

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA

Romário Costa Fochat

Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em pacientes de um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a pandemia de SARS-CoV-2

Juiz de Fora
2024

Romário Costa Fochat

Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em pacientes de um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a pandemia de SARS-CoV-2

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva.

Orientador: Dr.º Márcio Roberto Silva

Coorientador: Dra.^a Patrícia Guedes Garcia

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Costa Fochat, Romário.

Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em pacientes de um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a pandemia de SARS-CoV-2 / Romário Costa Fochat. -- 2024. 92 f. : il.

Orientador: Márcio Roberto Silva

Coorientadora: Patrícia Guedes Garcia

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, 2024.

1. Resistência Antimicrobiana. 2. Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos. 3. Genes de resistência blaKPC e blaNDM. 4. COVID-19. 5. Pandemia. I. Roberto Silva, Márcio, orient. II. Guedes Garcia, Patrícia, coorient. III. Título.

Romário Costa Fochat

**Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em
pacientes de
um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a
pandemia de SARS-CoV-2**

Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde
Coletiva da Universidade
Federal de Juiz de Fora
como requisito parcial à
obtenção do título de
Mestre em Saúde Coletiva.
Área de concentração:
Saúde Coletiva

Aprovada em 20 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Márcio Roberto Silva - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.^a Dra. Patrícia Guedes Garcia

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.^a Dra. Alessandra Figueiredo de Castro Nassar

Instituto Biológico de São Paulo

Prof.^a Dra. Isabel Cristina Gonçalves Leite

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.ª Dra. Michele Cristine Ribeiro de Freitas

Faculdade de Ciências Médicas de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 08/02/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Marcio Roberto Silva, Usuário Externo**, em 21/02/2024, às 11:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isabel Cristina Goncalves Leite, Professor(a)**, em 21/02/2024, às 15:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Guedes Garcia, Professor(a)**, em 29/02/2024, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Figueiredo de Castro Nassar, Usuário Externo**, em 29/02/2024, às 13:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1700298** e o código CRC **EBD67F1C**.

Dedico este trabalho aos meus filhos, Elis e Pedro, que me inspiram a ser uma pessoa melhor todos os dias e que deixam minha vida imensamente mais divertida.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, fonte de toda sabedoria e força, por guiar-me ao longo desta jornada acadêmica e conceder-me a graça de concluir esta dissertação.

À Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), desejo manifestar minha profunda apreciação pela excelência do ensino proporcionado, que moldou meu percurso acadêmico desde a graduação, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento do meu conhecimento. É impossível não reconhecer a contribuição significativa desta instituição para minha formação. Expresso também minha gratidão pela bolsa recebida no âmbito do Programa de Apoio à Qualificação (PROQUALI), a qual não apenas incentiva, mas também reconhece o empenho dos servidores, ressaltando a importância do recurso humano na instituição. Agradeço por essa política tão necessária, impulsionadora do crescimento acadêmico e profissional dos seus cabaladores internos.

Ao programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da UFJF, manifesto meu reconhecimento pela relevância social do programa, formando mestres e doutores críticos ao sistema, capazes de atuar de maneira comprometida e ética para o progresso de uma sociedade mais equânime. Destaco a competência dos professores nos debates e na construção conjunta do conhecimento, a dedicação dos colegas discentes que foram essenciais no meu processo formativo, e o serviço administrativo primoroso desempenhado pelas assistentes Elisângela e Patrícia, que não medem esforços para o eficiente funcionamento do programa.

Agradeço ao Hospital Universitário da UFJF, com especial reconhecimento ao Laboratório de Análises Clínicas e ao setor de Microbiologia, pela excelência no diagnóstico microbiológico prestado aos pacientes, assim como pela colaboração essencial na coleta de dados e fornecimento das linhagens bacterianas estudadas neste trabalho. A realização deste estudo foi possível devido ao incansável empenho de cada colaborador desse Laboratório, incluindo os farmacêuticos, técnicos de laboratório, residentes, alunos de graduação e bolsistas de treinamento profissional. Agradeço sinceramente pelo exemplo diário de comprometimento ao próximo. Um agradecimento especial à Farmacêutica Maria de Lourdes Junqueira, cujo estímulo e motivação, desde a graduação até a residência, foram fundamentais para meu envolvimento neste maravilhoso campo do saber, a Microbiologia Clínica.

À Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), agradeço por possibilitar a realização da pesquisa no âmbito do HU-UFJF.

Ao Instituto Biológico de São Paulo, e à Dra. Alessandra Figueiredo de Castro Nassar em particular, expresso minha gratidão pela valiosa assistência na identificação microbiológica por espectrometria de massa de alta resolução.

À Faculdade de Farmácia, representada pelo diretor Dr. Marcelo Silva Silvério, agradeço pelo incentivo aos estudos e pelo espaço colaborativo no trabalho. Expresso minha gratidão aos colegas professores, técnicos administrativos em educação e discentes de graduação e pós graduação por compartilharem suas experiências e conhecimentos profissionais. As colegas da Equipe 03 da Faculdade de Farmácia expresso minha gratidão, em especial, por compartilharem responsabilidades e compreenderem os desafios vivenciados durante o mestrado. E à Tatiana Aparecida de Carvalho, pessoa ímpar e muito querida por todos, agradeço seus conselhos, amizade e exemplo de vida. Sem dúvida, você une nossa equipe e acolhe a todos.

Ao Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia, em especial ao professor Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior, expresso minha profunda gratidão pela permissão concedida para a realização da parte experimental e pelo apoio incondicional ao desenvolvimento deste projeto. Agradeço, igualmente, por ter tido a oportunidade de contribuir como colaborador durante a pandemia de COVID-19, onde a Faculdade de Farmácia, por meio de seus instrumentos e recursos humanos deste laboratório, desempenhou um papel crucial no diagnóstico por Biologia Molecular do vírus SARS-CoV-2, proporcionando um impacto significativo na assistência à saúde do município e da região ao longo da pandemia. Que esta fase de expansão, que vivenciamos atualmente, possa estender ainda mais a ajuda a pessoas necessitadas e fortalecer os pilares do ensino, pesquisa e extensão de nossa faculdade.

Agradeço profundamente aos professores orientadores Dr. Márcio Roberto Silva e Dra. Patrícia Guedes Garcia pela orientação dedicada em todas as etapas deste trabalho, desde a concepção do projeto até a sua execução e finalização. A parceria assertiva de vocês e cada orientação fornecida foram elementos decisivos para a conclusão bem-sucedida deste trabalho.

Não posso deixar de expressar minha gratidão e reconhecimento à aluna de iniciação científica deste projeto, Ana Clara Lelis. Destaco sua dedicação exemplar em cada etapa proposta, seja na condução da coleta de dados, no auxílio na bancada laboratorial para o processamento das amostras e na interpretação e organização final

dos dados. Sua entrega a este projeto foi notável, e tenho plena confiança de que terá um futuro brilhante como egressa do curso. Desde já, estou na torcida pelo seu sucesso.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a cada membro da minha banca de qualificação pelas preciosas contribuições intelectuais durante a análise do texto. As críticas e sugestões apresentadas durante a qualificação foram fundamentais para aprimorar e refinar minha pesquisa. Cada integrante desempenhou um papel crucial na orientação deste trabalho, e suas contribuições enriqueceram significativamente o caminho que culminou na elaboração desta dissertação. Agradeço sinceramente à Dra. Isabel Cristina Gonçalves Leite (UFJF), ao Dr. Thomás Chagas Neto (UNIFESP), ao Dr. Igor Rosa Meurer (HU-EBSERH) e ao Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior (UFJF).

Antecipadamente, expresso meu agradecimento à banca de avaliação final, pois estou certo de que as sugestões finais de cada membro contribuirão ainda mais para o enriquecimento do texto e para a qualidade final desta dissertação. Agradeço desde já a dedicação e a valiosa expertise de cada um, que serão cruciais nessa etapa final do processo.

Agradeço aos amigos de longa data, cujo apoio foi constante, assim como aos colegas mais próximos do mestrado, que fortaleceram a jornada acadêmica nas aulas e nas vivências diárias.

Agradeço de coração à minha extensa e querida família, incluindo meus pais, avós, irmão, cunhada, sobrinhos, tios, primos e todos os membros da família da minha esposa. Cada um de vocês é uma parte essencial do meu suporte e inspiração ao longo desta jornada acadêmica. Acredito firmemente que a verdadeira essência da vida reside na existência da família, e esta vitória é, sem dúvida, um reflexo do amor, encorajamento e valores transmitidos por todos vocês. Obrigado por serem a base sólida que tornou possível este capítulo significativo em minha jornada acadêmica.

Por último, expresso minha profunda gratidão à minha amada Helena, cujo apoio foi fundamental em todos os aspectos desta jornada. Agradeço por sua escuta atenta, seu olhar sensível e motivador, que destacaram as potencialidades deste trabalho. Obrigado por sua presença inspiradora, que me impediu de desistir nos momentos mais desafiadores, e por todas as leituras e sugestões valiosas que contribuíram para a construção deste texto.

Além disso, quero expressar minha eterna gratidão por sua dedicação na construção da nossa família. Agradeço por sua entrega constante, apoio incansável nos momentos mais difíceis e alegria compartilhada nas vitórias. A você, Helena, agradeço por ser alicerce diário na construção do nosso lar. Só o amor, salva!

Aos nossos filhos, Elis e Pedro, meu amor é imensurável. Agradeço por serem fontes inesgotáveis de inspiração, por trazerem uma nova vida e por alimentarem sonhos que eu jamais imaginei alcançar. Esta vitória é dedicada a vocês, pois vocês são minha motivação diária. Amo vocês incondicionalmente.

Aos que, mesmo não mencionados especificamente, contribuíram de alguma forma, meu agradecimento profundo. Reconheço que não alcançamos nossos objetivos sozinhos, e este trabalho reflete a construção coletiva na qual todos desempenharam um papel importante. Estamos em constante processo de construção, e cada contribuição é valorizada e apreciada.

