biofilm of *Escherichia coli*. **Foods**, [S. l.], v. 12, n. 16, p. 3011, 10 ago. 2023. DOI: 10.3390/foods12163011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10453431/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

KAKARASKOSKA BOCESKA, B. *et al.* Assessment of three antibiotic combination regimens against Gram-negative bacteria causing neonatal sepsis in low- and middle-income countries. **Nature Communications**, [S. l.], v. 15, p. 3947, 2024. DOI: 10.1038/s41467-024-48296-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-48296-z>. Acesso em: 3 ago. 2025.

KALLAS, P. *et al.* Adhesion of *Escherichia coli* to nanostructured surfaces and the role of type 1 fimbriae. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. 2247, 2020. DOI: 10.3390/nano10112247. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33198386/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KAMEL, N. A. *et al.* Insights on the performance of phenotypic tests versus genotypic tests for the detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in resource-limited settings. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 248, 14 out. 2022. DOI: 10.1186/s12866-022-02660-5. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36229768/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KARAKONSTANTIS, S.; KRITSOTAKIS, E. I.; GIKAS, A. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: a systematic review of current epidemiology, prognosis and treatment options. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 75, n. 2, p. 271–282, fev. 2020. DOI: 10.1093/jac/dkz401. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31586417/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KARAKONSTANTIS, S.; KRITSOTAKIS, E. I.; GIKAS, A. Treatment options for *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. **Infection**, [S. l.], v. 48, n. 6, p. 835–851, dez. 2020. DOI: 10.1007/s15010-020-01520-6. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32875545/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KARAMPATAKIS, T.; TSERGOULI, K.; BEHZADI, P. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 234, 21 jan. 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12020234. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36830145/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

KATANI, R. *et al.* Strain and host-cell dependent role of type-1 fimbriae in the adherence phenotype of super-shed *Escherichia coli* O157:H7. **International Journal of Medical Microbiology**, [S. l.], v. 311, n. 4, p. 151511, mai. 2021. DOI: 10.1016/j.ijmm.2021.151511. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33975122/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KENT, A. G. *et al.* Sentinel surveillance reveals phylogenetic diversity and detection of linear plasmids harboring *vanA* and *optrA* among enterococci collected in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 68, n. 11, e0059124, 6 nov. 2024. DOI: 10.1128/aac.00591-24. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39404260/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KHALIL, M. A. *et al.* Antibiotic resistance and biofilm formation in *Enterococcus* spp. isolated from urinary tract infections. **Pathogens**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 34, 25 dez. 2022. DOI: 10.3390/pathogens12010034. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36678381/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

KHAN, F. *et al.* Antibiotics application strategies to control biofilm formation in pathogenic bacteria. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 270–286, 2020. DOI: 10.2174/1389201020666191112155905. PMID: 31721708. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31721708/>. Acesso em 03 ago. 2025.

KIFFER, C. R. V. *et al.* A 7-year Brazilian national perspective on plasmid-mediated carbapenem resistance in *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, and

Acinetobacter baumannii complex and the impact of the coronavirus disease 2019 pandemic on their occurrence. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 77, supl. 1, p. S29–S37, 5 jul. 2023. DOI: 10.1093/cid/ciad260. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37406041/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

KIFFER, C. R. V. *et al.* Exploratory model for estimating occupation-day costs associated to hospital related infections based on data from national prevalence project: IRAS Brasil Project. **Journal Infection Control**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 30-33, 2015. Disponível em: <https://doczz.com.br/doc/56170/exploratory-model-for-estimating-occupation>. Acesso em: 2 ago. 2025.

LAM, M. M. C. *et al.* Genomic and functional analysis of *rmp* locus variants in *Klebsiella pneumoniae*. **Genome Medicine**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 36, 9 abr. 2025. DOI: 10.1186/s13073-025-01461-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40205597/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

LAW, S. K. K.; TAN, H. S. The role of quorum sensing, biofilm formation, and iron acquisition as key virulence mechanisms in *Acinetobacter baumannii* and the corresponding anti-virulence strategies. **Microbiological Research**, [S. l.], v. 260, p. 127032, jul. 2022. DOI: 10.1016/j.micres.2022.127032. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35483311/>. Acesso em: 4 ago. 2025.

LEE, Yu Lin *et al.* Global epidemiology and antimicrobial resistance of Enterobacterales harbouring genes encoding OXA-48-like carbapenemases: insights from the results of the Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance (ATLAS) programme 2018-2021. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 79, n. 7, p. 1581–1589, 2024. DOI: 10.1093/jac/dkaf140. Disponível em: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.ez20.periodicos.capes.gov.br/38758189/>. Acesso em 10 ago. 2025.