RESUMO

A resistência antimicrobiana (RAM) é uma ameaça global crítica, e as Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos (ERC) representam uma preocupação significativa devido às opções terapêuticas limitadas. Este estudo transversal retrospectivo investigou a prevalência de genes de carbapenemase (blaKPC, blaOXA-48, blaNDM, blaVIM e blaIMP) em linhagens de ERC isoladas de aspirados traqueais de pacientes em um hospital universitário na Zona da Mata Mineira, no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023. A identificação dos isolados bacterianos foi realizada por espectrometria de massa por ionização/dessorção em matriz assistida por laser (MALDI-TOF), enquanto a detecção dos genes de carbapenemase ocorreu por meio da Reação da Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). Das 1.133 amostras de aspirados traqueais analisadas, 111 (9,79%) apresentaram crescimento de ERC. Após confirmação bacteriana e análise de prontuários, 46 isolados, provenientes do mesmo número de pacientes, foram incluídos na amostra final, mostrando predominância de *Klebsiella pneumoniae* (65,21%) e *Serratia marcescens* (19,57%). O gene blaKPC foi identificado como prevalente (78,26%), enquanto o blaNDM foi encontrado em 21,74% dos isolados; os genes blaVIM, blaIMP e blaOXA-48 não foram identificados. A análise demográfica e de dados hospitalares revelou uma população predominantemente masculina (67,39%), idosa (69,57%), autodeclarada branca (56,52%), não casada (63,04%) e com baixa escolaridade (56,52%). A maioria dos pacientes (69,57%) encontrava-se na Unidade de Terapia Intensiva e permaneceu mais de 30 dias no hospital (76,08%). A infecção por COVID-19 foi registrada em 34,78% dos casos. Houve uma tendência inversamente significativa entre a prevalência de *Klebsiella pneumoniae* e faixa etária ($p = 0,045$), bem como uma tendência linear direta entre as proporções de ERC que carregam o gene blaNDM e a tendência anual do aumento do número de casos novos de COVID-19 no Brasil ($p = 0,050$). Além disso, este estudo encontrou uma probabilidade significativamente elevada de encontrar bactérias Não *Klebsiella pneumoniae* em pacientes com tempo de permanência hospitalar prolongado, independente do resultado de COVID-19 ($p = 0,006$) e do tipo de gene de resistência ($p = 0,020$). Este estudo destaca a prevalência persistente de ERC, principalmente com o gene blaKPC, resultado este que serve para apoiar as ações de vigilância em

saúde e apoiar políticas públicas com medidas de controle para enfrentar a RAM, uma crise que pode ser considerada uma das maiores pandemias mundiais.

Palavras-chaves: Resistência antimicrobiana; Aspirado traqueal, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*; blaKPC; blaNDM.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) poses a critical global threat, and Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE) are of significant concern due to limited therapeutic options. This retrospective cross-sectional study investigated the prevalence of carbapenemase genes (*blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaVIM*, and *blaIMP*) in CRE strains isolated from tracheal aspirates of patients in a university hospital in the Zona da Mata Mineira region, from January 2020 to August 2023. The identification of bacterial isolates was performed using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF), while carbapenemase gene detection was carried out through Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR). Among the 1,133 analyzed tracheal aspirate samples, 111 (9.79%) showed CRE growth. Following bacterial confirmation and chart analysis, 46 isolates from an equal number of patients were included in the final sample, with a predominance of *Klebsiella pneumoniae* (65.21%) and *Serratia marcescens* (19.57%). The *blaKPC* gene was prevalent (78.26%), while *blaNDM* was found in 21.74% of isolates; *blaVIM*, *blaIMP*, and *blaOXA-48* genes were not identified. Demographic and hospital data analysis revealed a predominantly male (67.39%), elderly (69.57%), self-declared white (56.52%), unmarried (63.04%), and low-educated population (56.52%). The majority of patients (69.57%) were admitted to the Intensive Care Unit and remained hospitalized for more than 30 days (76.08%). COVID-19 infection was documented in 34.78% of the cases. Statistical analysis revealed a significantly inverse trend between *Klebsiella pneumoniae* prevalence and age group ($p = 0.045$) and a direct linear trend between proportions of CRE carrying the *blaNDM* gene and the annual trend of new COVID-19 cases in Brazil ($p = 0.050$). Furthermore, this study found a significantly higher probability of encountering Non-*Klebsiella pneumoniae* bacteria in patients with prolonged hospital stay, regardless of COVID-19 status ($p = 0.006$) and type of resistance gene ($p = 0.020$). This study underscores the persistent prevalence of CRE, particularly those with the *blaKPC* gene, supporting health surveillance actions and advocating for public policies with control measures to address AMR, a crisis that can be considered one of the greatest global pandemics.

Keywords: Antimicrobial resistance; Tracheal aspirate; *Klebsiella pneumoniae*; *Serratia marcescens*; *blaKPC*; *blaNDM*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Classificação dos diferentes mecanismos de resistência aos medicamentos na ERC.....	25
Quadro 1	Classificação das β -lactamases conforme as classes moleculares de Ambler ou grupos funcionais de Bush-Jacoby-Medeiros.....	27
Figura 2	Teste de suscetibilidade a antimicrobianos (TSA) pelo método episilométrico para linhagem de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	41
Figura 3	Esquema demonstrativo dos métodos de inativação de carbapenêmicos.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC	Cefalosporinase <i>derivada de Acinetobacter</i>
AGHU	Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários
AmpC	Ampicilinase tipo C
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BGN	Bacilos Gram Negativos
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças
CFX-96	Bio-Rad CFX-96 <i>Real-Time System</i>
CGP	Cocos Gram Positivos
CIM	Método de inativação de carbapenêmicos
CMY	Cefamicinase
CTX-M	Cefotaximase-Munique
COVID-19	Doença de coronavírus 2019
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPA	Ácido dipicolínico
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EPI	Equipamento de proteção individual
ERC	Enterobacterales resistente aos carbapenêmicos
ESBL	β -lactamase de espectro estendido
Etest®	Teste de Epsilômetro
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (Food and Agriculture Organization)
GES	Guiana β -lactamase de espectro estendido
GIM	Imipenemase alemã
HU-UFJF	Hospital Universitário – Universidade Federal de Juiz de Fora
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IMI	β -lactamase hidrolisante de Imipenem
IMP	Imipenemase

ICSRC	Infecções de corrente sanguínea relacionadas a cateteres centrais
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
IVD	<i>In Vitro Diagnostic System</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
LTDA	Limitada
MALDI-TOF	Espectrometria de massa por ionização / dessorção em matriz assistida por laser (<i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight</i>)
MBLs	Metalo- β -lactamases
MDR	Multidroga resistente
MERS-CoV	Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio
MH	Ágar <i>Mueller-Hinton</i>
MG	Minas Gerais
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NDM	New Delhi Metalo- β -lactamase
NMC	Não metalo carbapenemase
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
OXA-48	Oxacilinase-48
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
PDC	Cefalosporinase derivada de <i>Pseudomonas</i>
PER	<i>Pseudomonas</i> resistência estendida
RAM	Resistência antimicrobiana
RAS	Rede de Atenção à Saúde
RPM	Rotação por minuto
PLP	Proteína de ligação de penicilina
RNA	Ácido Ribonucleico
SARS-CoV	Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV-1	Coronavírus 1 da síndrome respiratória aguda grave
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave
SIM	Imipenemase de Seul
SHV	Sulfidril-variável β -lactamase

SME	<i>Serratia marcescens</i> enzima
SPM	São Paulo metalo- β -lactamase
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TAV	Traqueobronquite associada ao ventilador
TEM	Temoniera β -lactamase
TSA	Teste de suscetibilidade a antimicrobianos
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
UFC/mL	Unidade Formadora de Colônia por mililitro
UNEP	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (<i>United Nations Environment Programme</i>)
UTIs	Unidades de Terapia Intensivas
VEB	Vietnã β -lactamase estendida
VRE	<i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina
VIM	Verona imipenemase
VP	Voges-Proskauer
WOAH	Organização Mundial de Saúde Animal (<i>World Organisation for Animal Health</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
$<$	Menor
$>$	Maior
$\geq$	Maior ou igual
$\pm$	Mais ou menos
%	Porcentagem
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$^{\circ}$	Empresa Registrada
mm	Milímetro
mL	Mililitro
μg	Microgramas
μL	Microlitros
mM	Milimolar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA.....	21
2.2	ENTEROBACTERALES RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS.....	23
2.3	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS.	24
2.3.1	ERC não produtora de Carbapenemases.....	25
2.3.2	ERC produtora de carbapenemase.....	26
2.3.2.1	Carbapenemases da classe A.....	28
2.3.2.2	Carbapenemases da classe B.....	29
2.3.2.3	Carbapenemases da Classe D.....	30
2.4	OPÇÕES TERAPÊUTICAS PARA TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR ERC.....	31
2.5	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E COVID-19: DUAS PANDEMIAS QUE SE CRUZARAM.....	33
2.5.1	O agravamento da RAM no período da pandemia de COVID- 19.....	35
3	OBJETIVOS.....	38
3.1	OBJETIVO GERAL.....	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	CLASSIFICAÇÃO DO ESTUDO E APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA.....	39
4.2	ROTINA DE PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS DE ASPIRADO TRAQUEAL NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO.....	39
4.2.1	Coleta e processamento de amostras de aspirado traqueal...	39
4.2.2	Identificação das linhagens bacterianas.....	40
4.2.3	Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos.....	40
4.2.4	Triagem para a produção de carbapenemases.....	41
4.2.5	Armazenamento das linhagens bacterianas.....	43

4.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	43
4.4	TESTE DE VIABILIDADE DOS ISOLADOS SELECIONADOS....	44
4.5	IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA POR <i>MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION – TIME OF FLIGHT</i>	44
4.6	EXTRAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO DE LINHAGENS BACTERIANAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASE E ANÁLISE DOS RESPECTIVOS GENES CODIFICADORES DESSAS ENZIMAS POR qPCR.....	45
4.7	PESQUISA DE PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES HOSPITALIZADOS.....	47
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
4.9	ASPECTOS ÉTICOS.....	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
6	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	APÊNDICE A – ARTIGO ELABORADO PARA SUBMISSÃO A UM PERIÓDICO CIENTÍFICO DA ÁREA.....	63

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da última década, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) têm emitido alertas reiterados acerca da crescente gravidade da resistência antimicrobiana (RAM) em âmbito global (CDC, 2019; WHO, 2019; CDC, 2013). Nesse contexto, as Enterobacterales resistentes aos carbapenêmicos (ERC) têm sido identificadas, tanto pelo CDC quanto pela OMS, como uma das principais ameaças à saúde mundial (CDC, 2019; WHO, 2017). A OMS elaborou uma lista de patógenos prioritários para pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos, e as ERC foram categorizadas como uma prioridade “crítica” (WHO, 2017).

As ERC representam microrganismos de especial preocupação, principalmente em ambientes hospitalares, instituições de longa permanência para idosos e entre pacientes que necessitam de tratamentos com dispositivos como ventiladores mecânicos e cateteres intravenosos. A inquietação relacionada a esses ambientes e grupos de pacientes está fundamentada na potencial capacidade desses agentes em desencadear infecções de gravidade significativa (WHO, 2017). Martin e colaboradores (2018), por meio de uma metanálise abrangente, concluíram que pacientes com infecções causadas por ERC apresentam taxas de mortalidade de 2 a 3 vezes superiores em comparação com aqueles afetados por infecções originadas por Enterobacterales sensíveis a esses antibióticos.

As estratégias empregadas pelas bactérias para neutralizar o efeito dos carbapenêmicos incluem bombas de efluxo, mutações de porinas e ação de enzimas. Notavelmente, a produção de carbapenemases, enzimas capazes de hidrolisar praticamente todos os β -lactâmicos, é reconhecida como o principal mecanismo de resistência nesse grupo de microrganismos (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019).