LEI, T.-Y. *et al.* Hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a global public health threat. **Microbiological Research**, [S. l.], v. 288, p. 127839, 1 nov. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127839>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944501324002404?via%3Di> hub. Acesso em: 27 jul. 2025.

LI, Xiao Yan *et al.* The Distribution, Drug Susceptibility, and Dynamic Trends of *Pseudomonas aeruginosa* Infection in a Tertiary Hospital in China During 2016–2022. **Infection and Drug Resistance**, v. 16, n. May, p. 3525–3533, 2023. DOI: 10.2147/IDR.S408956. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10246564/#s0003>. Acesso em: 8 ago. 2025.

LI, G.; WALKER, M. J.; DE OLIVEIRA, D. M. P. Vancomycin resistance in *Enterococcus* and *Staphylococcus aureus*. **Microorganisms**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 24, 21 dez. 2022. DOI: 10.3390/microorganisms11010024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36677316/>. Acesso em: 2 out. 2023.

LI, J. *et al.* Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence factors of *Enterococcus faecalis* from ducks at slaughterhouses. **Poultry Science**, [S. l.], v. 101, n. 4, p. 101646, abr. 2022. Epub 4 dez. 2021. DOI:

10.1016/j.psj.2021.101646. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35172230/>. Acesso em: 19 out. 2023.

LIMA, L. M. *et al.* β -lactam antibiotics: an overview from a medicinal chemistry perspective. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 208, p. 112829, 15 dez. 2020. Epub 16 set. 2020. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112829. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33002736/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

LIN, T. L. *et al.* Risk factors and mortality associated with multi-drug-resistant Gram-negative bacterial infection in adult patients following abdominal surgery. **Journal of Hospital Infection**, [S. l.], v. 119, p. 22–32, jan. 2022. Epub 7 out. 2021. DOI: 10.1016/j.jhin.2021.09.021. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34627933/>. Acesso em: 25 out. 2023.

LITWIN, A.; FEDOROWICZ, O.; DUSZYNSKA, W. Characteristics of microbial factors of healthcare-associated infections including multidrug-resistant pathogens and antibiotic consumption at the university intensive care unit in Poland in the years 2011–2018. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S. l.], v. 17, n. 19, p. 6943, 23 set. 2020. DOI: 10.3390/ijerph17196943. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/19/6943>. Acesso em 03 ago. 2025.

LIU, Xiaoxuan *et al.* Capsular polysaccharide enables *Klebsiella pneumoniae* to evade phagocytosis by blocking host-bacteria interactions. **mBio**, v. 16, n. 3, p. 1–16, 2025. DOI: 10.1128/mbio.03838-24. Disponível em: <https://pmc-ncbi.nlm.nih.gov/ez20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC11898582/>. Acesso em: 120 ago. 2025.

LIU, J. H. *et al.* Plasmid-mediated colistin-resistance genes: *mcr*. **Trends in Microbiology**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 365–378, abr. 2024. Epub 25 nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.10.006>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X23002950>. Acesso em: 5 jun. 2024. DOI: 10.1016/j.tim.2023.10.006.

LIU, Q. *et al.* Type I fimbriae subunit *fimA* enhances *Escherichia coli* biofilm formation but affects L-threonine carbon distribution. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 10, p. 904636, 21 out. 2022. DOI: 10.3389/fbioe.2022.904636. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36338119/>. Acesso em 01 ago. 2025.

LIU, Y. *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from ready-to-eat foods: genetic diversity and antibiotic susceptibility. **Food Science & Nutrition**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 5565–5572, 27 jun. 2023. DOI: 10.1002/fsn3.3513. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.3513>. Acesso em: 2 out. 2023.

LOPES, J.; DE LENCASTRE, H.; CONCEIÇÃO, T. Genomic analysis of *Enterococcus faecium* from non-clinical settings: antimicrobial resistance, virulence, and clonal population in livestock and the urban environment. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 15, p. 1466990, 11 set. 2024. DOI:

10.3389/fmicb.2024.1466990. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39323892/>. Acesso em: 30 jul. 2025.

MACESIC, N.; UHLEMANN, A. C.; PELEG, A. Y. Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. **The Lancet**, v. 405, n. 10474, p. 257–272, 18 jan. 2025. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)02081-6. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36470275/>. acesso em: 30 JUL. 2025

MAGUIGAN, K. L.; AL-SHAER, M. H.; PELOQUIN, C. A. Beta-lactams dosing in critically ill patients with Gram-negative bacterial infections: A PK/PD approach. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. 1154, 24 set. 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10101154. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8532626/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

MACHADO, Luiz Gustavo *et al.* The burden of healthcare-associated infections in Brazil: multi-hospital point prevalence using a matched case-control study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 143, n. 2, p. 1–8, 2025. DOI: 10.1590/1516-3180.2023.0307.R1.03072024. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12037148/>. Acesso em 05 ago. 2025.