As ERC abrigam genes que codificam resistência aos β -lactâmicos, localizados predominantemente em elementos genéticos móveis. Essa disposição favorece a disseminação intra ou interespecífica dos mecanismos de resistência, contribuindo decisivamente para a rápida propagação da resistência aos carbapenêmicos em escala global (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019; Temkin et al., 2014).

A diminuição da eficácia dos carbapenêmicos implica em significativos ônus clínicos e socioeconômicos para os sistemas de saúde globalmente, especialmente nos países em desenvolvimento. Esses antibióticos, frequentemente prescritos na

prática médica hospitalar, são considerados em muitos estabelecimentos de saúde, como o último recurso terapêutico (Saliba et al., 2023; Ayobami et al., 2022; Zhen et al., 2019; Allegranzi et al., 2011).

A RAM emerge como um dos principais desafios globais em saúde pública. Essa preocupação foi amplamente discutida por O'Neill em 2014, que previu que um aumento contínuo na resistência até 2050 poderá resultar em 10 milhões de mortes anuais, além de uma redução significativa de 2% a 3,5% no Produto Interno Bruto mundial. Os custos associados a essa crise são estimados em até 100 trilhões de dólares. Conforme as projeções, em 2050, as mortes relacionadas à RAM ultrapassarão aquelas causadas por condições como câncer, diabetes, doenças diarreicas, acidentes de trânsito rodoviário, sarampo, cólera e tétano (O'Neill, 2014).

O uso inadequado de antimicrobianos representa uma das principais causas do aumento da resistência bacteriana, uma situação que se intensificou durante a pandemia da doença de coronavírus 2019 (COVID-19) (Rehman, 2023). Além de impactar diversos aspectos da vida, como saúde, economia e assistência médica, a pandemia apresentou uma ampla gama de manifestações clínicas, desde infecções assintomáticas até quadros graves com alto risco de mortalidade (Fernandes et al., 2022; Forchette; Sebastian; Liu, 2021; Rawson et al., 2020).

Na tentativa de evitar complicações associadas à COVID-19, observou-se o uso indiscriminado de antibióticos, o que não apenas teve impacto direto na RAM durante a pandemia, mas também pode favorecer, ao longo dos próximos anos, a disseminação de bactérias mais resistentes, incluindo aquelas com novos fenótipos de resistência (Rehman, 2023). Este cenário representa uma ameaça potencialmente grave, levando-nos a um contexto mais crítico do que aquele previsto em 2014 (O'Neill, 2014).

A OMS destaca a necessidade de abordagens multissetoriais, pois a transmissão da RAM ocorre em diversos ecossistemas, incluindo seres humanos, animais e meio ambiente. Isso ressalta a importância da adoção do conceito de Saúde Única (WHO, 2015). Além disso, a falta de inovação no desenvolvimento de novos antimicrobianos complica ainda mais o controle da resistência, tornando-se um desafio crescente (WHO, 2019a).

Diante da urgência global associada à RAM, é crucial realizar estudos de prevalência, concentrando-se especialmente nos grupos bacterianos considerados de alto risco conforme os informes da OMS. Essas iniciativas são essenciais para a

compreensão aprofundada da disseminação da resistência e para orientar estratégias eficazes de controle e prevenção em escala global.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA

O uso indiscriminado de antimicrobianos em saúde humana, animal, produção de alimentos e meio ambiente impulsiona microrganismos, como bactérias, protozoários, vírus e fungos, a desenvolverem resistência a esses medicamentos (WHO, 2019). A RAM em bactérias pode ocorrer por meio de mutação espontânea ou pela aquisição de genes de resistência através da transferência horizontal, facilitada por elementos genéticos móveis (Li et al., 2023; Bush; Bradford, 2016).

Considerando que a propagação dos mecanismos de resistência em bactérias não reconhece fronteiras geográficas e que as linhagens resistentes podem se disseminar entre pessoas e/ou para o meio ambiente, a RAM inevitavelmente desperta uma preocupação de ordem global, sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo (Ferri et al., 2017).

Nos Estados Unidos (EUA), anualmente, são registrados aproximadamente 2,8 milhões de infecções causadas por microrganismos resistentes aos antimicrobianos, resultando em 35.000 mortes por ano (CDC, 2019). Na União Europeia, observa-se uma taxa de mortalidade semelhante, com aproximadamente 33.000 mortes anuais atribuídas à RAM. Em 2019, a RAM foi diretamente responsável por 1,27 milhão de mortes em todo o mundo (Cassini et al., 2019).

As infecções causadas por linhagens bacterianas resistentes aos antimicrobianos não apenas reduzem a qualidade de vida, mas também aumentam significativamente o risco de sepse, recorrência de infecções, falhas terapêuticas, complicações, agravamento de condições patológicas e, em última instância, mortalidade (Li et al. 2023; Ferri et al., 2017). Além desses desafios clínicos, o tempo de tratamento, especialmente em ambientes hospitalares, é prolongado, exigindo o uso de medicamentos mais caros e com um espectro de ação mais amplo. Em muitos casos, esses medicamentos também estão associados a maiores efeitos adversos (Ferri et al., 2017).

A RAM gera um impacto econômico significativo, chegando a desestabilizar os sistemas de saúde, especialmente em países em desenvolvimento. Na Europa, estima-se um custo anual de € 1,5 bilhão, com uma perda de produtividade de € 600

milhões (ReAct, 2012; White, 2011). Nos EUA, o custo social anual relacionada à RAM é estimado em cerca de US\$ 55 bilhões (Smith; Coast, 2013).

Um agravante adicional relaciona-se ao declínio acentuado no desenvolvimento de novos antimicrobianos nas últimas décadas. Neste cenário, a RAM impõe um desafio significativo devido à rapidez com que os microrganismos conseguem desenvolver resistência aos fármacos disponíveis. A descoberta de novos antimicrobianos, por outro lado, não tem conseguido acompanhar essa velocidade crescente da resistência bacteriana (Li et al., 2023).

Para enfrentar essa complexa questão, estudos científicos ressaltam a importância de ações multissetoriais coordenadas, pautadas na abordagem “*One Health*”, que busca integrar as esferas internacional, nacional e regional nos domínios da saúde humana, animal e ambiental (Côrrea et al., 2023; Majumder et al., 2020). Sob o paradigma da “Saúde Única”, a OMS delineou um plano de combate à RAM, envolvendo diversos setores, como medicina humana, veterinária, pesquisa, pecuária, educação e comunicação.

No cerne deste plano, são delineados cinco objetivos fundamentais que incluem: aprimorar a conscientização e compreensão da RAM; fortalecer o conhecimento por meio de vigilância e pesquisa; reduzir a incidência de infecções; otimizar o uso de agentes antimicrobianos; e desenvolver argumentos econômicos para abordagens sustentáveis no desenvolvimento de novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções (WHO, 2015).

As estratégias nacionais de combate à RAM devem ser adaptadas para atender às prioridades específicas de cada país, levando em consideração fatores sociodemográficos. No entanto, dado o longo período necessário para o desenvolvimento, aprovação e distribuição de novos fármacos à população, a ênfase na prevenção e controle torna-se imperativa e deve ser constantemente fortalecida e priorizada (Li et al., 2023; Majumder et al., 2020).

Nesse contexto, destaca-se o papel fundamental dos profissionais de saúde, especialmente em ambientes hospitalares. A vigilância ativa de clones e linhagens disseminadas dentro do ambiente hospitalar ou entre os pacientes, aliada ao conhecimento de sua suscetibilidade aos antimicrobianos, torna-se essencial para iniciar um tratamento empírico adequado de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e para a efetiva prevenção e controle de infecções (Minarini et al., 2020).

O comprimento com essas práticas é crucial para enfrentar eficazmente a RAM e garantir a eficácia contínua dos tratamentos antimicrobianos disponíveis.

2.2 ENTEROBACTERIALES RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

A ordem Enterobacterales engloba bacilos Gram-negativos fermentadores de glicose, destacando-se membros proeminentes como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* (Janda; Abbott, 2021; Suay-García; Pérez-Gracia, 2019). Esses microrganismos são ubíquos, encontrando-se na microbiota gastrointestinal de animais e seres humanos (Janda; Abbott, 2021). Sua relevância clínica é significativa, uma vez que têm a capacidade de causar infecções em diversas regiões anatômicas, abrangendo desde quadros clínicos leves até condições graves, como septicemia, infecções complexas do trato urinário e infecções intra-abdominais (WHO, 2017).

As Enterobacterales demonstram uma notável capacidade de desenvolver mecanismos de resistência a diversos antimicrobianos, sendo as β -lactamases as enzimas de maior relevância clínica. As β -lactamases constituem um grupo diversificado de enzimas amplamente distribuídas entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, representando o mecanismo mais significativo de resistência aos β -lactâmicos em bactérias Gram-negativas (Li et al., 2023; Bush; Bradford, 2016). Essas enzimas atuam por meio da hidrólise do anel β -lactâmico, presente no núcleo estrutural de todos os β -lactâmicos. Dentre as β -lactamases, destacam-se as penicilinasas, as β -lactamases de espectro ampliado (*Extended-Spectrum β -Lactamases* - ESBL), a AmpC β -lactamase e as carbapenemases (BRASIL, 2020; BUSH, 2018).

As ERCs representam um dos principais fenótipos de resistência que constituem ameaças significativas à saúde global, conforme destacado pelo CDC (2019a) em sua categorização de ameaças urgentes, sérias e relativas. Exemplificando as I- Ameaças urgentes, incluem-se *Acinetobacter* resistente aos carbapenêmicos e Enterobacterales resistente aos carbapenêmicos (ERC). Nas II- Ameaças sérias, encontramos *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE), *Pseudomonas aeruginosa* multidroga resistente (MDR) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Adicionalmente, na categoria III- Ameaças relativas,

estão *Streptococcus* do grupo A resistente à eritromicina e *Streptococcus* do grupo B resistentes à clindamicina.

2.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS

Os carbapenêmicos, tais como meropenem, imipenem e ertapenem, são reconhecidos como antibióticos de última linha em muitos hospitais, devido à sua elevada potência e amplo espectro de ação, abrangendo a maioria dos grupos bacterianos. Além disso, esses medicamentos geralmente apresentam boa tolerância e baixa toxicidade em comparação com outros antibióticos, tornando-os opções terapêuticas bem aceitas (El-Gamal et al., 2017; Papp-Wallace et al., 2011).

Em 2012, o CDC definia ERC como aquelas pertencentes à família *Enterobacteriaceae* que não exibiam suscetibilidade ao imipenem, meropenem e/ou doripenem, além de serem resistentes às cefalosporinas de amplo espectro, como ceftriaxona, ceftazidima, cefotaxima e cefepima. No entanto, em 2015, a definição de ERC foi atualizada pelo CDC, passando a considerar a resistência *in vitro* a um ou mais carbapenêmicos, incluindo o ertapenem, sem a obrigatoriedade de apresentar resistência às cefalosporinas (CDC, 2015).

Dado que existem diversos mecanismos de resistência, as ERC podem ser categorizadas em dois grupos distintos: aquelas que produzem carbapenemases e as que não as produzem (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019). A figura 1 apresenta uma síntese dos principais mecanismos empregados pelas ERC para garantir sua sobrevivência diante da ação dos carbapenêmicos.

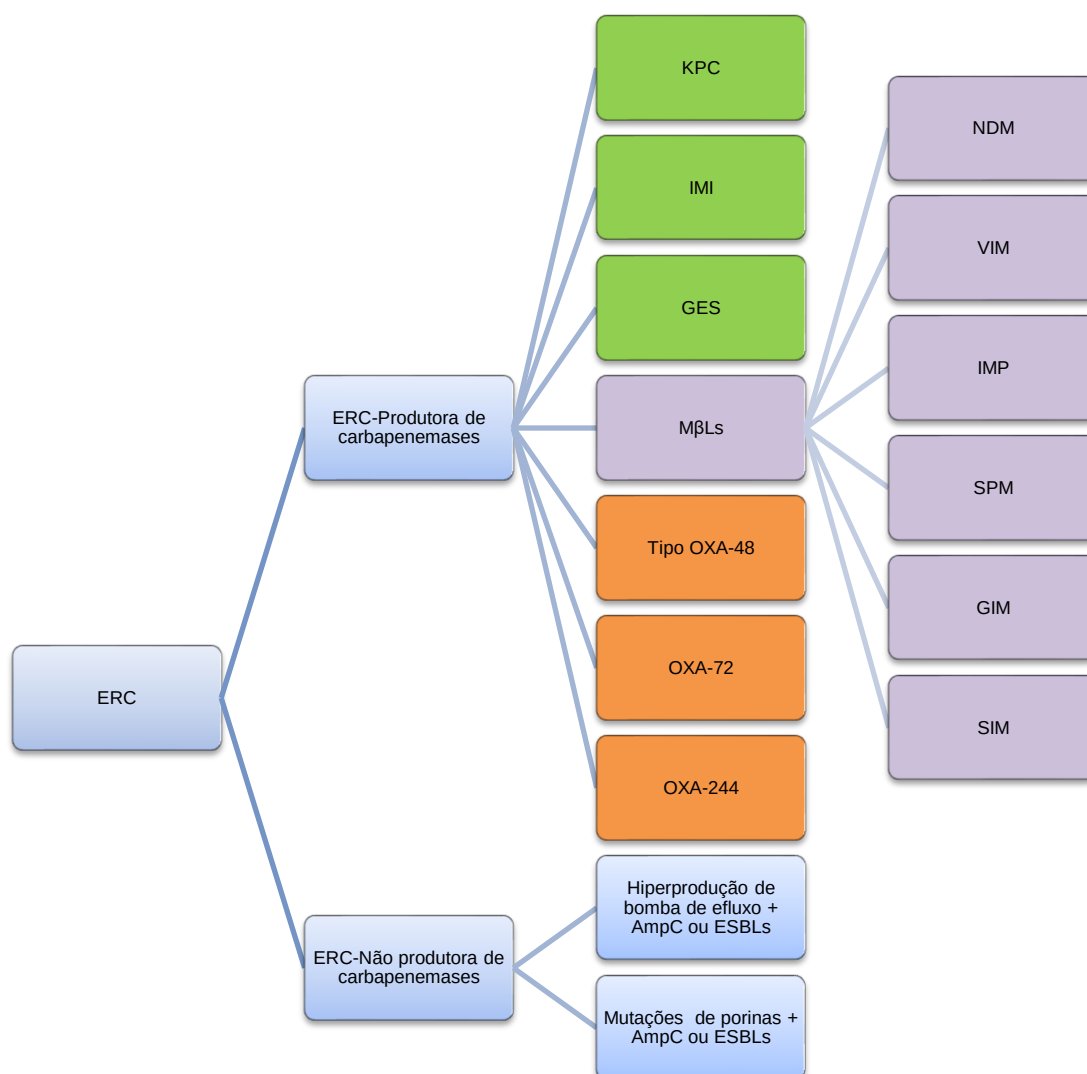


Figura 1. Classificação dos diferentes mecanismos de resistência aos medicamentos na ERC.

Legenda: Verde: Ambler classe A, Roxo: Ambler classe B, Laranja: Ambler classe D. ERC: Enterobacterales resistente a carbapenêmicos; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; IMI: β -lactamase hidrolisante de Imipenem; GES: Guiana β -lactamase de espectro estendido; M β Ls: Metallo- β -lactamase; OXA: Oxacilinase; NDM: New Delhi metallo- β -lactamase; VIM: Verona imipenemase; IMP: Imipenemase; SMP: São Paulo metallo- β -lactamase; GIM: Imipenemase alemã; SIM: Imipenemase de Seul; AmpC: Ampicilinase tipo C; ESBL: β -lactamas de espectro estendido.

Fonte: Adaptado de Suay-García; Pérez-Gracia, 2019.

2.3.1 ERC não produtora de Carbapenemases

As modificações nos níveis de expressão de porinas, juntamente com as alterações nos sítios de ligação da Proteína de ligação à Penicilina (PLP), restringem o acesso da droga aos seus alvos. A superexpressão de bombas de efluxo também

exerce um efeito limitante, favorecendo o deslocamento ampliado da droga a partir do espaço periplasmático bacteriano (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019).

Os mecanismos mencionados anteriormente são inespecíficos, ou sejam, atuam sobre uma variedade de classes de antibióticos, potencialmente resultando em um perfil de multirresistência. Embora possam conferir resistência ao ertapenem, é importante notar que meropenem ou imipenem ainda podem manifestar atividade bactericida em concentrações elevadas (Lasko; Nicolau, 2020; Tängdén et al., 2013). É relevante destacar que as ERC não produtoras de carbapenemases não apresentam o mesmo potencial de disseminação devido à ausência da resistência conferida por plasmídeos, uma característica observada nas ERC produtoras de carbapenemases (Tamma et al., 2017).

2.3.2 ERC produtora de carbapenemase

As carbapenemases, para fins terapêuticos, podem ser categorizadas em serino-carbapenemases e metalo- β -lactamases (M β LS). As serino-carbapenemases utilizam um nucleófilo de serina para efetuar sua ação, sendo exemplificadas pelas *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs) - classe A de Ambler, e pelas enzimas hidrolisantes de Oxacilina-48 (OXA-48), pertencentes à classe D de Ambler. Já as M β LS, integrantes da classe B de Ambler, dependem de cofatores de zinco para realizar a hidrólise do anel β -lactâmico, destacando-se clinicamente as New Delhi metallo- β -lactamase (NDM), imipenemase (IMP) e Verona-imipenemase (VIM) (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019; Codjoe; Donkor, 2018; Ambler, 1980). A intensidade de ação de cada uma dessas enzimas é variável, assim como a distribuição geográfica em que são encontradas (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019). O quadro 1 apresenta de forma mais detalhada os tipos e as classificações das β -lactamases.

Quadro 1 - Classificação das β -lactamases conforme as classes moleculares de Ambler ou grupos funcionais de Bush-Jacoby-Medeiros.

Família Enzima	Grupo Funcional	Classe Molecular	Sítio Ativo	Características
CMY	1	C	Serina	Enzimas de amplo espectro; Hidrolisam cefalosporinas de 3 ^a e 4 ^a gerações
PDC	1	C		
ADC	1	C		
TEM	2b, 2be, 2br, 2ber	A	Serina	Enzimas de amplo espectro, incluindo a maioria de ESBL e Serina-carbapenemases
SHV	2b, 2be, 2br	A		
CTX-M	2be	A		
PER	2be	A		
VEB	2be	A		
GES	2f	A		
NMC	2f	A		
KPC	2f	A		
SME	2f	A		
OXAs	2d	D	Serina	Enzimas que hidrolisam oxacilina, incluem carbapenemases e raras ESBL
IMP	3	B	Zinco	Metallo- β -lactamases, hidrolisam a maioria dos β -lactâmicos, incluindo carbapenêmicos, mas não hidrolisam monobactâmicos.
VIM	3	B		
NDM	3	B		
SPM	3	B		

Legenda: CMY: Cefamicinase; PDC: Cefalosporinase derivada de *Pseudomonas*; ADC: Cefalosporinase derivada de *Acinetobacter*; TEM: Temoniera β -lactamase; SHV: Sulfidril-variável β -lactamase, CTX-M: Cefotaximase-Munique; PER: *Pseudomonas* resistência estendida; VEB: Vietnã β -lactamase estendida; GES: Guiana β -lactamase de espectro estendido; NMC: Não metalo carbapenemase; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; SME: *Serratia marcescens* enzima; OXA: Oxacilinase; IMP: Imipenemase; VIM: Verona imipenemase; NDM: New Delhi metalo- β -lactamase; SPM: São Paulo Metallo- β -lactamase; ESBL: β -lactamase de espectro estendido.

Fonte: Adaptado de Oplustil et al., 2020.

2.3.2.1 Carbapenemases da Classe A

A enzima proeminente neste grupo é a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), cuja síntese é atribuída ao gene *blaKPC*. Esta enzima demonstra a habilidade de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e aztreonam, com a possibilidade de uma inibição parcial mediante o ácido clavulânico (Rabaan et al., 2022).

Originalmente descoberta em 1996 em uma linhagem de *Klebsiella pneumoniae* isolada de uma amostra clínica de um paciente na Carolina do Norte (Yigit et al., 2001), essa linhagem rapidamente se disseminou pelos EUA, especialmente na região nordeste do país (Bradford et al., 2004). Sua significância clínica é ressaltada pelo fato de ser a linhagem mais prevalente e amplamente disseminada globalmente, havendo estudos que sugerem uma associação entre a disseminação intercontinental desses microrganismos e os cuidados médicos recebidos nos EUA (Porreca et al., 2018).

Além dos EUA, a KPC tem sido amplamente documentada em países como Israel, Grécia, Itália e América Latina (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019; Logan; Weinstein, 2017). Em Israel, diversas instituições notificaram aumento de Enterobacterales produtoras de KPC a partir de 2006 (Navon-Venezia et al., 2008; Leavitt et al., 2007). A Grécia apresenta uma das mais elevadas taxas de ERC no mundo, sendo a KPC o principal mecanismo de resistência contra carbapenêmicos desde 2007 (Logan; Weinstein, 2017). A Colômbia foi o primeiro país da América Latina a relatar um surto de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC, originado de um paciente que havia viajado para Israel (Maya et al., 2013). Desde então, Argentina, Chile, México e Brasil também reportaram a detecção de ERC produtores de KPC (Logan; Weinstein, 2017).

A enzima KPC foi identificada em várias bactérias por meio de estudos moleculares e subdividida em KPC-1 a 4 (Monteiro; Santos, 2009), com as seguintes atribuições: KPC-1 em isolados de *Klebsiella pneumoniae*; KPC-2 em *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica* e *Enterobacter* sp.; KPC-3 em *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter cloacae*. Para KPC-4, não foram encontrados microrganismos relacionados (Cai et al., 2008). É relevante destacar que a presença da KPC não se limita mais às linhagens de *Klebsiella pneumoniae*, sendo observada em isolados clínicos de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella*

enterica, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* e *Serratia marcescens* (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019).