MEHTA, Y. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Intensive Care Unit setting of India: a review of clinical burden, patterns of prevalence, preventive measures, and future strategies. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 55–62, jan. 2020. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23337. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7050173/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

MENG, M.; LI, Y.; YAO, H. Plasmid-mediated transfer of antibiotic resistance genes in soil. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 525, 14 abr. 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11040525. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9024699/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

MIKEI, Laura A. *et al.* **A systematic analysis of hypermucoviscosity and capsule reveals distinct and overlapping genes that impact *Klebsiella pneumoniae* fitness.** [S.l.: S.n.], v. 17. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009376. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7993769/#sec001>. Acesso em 07 ago. 2025.

MILLS, Emma G. *et al.* A one-year genomic investigation of *Escherichia coli* epidemiology and nosocomial spread at a large US healthcare network. **Genome Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–13, 2022. DOI: 10.1186/s13073-022-01150-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36585742/>. Acesso em: 07 ago. 2025.

MIRZAI, M. *et al.* Antibiotic resistance assessment and multi-drug efflux pumps of *Enterococcus faecium* isolated from clinical specimens. **Journal of Infection in Developing Countries**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 649–655, 31 maio 2023. DOI: 10.3855/jidc.17304. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37279423/>. Acesso em: 28 jul. 2025.

MOHAMED, A. *et al.* Characteristics of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in patients with ventilator-associated pneumonia. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 10, n.

11, p. 1325, 29 out. 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10111325. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34827263/>. Acesso em: 20 jul. 2025.

MOHAMMAD ZADEH, F.; ZAREI, H.; HONARMAND JAHROMY, S. Type 1 and 3 fimbriae phenotype and genotype as suitable markers for uropathogenic bacterial pathogenesis via attachment, cell surface hydrophobicity, and biofilm formation in catheter-associated urinary tract infections (CAUTIs). **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, [S. l.], v. 24, n. 8, p. 1098–1106, ago. 2021. DOI: 10.22038/IJBMS.2021.53691. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34804427/>. Acesso em: 20 jul. 2025.

MOKHTAR, Jawahir *et al.* Epidemiology and Clinical Impact of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* at King Abdulaziz University Hospital (2015–2022): Prevalence, Risk Factors, and Mortality. **International Journal of General Medicine**, v. Volume 18, n. March, p. 2021–2031, 2025. DOI: 10.2147/IJGM.S508262. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40226799/>. Acesso em 8 ago. 2025.

MOTA, F. S. da; OLIVEIRA, H. A. de; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S. l.], v. 50, n. 3, 2018. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/perfil-e-prevalencia-de-resistencia-aos-antimicrobianos-de-bacterias-gram-negativas-isoladas-de-pacientes-de-uma-unidade-de-terapia-intensiva/>. Acesso em: 28 jun. 2025.

MUDDASSIR, Maria *et al.* Epidemiology and high incidence of metallo- β -lactamase and AmpC- β -lactamases in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 24, n. 10, p. 1373–1379, 2021. DOI: 10.22038/IJBMS.2021.57293.12748. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8769517/#sec7>. Acesso em: 8 ago 2025.

MÜHLBERG, E. *et al.* Renaissance of vancomycin: approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 66, n. 1, p. 11–16, jan. 2020. DOI: 10.1139/cjm-2019-0309. Epub 23 set. 2019. Disponível em: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih.ez20.periodicos.capes.gov.br/31545906/>. Acesso em: 2 out. 2023.

MULIN, Blandine *et al.* Clinical and molecular epidemiology of hospital *Enterococcus faecalis* isolates in eastern France. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 5, n. 3, p. 149–157, 1999. DOI: 10.1111/j.1469-0691.1999.tb00528.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11856239/>. Acesso em: 8 ago 2025.

NAMIKAWA, H. *et al.* Antimicrobial resistance in hypermucoviscous and non-hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 2438657, dez. 2025. DOI: 10.1080/22221751.2024.2438657. Epub 16 dez. 2024. PMID: 39629681; PMCID: PMC11650459. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39629681/>. Acesso em: 3 ago. 2025.

NEGRI FILHO, A. de; BARBOSA, Z. O papel dos hospitais nas redes de atenção à saúde. **Revista Consensus**, p. 42–49, 2º trim. 2014. Disponível em: https://www.conass.org.br/biblioteca/pdf/revistaconsensus_11.pdf. Acesso em: 15 out. 2023.

NUNES, A. R. T. **Resistência a antimicrobianos e fatores de virulência em *Klebsiella* sp. isoladas da Laguna de Tramandaí**. 2017. 114 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, 2017.