2.3.2.2 Carbapenemases da Classe B

Fazem parte deste grupo as MβLs, que são resistentes aos β-lactâmicos, incluindo inibidores de β-lactamase, mas podem permanecer sensíveis ao aztreonam (Rabaan et al., 2022). Quelantes iônicos do Zinco, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou o ácido dipicolínico (DPA), são eficazes em bloquear as carbapenemases desta classe, proporcionando uma ferramenta útil na identificação de microrganismos produtores dessas enzimas (Ma et al., 2023).

As MβLs mais amplamente disseminadas são IMP, VIM e NDM, sendo notáveis devido à sua relevância clínica significativa, derivada da ampla capacidade de hidrolisar carbapenêmicos e ao alto potencial de transferência horizontal. Historicamente, IMP e VIM, anteriormente as mais prevalentes do grupo, têm origem em *Pseudomonas aeruginosa*, com NDM emergindo mais recentemente (Rabaan et al., 2022; Suay-García; Pérez-Gracia, 2019).

As carbapenemases do tipo IMP foram inicialmente detectadas em Enterobacterales no Japão durante a década de 1990. A provável origem foi um surto originado por uma linhagem de *Serratia marcescens*, que afetou sete hospitais japoneses e, subsequentemente, disseminou-se extensivamente pelo país, incluindo Taiwan (Ito et al., 1995; Livermore; Woodford, 2000; Nordmann; Naas; Poirel, 2011). Por outro lado, as carbapenemases do tipo VIM foram isoladas pela primeira vez em Verona, Itália, em 1997 (Gupta, 2008). No início dos anos 2000, casos de Enterobacterales produtoras de VIM já estavam sendo relatados, com um pico de endemidade observado na Grécia, envolvendo linhagens de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (Walsh et al., 2005).

No que diz respeito à NDM, trata-se da MβL descoberta mais recentemente (2009), sendo identificada em uma linhagem de *Klebsiella pneumoniae* proveniente de um paciente sueco que recebeu atendimento médico em Nova Delhi, Índia (Yong et al., 2009). A Índia é considerado o principal reservatório de bactérias produtoras de NDM, juntamente com Paquistão e Sri Lanka (Nordmann; Poirel, 2014). Muitos dos primeiros casos no Reino Unido foram associados ao recebimento de cuidados médicos na Índia ou no Paquistão e, posteriormente, a transmissão expandiu-se para

outras partes da Europa e também para os EUA, possivelmente por meio de turistas (Gupta et al., 2011; Poirel et al., 2010).

É crucial destacar que um desafio adicional relacionado às bactérias produtoras de NDM é a sua capacidade de disseminação por meio de fontes ambientais em ambientes comunitários. Diversas pesquisas identificaram ERC produtoras de NDM em infecções hospitalares e infecções adquiridas na comunidade, abrangendo casos como infecções do trato urinário, septicemia, infecções pulmonares, peritonite, infecções associadas a dispositivos e infecções de tecidos moles (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019; Poirel et al., 2014.). Atualmente, o NDM predominante em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019).

2.3.2.3 Carbapenemases da Classe D

As β -lactamases de classe D formam um grupo estruturalmente diverso de enzimas e foram nomeadas, a época de sua descoberta, de oxacilinases (OXA) devido à atividade hidrolítica aumentada em relação às penicilinas semissintéticas, como a oxacilina (Hirvonen; Spencer; Kamp, 2021). Dentro do grupo das β -lactamases OXA, identificamos cinco subgrupos que se destacam pela sua potente atividade hidrolítica em carbapenêmicos. Esses subgrupos incluem as β -lactamases semelhantes à OXA-23, aquelas semelhantes à OXA-24/40, as semelhantes à OXA-51 e as semelhantes à OXA-58, predominantemente associadas à bactéria *Acinetobacter baumannii*. Notavelmente, as β -lactamases semelhantes à OXA-48, embora também presentes em *Acinetobacter* spp., representam o único subgrupo com uma prevalência significativa nas Enterobacterales (Spencer; Kamp, 2021; Duin; Doi, 2017; Hirvonen; Liapis et al., 2014).

Uma preocupação substancial relacionada a essas carbapenemases reside no fato de que nenhum inibidor atualmente disponível demonstra eficácia contra elas. Além disso, apresentam uma notável propensão à mutação, o que amplia sua capacidade de modificar seu espectro de atividade de maneira significativa (Stewart et al., 2018). Distinguem-se das classes A e B por sua resistência aos inibidores de β -lactamases e ao EDTA. Além disso, exibem uma atividade hidrolítica moderada contra carbapenêmicos. Em cenários nos quais nenhum outro mecanismo de resistência está presente, essas carbapenemases não afetam as cefalosporinas de espectro estendido (Ma et al., 2023).

As enzimas pertencentes ao tipo OXA-48 são predominantemente identificadas em bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* e *Enterobacter cloacae* (Nordmann; Poirel, 2014; Walther-Rasmussen; Høiby, 2006).

2.4 OPÇÕES TERAPÊUTICAS PARA TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR ERC

Atualmente, enfrentamos um desafio significativo no tratamento das ERC, uma vez que demonstram resistência a praticamente todos os antibióticos disponíveis (Rabaan et al., 2022). Apesar dessa resistência generalizada, diversas abordagens estão sendo exploradas para o tratamento das infecções causadas por essas bactérias, levando em consideração os distintos mecanismos de resistência apresentados. Em linhas gerais, a terapia para infecções por ERC deve ser altamente personalizada, considerando o perfil de suscetibilidade específico, o tipo e a gravidade da infecção, além das características individuais do paciente. As opções de tratamento englobam estratégias como a reutilização de antibióticos já existentes, terapias combinadas com esses agentes, e a avaliação de novos inibidores de β -lactamases, bem como o desenvolvimento de novos antimicrobianos (Karaiskos et al., 2019).

Entre as opções terapêuticas já existentes, destacam-se medicamentos como as polimixinas (colistina e polimixina B), tigeciclina, aminoglicosídeos e fosfamicina (Karaiskos et al., 2019; Rodríguez-Baño et al., 2018). As polimixinas e a tigeciclina são as classes mais comumente empregadas; no entanto, há relatos de ERC, particularmente *Klebsiella pneumoniae*, que desenvolveram resistência à colistina, comprometendo sua eficácia quando utilizada como monoterapia (Sader et al., 2018). Diante desse desafio, alguns estabelecimentos de saúde optam por combinar a colistina com o meropenem, observando uma redução significativa na taxa de mortalidade, especialmente em pacientes em estado de choque séptico (Daikos et al., 2014). No entanto, é importante ressaltar que as polimixinas podem induzir efeitos adversos significativos, incluindo nefrotoxicidade, neurotoxicidade e pigmentação cutânea (Karaiskos et al., 2019).

A tigeciclina teve origem a partir de modificações na estrutura da tetraciclina, resultando em uma expansão do espectro da atividade antibacteriana que abrange diversos patógenos Gram-positivos e Gram-negativos (Hawkey; Finch, 2007). Destaca-se que, devido à sua eficácia, a tigeciclina é atualmente considerada a opção

de tratamento de última linha contra patógenos bacterianos multirresistentes, especialmente as ERC (Seiffert et al., 2014).

No tratamento de infecções por ERC de menor concentração inibitória mínima, os carbapenêmicos permanecem a opção terapêutica preferencial, contudo, sua administração requer doses elevadas ou a inclusão em terapias combinadas (Rabaan et al., 2022). Essa abordagem envolve a combinação de dois carbapenêmicos diferentes, sendo que um, devido à sua maior afinidade com as carbapenemases, é hidrolisado preferencialmente (geralmente, esse papel é desempenhado com o ertapenem). Simultaneamente, o segundo carbapenêmico mantém uma dose de ataque elevada (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019). Embora a terapia combinada tenha demonstrado aumento na eficácia do tratamento, é importante considerar que esta abordagem também está associada a um aumento nos efeitos colaterais e na probabilidade de mortalidade (Rabaan et al., 2022).

Outras terapias combinadas específicas foram aprovadas para enfrentar a resistência das ERC, incluindo ceftazidima-avibactam, meropenem-vaborbactam e imipenem-relebactam. Outros compostos, como aztreonam-avibactam, estão em fase de desenvolvimento. Além disso, recentemente foram aprovados agentes adicionais, as quais podem ser considerados para o tratamento das ERC, como plazomicina, cefiderocol e eravaciclina (Eljaaly et al., 2019; Rodríguez-Baño et al., 2018).

Apesar da crescente disponibilidade dessas opções, estudos clínicos sobre suas eficácias ainda são limitados. Além disso, os espectros de ação dessas terapias são variáveis, por exemplo: ceftazidima-avibactam demonstra atividade contra produtores de KPC e OXA-48, mas não atua sobre M β L (Duin; Bonomo, 2016; Rodríguez-Baño et al., 2018). O meropenem-vaborbactam inibe as serinas carbapenemases das classes A e C (Petty et al., 2018), enquanto a plazomicina exibe atividade de amplo espectro contra cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos, no entanto, as linhagens produtoras de M β L (especialmente NDM) são resistentes (Walkty et al., 2014).

Devido à restrição expressiva nas opções terapêuticas disponíveis, todos os fármacos potencialmente ativos devem ser testados *in vitro*. Além disso, ao prescrever antibióticos, a equipe clínica deve ponderar cuidadosamente o significado clínico do tipo específico de ERC prevalente na região e/ou ambiente hospitalar em questão (Rodríguez-Baño et al., 2018).

2.5 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E COVID-19: DUAS PANDEMIAS QUE SE CRUZARAM

A definição clássica de uma pandemia, conforme estabelecido por Kelly (2011), refere-se a uma epidemia que se estende globalmente, ou em uma área muito ampla, cruzando fronteiras internacionais e geralmente afetando um grande número de pessoas. A OMS desempenha um papel crucial ao declarar a ocorrência de uma pandemia global, fundamentando sua decisão em uma análise abrangente de relatórios mundiais e na consideração das opiniões de especialistas.

Conforme os critérios da OMS, a caracterização de uma pandemia requer a observação cuidadosa da disseminação do microrganismo entre os seres humanos, bem como a confirmação de que o surto está ocorrendo de maneira sustentada em nível comunitário em pelo menos três países. É imperativo destacar que esses países devem pertencer a, no mínimo, duas regiões distintas da OMS (WHO, 2009).

A RAM tem sido destacada em diversos estudos recentes como a ameaça mais premente para a saúde e a economia globais, podendo ser equiparada a uma pandemia (CDC, 2013; O'Neill, 2014; WHO, 2019). Entretanto, este grave problema de saúde pública foi sobreposto pela emergência da COVID-19 (Murray, 2020). Em 30 de janeiro de 2020, a OMS anunciou que o surto do novo coronavírus constituía uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional, o nível mais elevado de alerta de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional. Em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi oficialmente categorizada pela OMS como uma pandemia (OPAS, 2023). Foi considerada o evento de saúde global mais impactante desde a gripe espanhola no início do século XX (Murray, 2020).