ODURO-MENSAH, D. *et al.* Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in *Enterobacteriaceae* in a tertiary hospital in Ghana. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, [S. l.], v. 15, n. 29, p. 1–9, 2016. DOI: 10.1186/s12941-016-0144-2. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4857374/>. Acesso em: 28 out. 2023.

PAN, P. *et al.* Analysis of molecular epidemiological characteristics and antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant and linezolid-resistant *Enterococcus* in China. **BMC Medical Genomics**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 174, 1 jul. 2024. DOI: 10.1186/s12920-024-01948-x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38951840/>. Acesso em: 28 jul. 2025.

PARK, K. H. *et al.* Impact of multidrug resistance on outcomes in hematologic cancer patients with bacterial bloodstream infections. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 15622, 7 jul. 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-66524-w. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66524-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-66524-w>. Acesso em: 26 jun. 2025.

PATIL, S. S. *et al.* Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in India: A systematic review and meta-analysis. **Oman Medical Journal**, [S. l.], v. 37, n. 4, e440, 31 jul. 2022. DOI: 10.5001/omj.2022.22. PMID: 35949712; PMCID: PMC9344094. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9344094/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

PAVEZ, M. *et al.* High prevalence of CTX-M-1 group in ESBL-producing *Enterobacteriaceae* infection in intensive care units in southern Chile. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 102–110, 2019. DOI: 10.1016/j.bjid.2019.03.002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9425662/>. Acesso em: 28 out. 2023.

PEIRANO, G.; PITOUT, J. D. D. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: update on molecular epidemiology and treatment options. **Drugs**, [S. l.], v. 79, n. 14, p. 1529–1541, 2019. DOI: 10.1007/s40265-019-01180-3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31407238/>. Acesso em: 2 out. 2023.

PEREIRA, P. S. **Caracterização molecular de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemases do tipo KPC-2, NDM-1 e OXA-370 isoladas no Brasil**. 2016. 213 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

PEREZ, Federico; EL CHAKHTOURA, Nadim G.; BONOMO, Robert A. Management of Severe Infections: Multidrug-Resistant and Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria. **Medical Clinics of North America**, v. 109, n. 3, p. 735–747, 2025. DOI: 10.1016/j.mcna.2025.01.003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40185559/>. Acesso em: 9 ago. 2025.

PIPERAKI, E. T. *et al.* *Klebsiella pneumoniae*: virulence, biofilm and antimicrobial resistance. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S. l.], v. 36, n. 10, p. 1002–1005, out. 2017. DOI: 10.1097/INF.0000000000001675. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28914748/>. Acesso em: 20 jun. 2025.

PONS, Maria J. *et al.* Spread of st348 *klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 in a peruvian hospital. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1–10, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8091392. Disponível em: <https://pmc-ncbi-nlm-nih.gov.ez20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC7563475/#sec2-microorganisms-08-01392>. Acesso em: 10 ago. 2025.

PORTO, A. P. M. *et al.* Brazilian perspective: antimicrobial stewardship in solid organ transplant. **Transplant Infectious Disease**, [S. l.], v. 24, n. 5, e13874, out. 2022. DOI: 10.1111/tid.13874. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36254511/>. Acesso em jan. 2025.

PU, D. *et al.* "Superbugs" with hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*: the rise of such emerging nosocomial pathogens in China. **Science Bulletin (Beijing)**, [S. l.], v. 68, n. 21, p. 2658–2670, 15 nov. 2023. DOI: 10.1016/j.scib.2023.09.040. Epub 29 set. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37821268/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

QAMAR, M. U. *et al.* Genomic characterization of plasmids harboring *bla*NDM-1, *bla*NDM-5, and *bla*NDM-7 carbapenemase alleles in clinical *Klebsiella pneumoniae* in Pakistan. **Microbiology Spectrum**, [S. l.], v. 13, n. 7, e0235924, jul. 2025. DOI: 10.1128/spectrum.02359-24. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40401976/>. Acesso em: 30 jul. 2025.

RAO, C. *et al.* Clinical and molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia from an Indian tertiary hospital. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 303–314, fev. 2021. DOI: 10.1007/s10096-020-04030-3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32909085/>. Acesso em 20 jun. 2025.

REHMAN, Noor *et al.* Molecular epidemiology of antibiotic-resistant genes and potent inhibitors against TEM, CTX-M-14, CTX-M-15, and SHV-1 proteins of *Escherichia coli* in district Peshawar, Pakistan. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 11, p. 6568–6581, 2021. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.07.028. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34764772/>. Acesso em: 8 ago. 2025.

ROCHA, V. F. *et al.* Vancomycin-resistant *Enterococcus* infections in a hospital in Salvador, Bahia: a descriptive study, 2021–2023. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 34, e20240135, 14 abr. 2025. DOI: 10.1590/S2237-

96222024v34e20240135.en. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40243735/>. Acesso em 30 jul. 2025.

RODRIGUES, Yan Corrêa *et al.* High prevalence of atypical virulotype and genetically diverse background among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a referral hospital in the Brazilian Amazon. **PLoS ONE**, v. 15, n. 9 September, p. 1–21, 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0238741. Disponível em :
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7482967/#pone.0238741.s001>. Acesso em: 8 ago 2025.

RODRIGUES, J. L. N. *et al.* Identificação de bactérias multirresistentes em série histórica de 2017 à 2021 em um hospital universitário. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 26, supl. 1, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101945>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867021004141>. Acesso em: 26 jun. 2025

RODRIGUES, Y. C. *et al.* Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 13, n. 10, 983, 17 out. 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13100983. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39452249/>. Acesso em: 21 jun. 2025.

RODRIGUES, A. I. G. *et al.* Perfil dos usuários atendidos no serviço de emergência em um hospital universitário em Pernambuco. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 13–24, jan./mar. 2015. Disponível em:
<http://files.bvs.br/upload/S/0100-0233/2015/v39n1/a5124.pdf>. Acesso em: 15 out. 2023.

RODRÍGUEZ-BELTRÁN, J. *et al.* Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial evolution. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 347–359, jun. 2021. DOI: 10.1038/s41579-020-00497-1. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/s41579-020-00497-1>. Acesso em 30 mai. 2025.

ROLO, J. *et al.* Evolutionary origin of the staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 61, n. 6, e02302-16, 24 maio 2017. DOI: 10.1128/AAC.02302-16. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28373201/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

ROMERO THOMAS, Genara *et al.* Increased Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacterales Bacteria in Latin America and the Caribbean during the COVID-19 Pandemic. **Emerging Infectious Diseases**, v. 28, n. 11, p. E1–E8, 2022. DOI: 10.3201/eid2811.220415. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9622262/>. Acesso em 05 ago. 2025.

ROSCETTO, E. *et al.* Extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenem-resistant *Enterobacterales* in companion and animal-assisted interventions dogs. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S. l.], v. 18, n. 24, 12952, 8 dez. 2021. DOI: 10.3390/ijerph182412952.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8700946/>. Acesso em: 2 out. 2023.

SCAGLIONE, Giovanni *et al.* Understanding the burden of antibiotic resistance: a decade of carbapenem-resistant Gram-negative bacterial infections in Italian intensive care units. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, n. June, p. 1–10, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1584655. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ez20.periodicos.capes.gov.br/38903794/>. Acesso em: 09 ago. 2025.

SAHA, P. *et al.* Multidrug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: do virulence properties impact on resistance patterns? **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 16, 1508941, 5 fev. 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1508941. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40018675/>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SAELI, Nilofar *et al.* Prevalence and mechanisms of aminoglycoside resistance among drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Iran. **BMC Infectious Diseases**, v. 24, n. 1, p. 1–9, 2024. DOI: 10.1186/s12879-024-09585-6. Disponível em: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-024-09585-6>. Acesso em: 10 ago 2025.

SALLEH, Mohd Zulkifli *et al.* Current trends in the epidemiology of multidrug-resistant and beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Asia and Africa: a systematic review and meta-analysis. **PeerJ**, v. 13, n. 2, 2025. DOI: 10.7717/peerj.18986. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11867037/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3. ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. Disponível em: https://moodle.ufsc.br/pluginfile.php/1376626/mod_resource/content/0/Sambrook%20%20Russel%20-%20Molecular%20Cloning%2C%20a%20Laboratory%20Manual%20-%20Vol.%201%2C%202%2C%203%20%28CSHL%20Press%20-%203rd%20Ed%2C%202000%29.pdf. Acesso em: 28 out. 2023.

SAYED, M. G. *et al.* Exploring virulence factors, virulome, and multidrug resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients with central line-associated bloodstream infections. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 15, n. 1, 20230, 20 jun. 2025. DOI: 10.1038/s41598-025-07493-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40542133/>. Acesso em 28 jul. 2025.

SEBIRE, N. J. *et al.* The Future Hospital in Global Health Systems: The Future Hospital as an Entity. **International Journal of Health Planning and Management**, v. 40, n. 3, p. 730–740, 2025. DOI: 10.1002/hpm.3893. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12045724/#hpm3893-sec-0040>. Acesso em: 5 ago. 2025.

SEYEDI, M. *et al.* Phenotypic and genotypic investigation of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Bushehr, Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, [S. l.], v. 25, n. 10, p. 1196–1200, out. 2022. DOI:

10.22038/IJBMS.2022.64359.14154. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36311200/>. Acesso em: 20 out. 2023.