Os coronavírus são conhecidos pela humanidade há algum tempo, com destaque para o coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) e o coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), dois vírus altamente transmissíveis e patogênicos que emergiram no início do século XXI (Cui; Li; Shi, 2019). Este grupo diversificado de vírus demonstra amplo tropismo, conferindo-lhes a capacidade de causar doenças disseminadas. Em 2002, houve o aumento da transmissão de SARS-CoV-1 na província de Guangdong, China, enquanto em 2012 prevaleceu a transmissão do MERS-CoV em países do Oriente Médio, ambas com características epidêmicas (Cui; Li; Shi, 2019; Drosten et al., 2003; Zaki et al., 2012; Zhong et al., 2003). Entretanto, segundos dados do Painel Estatístico

da OMS (WHO, 2023b), o SARS-CoV-2, agente causador da pandemia de COVID-19, desde o final de 2019 até 14 de janeiro de 2024, infectou 774.291.287 indivíduos e resultou na morte de 7.019.704 em todo o mundo.

Diante da considerável taxa de transmissão de humano para humano do SARS-CoV-2, especialmente acentuada nos estágios iniciais da pandemia, e da ampla variedade de manifestações clínicas evidenciadas em pacientes infectados, as autoridades de saúde pública e os órgãos governamentais responderam com a implementação de medidas sem precedentes. Essas estratégias abrangentes incluíram restrições de viagens, a aplicação de toque de recolher em grande escala, o isolamento e a quarentena direcionados a indivíduos contaminados, a introdução de práticas de distanciamento social e regulamentação da mobilidade da população em geral, o fechamento de uma diversidade de estabelecimentos e, posteriormente, a imposição do uso obrigatório de máscaras para indivíduos saudáveis em ambientes públicos. Adicionalmente, práticas de higiene como a lavagem constante das mãos foram extensivamente promovidas (Khan et al., 2021; Xu et al., 2020).

O conjunto de medidas implementadas pode ter contribuído de maneira benéfica para conter a propagação de bactérias resistentes aos antimicrobianos em escala local e global, conforme apontado por Murray (2020). Contudo, é imperativo destacar que, em paralelo, a gestão deficiente do uso de antibióticos durante a pandemia de COVID-19 representa uma preocupação significativa. O uso intensivo e sem precedentes desses agentes em escala global, conforme discutido por Rehman (2023) e Witt et al. (2023), levanta a possibilidade de que anos de progresso na abordagem da resistência antimicrobiana tenham sido comprometidos.

Uma das principais estratégias recomendadas para enfrentar a RAM consiste na promoção da redução do uso inadequado ou excessivo de antibióticos, conforme destacado por Murray (2020). No entanto, durante o decorrer da pandemia, observou-se precisamente o oposto dessa recomendação: um aumento substancial no uso de antibióticos no tratamento de pacientes com COVID-19, mesmo diante das orientações contrárias da OMS (WHO, 2023a). Como justificativa para essa prática observada, alguns estudos mencionaram a presença de manifestações clínicas em pacientes com COVID-19 semelhantes às de pneumonias bacterianas, a possibilidade de infecções secundárias e a adoção geral de protocolos nos cuidados de saúde (Murray, 2020; Rehman, 2023; Witt et al., 2023).

É pertinente ressaltar que somente entre 1% e 10% dos casos COVID-19 foram registrados com infecções secundárias (Murray, 2020). A revisão sistemática conduzida por Rawson e colaboradores (2020) revelou que até 72% dos pacientes críticos com COVID-19 foram submetidos a tratamento antibiótico, incluindo regimes de amplo espectro, sem a devida confirmação de uma infecção bacteriana secundária. Durante o período de março de 2020 a outubro de 2020, quase 80% dos pacientes hospitalizados com COVID-19 nos EUA foram administrados com antibióticos, sendo que aproximadamente metade desses pacientes recebeu ceftriaxona, frequentemente combinada com azitromicina (CDC, 2022). Esses dados sugerem que a antibioticoterapia poderia ter sido mais criteriosamente gerida.

Outro aspecto importante, possivelmente correlacionado com o aumento das taxas de infecções resistentes em contextos hospitalares, diz respeito às abruptas alterações na prestação geral de cuidados de saúde e, especialmente, nas estratégias de prevenção de infecções. Nos estágios iniciais da pandemia de COVID-19, muitos hospitais depararam-se com a escassez de equipamentos de proteção individual (EPIs), o que resultou na interrupção ou adaptação de protocolos preventivos. Além dos impactos negativos derivados da falta de diversos insumos, observou-se uma notável instabilidade e esgotamento entre os profissionais de saúde, agravando ainda mais a capacidade da equipe em fornecer serviços de prevenção de infecções consistentes e confiáveis (Witt et al., 2023).

2.5.1 O agravamento da RAM no período da pandemia de COVID-19

Diversos estudos e relatórios destacam que as IRAS têm registrado um aumento global em decorrência da pandemia de COVID-19. Um estudo retrospectivo sobre infecções de corrente sanguínea relacionadas a cateteres centrais (ICSRC) realizado nos EUA revelou que, em hospitais onde mais de 10% dos pacientes internados eram casos de COVID-19, as taxas de ICSRC eram significativamente mais elevadas quando comparadas com hospitais em que a COVID-19 representava menos de 5% das internações (Fakih et al., 2021). Outro exemplo marcante de IRAS é a pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), que demonstrou uma associação significativa com a COVID-19 em países da Europa (Maes et al., 2021; Rouzé et al., 2021), América do Norte (Evans et al., 2022; Lastinger et al., 2022) e América Latina (Ochoa-Hein et al., 2021).

Um abrangente estudo de coorte retrospectivo multicêntrico conduzido em 36 unidades de terapia intensivas (UTIs) na Europa destacou que a incidência de infecções do trato respiratório inferior associadas ao ventilador, incluindo traqueobronquite associada ao ventilador (TAV) e PAV, é notavelmente superior em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 em comparação com aqueles que apresentaram pneumonia por influenza ou que não estão acometidos por infecção viral. Bacilos gram-negativos emergiram como os principais agentes responsáveis por grande parte (82% a 89,7%) dessas infecções, destacando-se *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* e *Klebsiella spp.* (Rouzé et al., 2021).

O relatório especial do CDC sobre o impacto dos EUA no cenário da RAM após a pandemia de COVID-19 destaca um aumento significativo nas infecções hospitalares causadas por bactérias MDR, resultando em um aumento de pelo menos 15% nas mortes no primeiro ano da crise sanitária. O CDC especificamente observou um crescimento notável nas infecções causadas por diversos patógenos associados à assistência médica, incluindo *Acinetobacter* resistente a carbapenêmicos, *Enterococcus* resistente à vancomicina, *Candida* resistente a medicamentos e ERC. Este último grupo experimentou um aumento alarmante de 35% nas infecções iniciadas durante o período de internação hospitalar (CDC, 2022).

Outros estudos conduzidos em diferentes regiões do mundo também revelaram uma série de registros preocupantes. Uma coorte retrospectiva multicêntrica realizada na Coreia do Sul investigou as mudanças nas tendências de novos casos (primeira identificação em amostras clínicas ou fezes) e bacteremia com microrganismos multirresistentes antes e depois do surgimento da pandemia de COVID-19. Os resultados do estudo apontam para um aumento significativo de novos casos de *Acinetobacter baumannii* extensivamente resistente a drogas e de *Pseudomonas aeruginosa* de difícil tratamento. Além disso, foi observado um notável crescimento de 106% (intervalo de confiança de 78-135%, $p=0,001$) nas bacteremias causadas por ERC na era pós-COVID-19 (La et al., 2022).

Um estudo retrospectivo abrangendo dois anos, de abril de 2019 a abril de 2021, revelou que a pandemia de COVID-19 alterou significativamente o panorama das IRAS em UTIs de um hospital de doenças infecciosas e tropicais na Sérvia. Durante esse período, foram observadas taxas de resistência acima de 80% para a maioria dos antimicrobianos testados, juntamente com um aumento significativo na presença de *Acinetobacter spp.* Além disso, houve uma tendência crescente de

resistência em linhagens de *Klebsiella* spp. a fluoroquinolonas ($R_2 = 0,980$, $p = 0,01$) e carbapenêmicos ($R_2 = 0,963$, $p = 0,02$), o que possivelmente contribuiu para taxas alarmantes de resistência em infecções de corrente sanguínea, pneumonia e infecções do trato urinário (Despotovic et al., 2021).

Um surto de *Klebsiella pneumoniae* produtora da enzima carbapenemase NDM-1 foi documentado em uma UTI francesa durante um pico de casos de COVID-19, levantando preocupações sobre possíveis falhas nos protocolos de biossegurança. Os autores indicam que fatores como a sobrecarga de trabalho, exaustão dos profissionais de saúde e o uso excessivo e inadequado de luvas podem ter contribuído para a propagação do surto (Amarsy et al., 2021). Em um complexo hospitalar terciário no Brasil, um estudo foi conduzido para avaliar Enterobacterales produtoras da enzima NDM, revelando um aumento progressivo na taxa de casos de NDM por culturas de vigilância total entre 2017 e 2021 (chi-2 para tendência, $p < 0,0001$). Este aumento foi particularmente associado a uma incidência maior em unidades designadas para tratamento de pacientes com COVID-19 (teste exato de Fisher, $p < 0,0001$) (Monteiro et al., 2023).

Durante o período de 2020 a 2021, os países da América Latina e do Caribe testemunharam o surgimento clínico de Enterobacterales produtoras de carbapenemase previamente não caracterizadas localmente. Além disso, houve um aumento na prevalência de carbapenemases já identificadas, e em alguns isolados, a observação de coprodução de múltiplas carbapenemases (Thomas et al., 2022). Este aumento da resistência aos carbapenêmicos em Enterobacterales, durante a pandemia, instigou a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/OMS a recomendar a implementação e fortalecimento da vigilância e pesquisa epidemiológica aos Estados membros. Essas recomendações visam detectar a presença de microrganismos portadores de genes de resistência aos carbapenêmicos, permitindo a adoção de medidas oportunas de prevenção e controle. A OPAS orienta, ainda, a implementação de programas efetivos de administração de medicamentos antimicrobianos em ambientes hospitalares e ambulatoriais (PAHO, 2021). Essas ações coletivas são essenciais para enfrentar os desafios emergentes de resistência antimicrobiana e fortalecer as capacidades dos sistemas de saúde na região.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi realizar uma avaliação abrangente da prevalência dos genes de resistência aos carbapenêmicos, como foco nos genes específicos *blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaIMP* e *blaVIM*, em Enterobacterales isoladas de amostras de aspirado traqueal provenientes de pacientes internados em um hospital público de referência situado em uma região não metropolitana do país.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Todos os objetivos se referem aos pacientes internados no hospital com cultura de aspirado traqueal positivas para ERC, durante o período de 2020 a 2023:

- Avaliar a taxa de positividade em culturas de aspirado traqueal;
- Investigar a prevalência de espécies da ordem Enterobacterales em culturas de aspirado traqueal;
- Verificar a presença de múltiplos genes de resistência em uma mesma linhagem bacteriana de Enterobacterales;
- Analisar as características sociodemográficas e clínicas disponíveis dos pacientes, verificando se apresentaram fatores de risco associados à ocorrência de determinada espécie bacteriana ou gene de resistência específico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CLASSIFICAÇÃO DO ESTUDO E APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA

Este estudo, de natureza transversal retrospectiva, visou investigar a presença dos genes *blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaIMP* e *blaVIM* em linhagens de ERC isoladas de amostras do trato respiratório inferior (aspirado traqueal) de pacientes intubados e/ou sob ventilação mecânica. A pesquisa foi conduzida em um hospital universitário em Juiz de Fora – MG, durante o período compreendido entre janeiro de 2020 e agosto de 2023.