SHARIATI, A. *et al.* Global prevalence and distribution of vancomycin-resistant, vancomycin-intermediate and heterogeneously vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, n. 1, 12689, 29 jul. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-69058-z. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32728110/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

SHANAN, Roula *et al.* Prevalence of Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance Genes in *Pseudomonas aeruginosa* Among Patients at Aleppo University Hospital, Syria. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 39, n. 4, p. 1–11, 2025. DOI: 10.1002/jcla.25153. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39835407/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

SILVA, S. T. *et al.* Phenotypic and genetic analysis of virulence factors in multidrug-sensitive and multidrug-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. e457101120032, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i11.20032. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/20032>. Acesso em: 19 jul. 2025.

SINYAWA, T. *et al.* Antimicrobial use survey and detection of ESBL-*Escherichia coli* in commercial and medium-/small-scale poultry farms in selected districts of Zambia. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 13, n. 5, p. 467, 20 maio 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13050467. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38786195/>. Acesso em jan. 2025.

STÆRK, K. *et al.* *Escherichia coli* type-1 fimbriae are critical to overcome initial bottlenecks of infection upon low-dose inoculation in a porcine model of cystitis. **Microbiology (Reading)**, [S. l.], v. 167, n. 10, p. 001101, out. 2021. DOI: 10.1099/mic.0.001101. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34623231/>. Acesso em 30 mai. 2025.

STEPANOVIC, S. *et al.* A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 175–179, abr. 2000. DOI: 10.1016/s0167-7012(00)00122-6. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701200001226> Acesso em 20 fev. 2025.

STOGIOS, P. J.; SAVCHENKO, A. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. **Protein Science**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 654–669, mar. 2020. DOI: 10.1002/pro.3819. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31899563/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

STRYDOM, K. A. *et al.* *Klebsiella pneumoniae* ST307 with OXA-181: threat of a high-risk clone and promiscuous plasmid in a resource-constrained healthcare setting. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 896–902, 1 abr. 2020. DOI: 10.1093/jac/dkz550. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31953941/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

SWAIN, J. *et al.* Pathogenicity and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*: recent advances and under-investigated topics. **Virulence**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 2503430, may. 2025. DOI: 10.1080/21505594.2025.2503430. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12087490/>. Acesso em: 10 jun. 2025.

TEIXEIRA, Rosane Milet Passos *et al.* Are patient volume and care level in teaching hospitals variables affecting clinical outcomes in adult intensive care units? **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 21, p. eAO0406, 2023. DOI: 10.31744/einstein_journal/2023AO0406. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10519666/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

TERLIZZI, M. E.; GRIBAUDO, G.; MAFFEI, M. E. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, p. 1566, 15 ago. 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01566. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28861072/>. Acesso em: 30 jan. 2025.

THOMAS, R. E.; THOMAS, B. C. Reducing biofilm infections in burn patients' wounds and biofilms on surfaces in hospitals, medical facilities and medical equipment to improve burn care: a systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S. l.], v. 18, n. 24, p. 13195, 14 dez. 2021. DOI: 10.3390/ijerph182413195. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34948803/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

TIAN, D. *et al.* Prevalence of hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* under divergent evolutionary patterns. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1936–1949, dez. 2022. DOI: 10.1080/22221751.2022.2103454. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35844192/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

TOSUN, Ayse Istanbulu *et al.* Development of a new multiplex real-time PCR assay for rapid screening of hospital-acquired infection agents. **Journal of Microbiological Methods**, [S. l.], v. 206, art. 106690, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106690>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701223000246?via%3Di> hub. Acesso em: 28 jun. 2025.

TUON, F. F. *et al.* Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review. **Pathogens**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 300, 27 fev. 2022. DOI: 10.3390/pathogens11030300. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35335624/>. Acesso em 15 mar. 2025

TRYFINOPOULOU, Kyriaki *et al.* Emergence and persistent spread of carbapenemase- producing *Klebsiella pneumoniae* high-risk clones in Greek hospitals , 2013 to 2022. p. 1–10, 2022. DOI: 10.2807/1560-7917. Disponível em: Emergence and persistent spread of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* high-risk clones in Greek hospitals, 2013 to 2022 - PubMed. Acesso em 05 ago. 2025.

UNVERDORBEN, Lavinia V *et al.* capsule loss and decreased virulence potential. v. 16, n. 5, p. 1–18, 2025. DOI: 10.1128/mbio.02362-24. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/e20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC12077207/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

URBAN-CHMIEL, R. *et al.* Antibiotic resistance in bacteria: a review. **Antibiotics (Basel)**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 1079, 9 ago. 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11081079. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9404765/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

VALZANO, Felice *et al.* surveillance study. v. 12, n. 8, p. 1–12, 2024. DOI: 10.1128/spectrum.04266-23. Epub 2024 Jun 27. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38934607/>. Acesso em 8 ago. 2025.