O hospital em questão é uma instituição sem fins lucrativos, mantida pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e dispõe de um total de 140 leitos para internação distribuídos em diversas áreas especializadas. Estas incluem 17 leitos pediátricos, 09 leitos na Unidade de Terapia Intensiva, 32 na enfermaria de Medicina da Mulher, 23 na enfermaria de Medicina do Homem, 5 destinados ao Transplante de Medula Óssea, 25 na enfermaria de Cirurgia do Homem, 16 na enfermaria de Cirurgia da Mulher, 10 na Ginecologia e 3 na Nefrologia.

O serviço de Microbiologia do hospital é responsável pela condução do processamento da amostra, isolamento e identificação das bactérias, realização do teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) e investigação de mecanismos de resistência em todas as amostras clínicas referenciadas.

Os subtópicos do tópico 4.2 deste trabalho detalham as técnicas empregadas pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário para o processamento das amostras de aspirado traqueal. Os demais tópicos nesta seção de metodologia explicam minuciosamente a execução das ações específicas desta pesquisa.

4.2 ROTINA DE PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS DE ASPIRADO TRAQUEAL NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

4.2.1 Coleta e processamento de amostras de aspirado traqueal

As amostras de aspirado traqueal foram obtidas por meio de sonda de aspiração de pacientes intubados e/ou em ventilação mecânica. A coleta foi executada

pela equipe de enfermagem, utilizando um frasco estéril acoplado a um sistema de sucção, conhecido como bronco coletor (Kalil et al., 2016).

No momento de recebimento no setor de Microbiologia do laboratório, as amostras de aspirado traqueal foram semeadas em placas de ágar Sangue de carneiro 5% (Renylab®) e de ágar *MacConkey* (Biokar diagnostics®), com o emprego de uma alça calibrada de 10µL, devido à natureza da cultura quantitativa (diluição final 1:20.000). A placa de ágar Sangue foi incubada em jarra de microaerofilia, enquanto a placa de ágar *MacConkey* foi incubada em estufa de aerobiose (FANEM LTDA) a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, pelo período de 24 a 48 horas.

Após a incubação, a avaliação do crescimento bacteriano nas placas ocorreu por meio da observação de colônias isoladas, sendo consideradas contagens $\geq 10^5$ UFC/mL (Oplustil et al., 2020; Winn et al., 2018).

4.2.2 Identificação das linhagens bacterianas

A identificação das espécies bacterianas recuperadas foi realizada por meio de métodos fenotípicos manuais, utilizando provas bioquímicas e fisiológicas de identificação. Para identificar as espécies bacterianas da ordem Enterobacterales, foram empregados os seguintes testes: prova de oxidase, fermentação da lactose, método de Rugai modificado - IAL (Instituto Adolfo Lutz), utilização de citrato como fonte de carbono, descarboxilação dos aminoácidos lisina, arginina e ornitina, prova de Voges-Proskauer (VP), malonato, motilidade e avaliação da resistência intrínseca a antimicrobianos (Winn et al., 2018).

4.2.3 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos

A avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos foi conduzida através do teste de disco-difusão em ágar *Mueller-Hinton* (Ionlab Equipamentos para Laboratórios e Hospitais LTDA), utilizando discos de imipenem (10 µg), ertapenem (10 µg) e meropenem (10 µg) (Oxoid, Reino Unido).

Para o procedimento, foram retiradas 3 a 5 colônias individuais do ágar Sangue ou do ágar *MacConkey*, com o auxílio de uma alça bacteriológica estéril, e emulsificadas em 3–4 ml de solução salina estéril (NaCl 0,85%). Posteriormente, essa solução foi ajustada para um padrão de 0,5 na escala de McFarland, utilizando um

densitômetro. A partir desse padrão, as células bacterianas foram espalhadas no ágar *Mueller-Hinton* com o auxílio de um swab estéril. Após 16–18 horas de incubação a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, o diâmetro da zona de inibição ao redor dos discos de antibióticos foi medido com paquímetro e interpretado como sensível, intermediário (sensível, exposição aumentada) ou resistente, conforme as diretrizes do BrCAST (2023).

As linhagens de Enterobacterales isoladas que não apresentaram resistência aos três carbapenêmicos testados pelo método de disco de difusão foram submetidas ao teste Epsilométrico para os antimicrobianos meropenem e imipenem, utilizando fitas de gradiente antimicrobiano Etest (BioMérieux) (BRASIL, 2020).

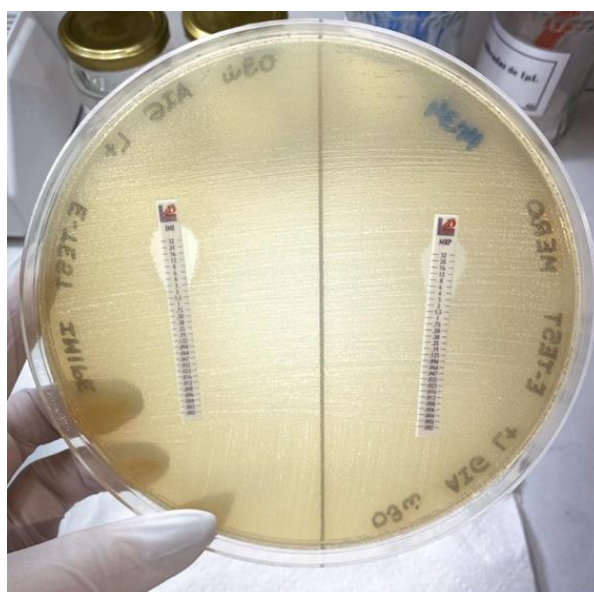


Figura 2. Teste de suscetibilidade a antimicrobianos (TSA) pelo método episilométrico para linhagem de *Klebsiella pneumoniae*.

Fonte: Imagem cedida do banco de imagens da professora Dr.^a Patrícia Guedes Garcia.

4.2.4 Triagem para a produção de carbapenemases

O método de inativação de carbapenêmicos modificado (mCIM/eCIM) foi empregado para detectar a produção de carbapenemases e diferenciar entre as enzimas serino e M β L, particularmente em amostras onde as Enterobacterales isoladas demonstraram resistência a pelo menos um carbapenêmico, conforme avaliado pelo TSA (BRASIL, 2020).

O método de inativação do carbapenêmicos foi originalmente descrito por Zwaluw e colaboradores (2015) e baseia-se no método de disco-difusão utilizando a

linhagem de referência *Escherichia coli* NCTC 12241 sensível a carbapenêmicos. No decorrer do procedimento, o meropenem presente no disco de suscetibilidade seria neutralizado caso o isolado bacteriano estivesse produzindo a enzima carbapenemase. Tal inativação permitiria o crescimento sem restrições da linhagem indicadora *Escherichia coli* NCTC 12241. Em contraste, os discos incubados em suspensão que não apresentassem a presença de carbapenemases resultariam em uma clara zona de inibição.

O teste mCIM difere do método original pelo fato de que a suspensão bacteriana é preparada em *Tryptic Soy Broth* (TSB) (Becton Dickinson and Company), após a adição do disco de meropenem é realizada incubação por 4 horas. Diâmetro de halo de inibição de 6 a 15 mm são considerados positivos para carbapenemase, 16 a 18 mm são considerados indeterminados e ≥ 19 mm negativos. Quanto há colônias dentro do halo de inibição, são considerados positivos diâmetros ≤ 18 mm e indeterminados aqueles ≥ 19 mm (Pierce et al., 2017).

Considerando que a caracterização precoce de produtores de M β L é uma ferramenta importante para guiar o uso de ceftazidima-avibactam, foi proposto o eCIM. Esta modificação do método CIM incorpora o uso de EDTA com o propósito de impedir a degradação do meropenem por metalo- β -lactamases, apresentando, de acordo com os pesquisadores, uma notável especificidade e sensibilidade de 100%. No procedimento do método eCIM, dois tubos contendo 2 mL de caldo TSB são preparados, sendo que em um deles contém EDTA em concentração de 5 mM. Ambos os tubos são então inoculados com uma massa equivalente a uma alça de 1 μ L (Sfeir et al., 2019). A figura 3 ilustra de maneira esquemática as etapas do teste CIM, mCIM e e-CIM, proporcionando uma visualização rápida das variações entre os métodos.

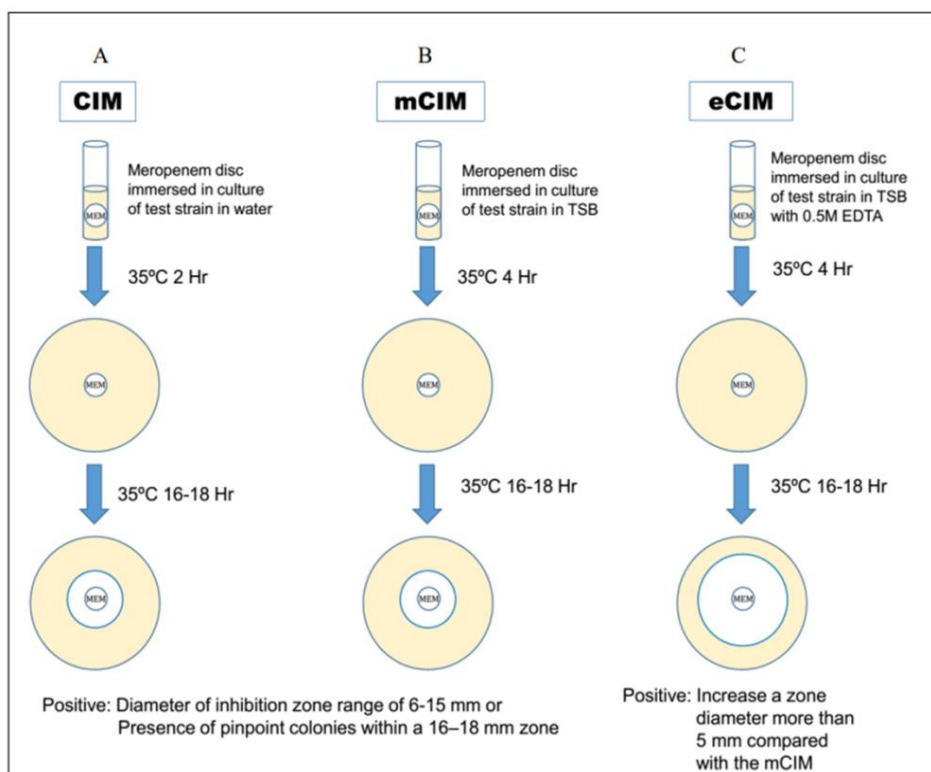


Figura 3: Esquema demonstrativo dos métodos de inativação de carbapenêmicos

Fonte: Thirapanmethee, 2020.