VENTURA, M. *et al.* Antimicrobial resistance and associated risk factors in *Escherichia coli* isolated from Peruvian dogs: a focus on extended-spectrum β -lactamases and colistin. **Veterinary World**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 880–887, abr. 2024. DOI: 10.14202/vetworld.2024.880-887. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38798292/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

WALKER, K. A.; MILLER, V. L. The intersection of capsule gene expression, hypermucoviscosity and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. **Current Opinion in Microbiology**, [S. l.], v. 54, p. 95–102, abr. 2020. DOI: 10.1016/j.mib.2020.01.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32062153/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

WALKER, K. A. *et al.* A *Klebsiella pneumoniae* regulatory mutant has reduced capsule expression but retains hypermucoviscosity. **mBio**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. e00089-19, 26 mar. 2019. DOI: 10.1128/mBio.00089-19. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30914502/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

WANG, X. *et al.* The virulence trait and genotype distribution amongst the *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 82, 20 fev. 2025. DOI: 10.1186/s12866-025-03754-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39979804/>. Acesso em: 15 ago, jul.

WEIMANN, A. *et al.* Evolution and host-specific adaptation of *Pseudomonas aeruginosa*. **Science**, [S. l.], v. 385, n. 6704, p. eadi0908, 5 jul. 2024. DOI: 10.1126/science.adi0908. Disponível em:

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Bacterial Priority Pathogens List, 2024**: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em 10 jan. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide**. Geneva: World Health Organization, 2019. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80135/9789241501507_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 5 jun. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial resistance**. Geneva: WHO, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 25 out. 2023.

WORKU, S. *et al.* Molecular characterization of carbapenemase and extended spectrum beta-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* isolates causing surgical site infections in Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 459, 30 abr. 2024. DOI: 10.1186/s12879-024-09362-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38689210/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

WU, Weiyi *et al.* Antimicrobial resistance, virulence gene profiles, and molecular epidemiology of enterococcal isolates from patients with urinary tract infections in Shanghai, China. **Microbiology Spectrum**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2025. DOI: 10.1128/spectrum.01217-24. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39612477/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

YAN, W. J. *et al.* Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and emergence of tigecycline non-susceptible strains in the Henan province in China: a multicentre study. **Journal of Medical Microbiology**, [S. l.], v. 70, n. 3, p. 001325, mar. 2021. DOI: 10.1099/jmm.0.001325. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33587030/>. Acesso em: 10 mai. 2025.

YANG, Y. *et al.* Metallo- β -lactamase-mediated antimicrobial resistance and progress in inhibitor discovery. **Trends in Microbiology**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 735–748, jul. 2023. DOI: 10.1016/j.tim.2023.01.013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36858862/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

YEE, Rebecca; BARD, Jennifer Dien; SIMNER, Patricia J. The genotype-to-phenotype dilemma: How should laboratories approach discordant susceptibility results? **Journal of Clinical Microbiology**, v. 59, n. 6, p. 1–12, 2021. DOI: 10.1128/JCM.00138-20. Disponível em: <https://pmc-ncbi-nlm-nih.gov.ez20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC8316082/>. Acesso em 10 ago. 2025.

YIN, L. *et al.* Virulence factors, molecular characteristics, and resistance mechanisms of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pediatric patients in Shanghai, China. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 130, 11 mar. 2025. DOI: 10.1186/s12866-025-03856-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40069638/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ZHAN, Qing *et al.* Distribution of fluoroquinolone resistance determinants in Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates associated with bloodstream infections in China. **BMC Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1–8, 2021. DOI: 10.1186/s12866-021-02238-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34078263/>. Acesso em: 10 ago. 2025.

ZHANG, H. *et al.* Structural characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* mannoprotein and its immunomodulatory activities on RAW264.7 cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 308, pt. 2, p. 142135, maio 2025.

DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.142135. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40090648/>. Acesso em 10 jun. 2025.

ZHANG, Xueya *et al.* High-Level Aminoglycoside Resistance in Human Clinical *Klebsiella pneumoniae* Complex Isolates and Characteristics of armA-Carrying IncHI5 Plasmids. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. April, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.636396. Disponível em: <https://pmc-ncbi-nlm-nih.gov.ez20.periodicos.capes.gov.br/articles/PMC8058188/#sec9>. Acesso em: 10 ago. 2025.

ZHU, C. *et al.* Longitudinal genomic characterization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) reveals changing pattern of CPE isolated in Hong Kong hospitals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 58, n. 5, p. 106430, nov. 2021. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106430. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34525401/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

ANEXO A – PARECER 1 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - UFS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SERGIPE - UFSLAG/HUL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ISOLADAS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Pesquisador: Rafael Ciro Marques Cavalcante

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 80237723.7.0000.0217

Instituição Proponente: Universidade Federal de Sergipe Campus Lagarto - Departamento de

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.048.467

Apresentação do Projeto:

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um dos principais problemas de saúde no mundo inteiro. Elas geram, além da insegurança nos ambientes de saúde, elevação dos gastos e aumento da mortalidade (Facciola, et al, 2019). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA), IRAS são todas as infecções que o paciente adquire, que estejam relacionadas a qualquer procedimento de assistência à saúde ou internação (ANVISA, 2021).

Dentre os principais microrganismos envolvidos nessas infecções, pode-se citar, dentre os classificados como Gram-negativos: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* e os Gram-positivos: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) e *Clostridium difficile*, além de vírus e fungos. Estes microrganismos possuem a capacidade de fácil disseminação e podem sobreviver em superfícies por longos períodos, podendo ser de horas até meses. Isso possibilita a dispersão entre os pacientes, mesmo que não estejam internados no mesmo momento, mas utilizem um leito previamente ocupado por alguém infectado. Além disso, podem infectar pessoas da comunidade, quando recebem alta e, em caso de reinternação em outra unidade de saúde, podem espalhar a infecção para outras instituições (Drohan et al, 2019; Facciola et al, 2019).

As IRAS tornam-se um problema ainda maior pois elas podem estar ligadas a microrganismos

Endereço: Avenida Governador Marcelo Deda, 13, Sala: Biblioteca do Campus de Lagarto

Bairro: Centro

CEP: 49.400-000

UF: SE

Município: LAGARTO

Telefone: (79)3632-2189

E-mail: cepulag@ufs.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SERGIPE - UFSLAG/HUL



Continuação do Parecer: 7.048.467

Investigador	sistentes_Isoladas_em_um_Hospital_Universitario.pdf	20/11/2023 12:34:15	Cavalcante	Aceito
Orçamento	orcamento_do_projeto.pdf	20/11/2023 12:33:45	Rafael Ciro Marques Cavalcante	Aceito
Cronograma	Cronograma_do_Projeto.pdf	20/11/2023 12:31:56	Rafael Ciro Marques Cavalcante	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LAGARTO, 02 de Setembro de 2024

Assinado por:
Júlia Guimarães Reis da Costa
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida Governador Marcelo Déda, 13, Sala: Biblioteca do Campus de Lagarto

Bairro: Centro

UF: SE

Telefone: (79)3632-2189

Município: LAGARTO

CEP: 49.400-000

E-mail: cephulag@ufs.br

ANEXO B – PARECER 2 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - UFS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Mecanismos de resistência a antimicrobianos em enterobactérias isoladas de infecções urinárias no Hospital Universitário de Lagarto (HUL)

Pesquisador: Rafael Ciro Marques Cavalcante

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 04919318.7.0000.5546

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.798.379

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo "Informações Básicas da Pesquisa" (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2008399_E1..pdf) e do "Projeto Detalhado / Brochura Investigador" (Projeto_Pesquisa_fenotipo_mutador_emenda.docx), postados em 31/10/2022 e 30/10/2022, respectivamente.

Introdução:

Para o sucesso evolutivo dos microrganismos é necessário um equilíbrio entre fidelidade genética, que permite a perpetuação da informação genética de geração para geração e reduz a ocorrência de erros deletérios no genoma, e inovação, que permite a geração de variabilidade genética e maior adaptabilidade (CHU et al., 2017). Para manter a fidelidade genética, ao longo da evolução foram desenvolvidos vários mecanismos de reparo de DNA, que corrigem lesões ao DNA espontâneas ou induzidas por agentes químicos e/ou físicos e que resultariam em mutações caso não fossem reparadas (BENJDIA, 2012; FEUERHAHN; EGLY, 2008; GRIFFITHS et al., 2016). Contudo, como as mutações são necessárias para a variabilidade genética, os mecanismos de reparo não são tão precisos e o próprio processo de replicação do DNA pode ser fonte de mutações (WATSON, et al. 2015). Quando ocorre um desequilíbrio entre fidelidade genética e inovação fenótipos

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cep@academico.ufs.br



Continuação do Parecer: 5.798.379

Infraestrutura	DeclaracaoInfraestruturaHUL.pdf	30/10/2022 23:53:19	MARIA AIZA FONTES ANDRADE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoProntuariosHUL.pdf	30/10/2022 23:52:53	MARIA AIZA FONTES ANDRADE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoCienciaLabEMENDA.pdf	30/10/2022 23:48:58	MARIA AIZA FONTES ANDRADE	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoEMENDA.pdf	30/10/2022 23:46:43	MARIA AIZA FONTES ANDRADE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 07 de Dezembro de 2022

Assinado por:
FRANCISCO DE ASSIS PEREIRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cep@academico.ufs.br