4.2.5 Armazenamento das linhagens bacterianas

As linhagens bacterianas de Enterobacterales que foram resistentes aos carbapenêmicos pelo TSA e que tiveram teste fenotípico para carbapenemases positivos foram inoculadas em caldo soja tripticaseína (HIMEDIA®) e glicerol a 15%, sendo posteriormente congeladas em *freezer* (temperatura entre -10° a -20° C) para fins de armazenamento (ANVISA, 2004).

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão adotados neste estudo foram os seguintes: linhagens bacterianas de amostras de aspirado traqueal de pacientes hospitalizados no período entre janeiro de 2020 e agosto de 2023, com uma contagem de colônias $\geq 10^5$ UFC/mL, identificadas como pertencentes à ordem Enterobacterales e que apresentaram resistência fenotípica a pelo menos um dos antibióticos carbapenêmicos, a saber: imipenem, meropenem e/ou ertapenem.

Bactérias que não apresentaram viabilidade celular após o período de congelamento foram excluídas da análise final. Além disso, ao identificar o isolamento da mesma espécie bacteriana com perfil idêntico de suscetibilidade e de genes de resistência no mesmo paciente, as repetições foram descartadas para garantir a independência dos dados nas análises estatísticas.

4.4 TESTE DE VIABILIDADE DOS ISOLADOS SELECIONADOS

As linhagens de ERC, que atenderam aos critérios de inclusão neste estudo, foram inicialmente semeadas em ágar *Mueller-Hinton* e incubadas em estufa (FANEM LTDA) a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em atmosfera ambiente por um período de 24 a 48 horas. Durante esse intervalo, a viabilidade foi avaliada mediante o crescimento das colônias.

No caso das linhagens que não apresentaram crescimento nas condições mencionadas anteriormente, realizou-se um novo repique a partir da cultura original no meio de congelamento, porém utilizando ágar Sangue e caldo BHI. Essas culturas foram incubadas em uma estufa de aerobiose (FANEM LTDA) a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e monitoradas por até 48 horas. Após esse período, bactérias que persistiram sem evidências de crescimento foram consideradas não viáveis (ANVISA, 2004).

As linhagens bacterianas que apresentaram crescimento e foram certificadas como puras passaram por uma segunda análise, que incluiu confirmação de identificação por técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção em matriz assistida por laser (MALDI-TOF) e pesquisa de genes codificadores de carbapenemases por técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).

4.5 IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA POR *MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION – TIME OF FLIGHT*

As linhagens bacterianas, isoladas e previamente identificadas por testes fenotípicos no laboratório de microbiologia do hospital em questão, foram submetidas ao método de *MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION – TIME OF FLIGHT* (MALDI-TOF) para confirmação das espécies bacterianas.

Os perfis de massas foram adquiridos utilizando o espectrômetro MALDI-TOF MTB - Smart (Brucker®), e os espectros brutos foram processados por meio do

programa MaldiBiotyper (Brukers Daltonics). Essa etapa foi realizada no Laboratório de Bacteriologia Geral do Instituto Biológico de São Paulo, situado em São Paulo - SP, Brasil.

Os perfis proteicos das colônias bacterianas foram obtidos conforme o protocolo de extração com etanol/ácido fórmico descrito por Freiwald e Sauer (2009). A metodologia empregada para a identificação bacteriana seguiu as diretrizes de Bier et al. (2017). As análises pelo Biotyper foram classificadas com base nos valores de escore propostos pelo fabricante: pontuações entre 2,3 e 3,0 indicam identificação confiável de espécie; pontuações entre 2,0 e 2,29 indicam identificação confiável de gênero e provável identificação de espécie; pontuações entre 1,7 e 1,99 indicam provável identificação de gênero e abaixo de 1,7 indica que não há identificação confiável. Foi estabelecido que apenas identificações com escores acima de 2,3 seriam consideradas no presente estudo.

4.6 EXTRAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO DE LINHAGENS BACTERIANAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASE E ANÁLISE DOS RESPECTIVOS GENES CODIFICADORES DESSAS ENZIMAS POR qPCR

A obtenção do material genético das linhagens bacterianas selecionadas para este estudo e a subsequente realização de testes moleculares visando à detecção específica e diferenciação dos genes codificadores de carbapenemases (*blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaIMP* e *blaVIM*) foram conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora (Juiz de Fora - MG, Brasil).

Após a avaliação de viabilidade, no qual as linhagens bacterianas foram cultivadas em meio sólido ágar MH (TM Media®) ou Sangue (Renylab Diagnósticos in vitro), adotou-se um método de extração rápida para garantir a eficaz obtenção de ácido nucleico. Três a quatro colônias isoladas foram transferidas com alça bacteriológica estéril para microtubos contendo caldo BHI (Renylab LTDA®) e incubadas a uma temperatura controlada de $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, *overnight*. Após a confirmação do crescimento bacteriano, evidenciado pela turvação do meio, 40 µL da amostra foram combinados com 40 µL do Reagente de Extração de Ácido Nucleico Pi-Lise (Pi-Biotech Genética Avançada® - Juiz de Fora, Brasil) numa proporção de 1:1 (v/v), utilizando outro microtubo estéril.

A amostra resultante foi então submetida a um processo de lise térmica a 95°C por 5 minutos, seguido por um resfriamento de 2 minutos e subsequente centrifugação a 3.500 rpm por 30 segundos. A execução cuidadosa dessas etapas conferiu à amostra a prontidão necessária para a aplicação em qPCR, sendo adotado, no presente estudo, o Kit de detecção por PCR em Tempo Real de Enterobacteriaceae Produtoras de Carbapenemase da VIASURE (Certest Biotec S.L., San Mateo de Callego, Zaragoza, Espanha).

Em síntese, para a realização da reação de qPCR, foram adicionados 17 µL de tampão e 3µL do DNA extraído de cada linhagem bacteriana a cada poço das *strips* do kit. Posteriormente, as *strips* foram devidamente fechadas, submetidas a uma breve centrifugação e inseridas no termociclador da Bio-Rad (CFX96 *Real-Time System*). A análise dos resultados foi conduzida de maneira rigorosa, seguindo as instruções detalhadas do fabricante do kit (VIASURE, 2024).

No que diz respeito à interpretação dos resultados, uma amostra foi considerada positiva para o gene blaNDM quando apresentou sinal de amplificação no canal FAM, com um valor de Ct menor que 40 e o controle interno apresentando ou não sinal de amplificação. Em alguns casos, pode ocorrer a não detecção do controle interno porque um alto número de cópias do alvo pode causar amplificação preferencial de ácidos nucleicos específicos do alvo. Para a detecção do gene blaVIM, foi considerada positiva quando houve sinal de amplificação no canal ROX, com Ct menor que 40, e o controle interno apresentando ou não sinal de amplificação.

No caso do gene blaOXA-48 e/ou semelhante à OXA-48, a amostra foi considerada positiva quando houve sinal de amplificação no canal FAM e o valor de Ct obtido foi inferior a 40. Para o gene blaKPC, a positividade foi determinada pela presença de sinal de amplificação no canal ROX, com Ct menor que 40. Quanto ao gene blaIMP, a amostra foi considerada positiva quando houve sinal de amplificação no canal Cy5 e o valor de Ct obtido foi inferior a 40.

Uma amostra foi considerada negativa quando não há sinal de amplificação no sistema de detecção, mas o controle interno do ensaio foi positivo. O experimento foi considerado inválido se houve sinal de amplificação no poço do controle negativo e/ou ausência de sinal no poço do controle positivo.

Ressalta-se que antes dos testes propriamente ditos com os isolados clínicos, o kit e as condições para a qPCR foram validados com o DNA extraído dos controles bacterianos: *Klebsiella pneumoniae* 13438 (blaKPC), *Klebsiella pneumoniae* 13440

(blaVIM), *Klebsiella pneumoniae* 13443 (blaNDM), *Klebsiella pneumoniae* 13442 (blaOXA-48) e *Escherichia coli* 23476 (blaIMP). Além disso, o ensaio foi controlado com um controle positivo e negativo fornecido no próprio kit.

4.7 PESQUISA DE PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES HOSPITALIZADOS

Após a identificação de todas as amostras de aspirado traqueal positivas para ERC no período abrangido por esta pesquisa no hospital universitário em questão, realizou-se a análise minuciosa dos prontuários dos pacientes. As informações referentes aos pacientes foram acessadas por meio do sistema eletrônico do hospital, conhecido como Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários (AGHU). Durante esse procedimento, foram coletados dados abrangentes, incluindo informações demográficas e clínicas, bem como os resultados dos exames de confirmação de infecção por COVID-19, obtidos tanto por meio de testes imunocromatográficos quanto pela técnica de qPCR (*Allplex SARS-CoV-2 Assay*, by Seegene Inc., Seoul, República da Coreia).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos resultados derivados das culturas de aspirado traqueal e da avaliação dos genes codificadores de carbapenemases, em conjunto com informações demográficas e hospitalares dos pacientes envolvidos neste estudo, foi expressa por meio de frequências absolutas e relativas. Importa destacar que, para as variáveis idade e tempo de permanência hospitalar, foram realizados cálculos estatísticos adicionais, incluindo média, desvio padrão e mediana.

As espécies de ERC identificadas foram agrupadas em dois conjuntos distintos: o grupo composto por *Klebsiella pneumoniae* e o grupo denominado “Não *Klebsiella pneumoniae*”. As proporções de cada grupo de bactérias e da presença de tipos de genes associados foram submetidas a uma análise univariada para avaliação de possíveis associações dessas proporções com as características demográficas e os dados hospitalares dos pacientes. Essa avaliação comparativa foi realizada utilizando o teste qui-quadrado, adotando uma probabilidade de teste (p) inferior a 0,05 como critério de significância estatística.

Considerando o tamanho reduzido da amostra no estudo ($n < 60$), ao identificar variáveis com valores $p \leq 0,10$ na análise univariada, foram empregadas abordagens adicionais para aprofundar a compreensão das potenciais associações entre variáveis explicativas e desfechos predeterminados. Para tanto, aplicou-se o teste do qui-quadrado para tendência linear e recorreu-se à análise estratificada (Gimeno; Souza, 1995). A escolha do qui-quadrado de tendência linear foi embasada na hipótese de que cada ano de agravamento da COVID-19, refletido no aumento de casos, estaria associado a escores crescentes na proporção de algum gene de resistência a carbapenêmicos.

A análise estratificada foi empregada para obter estimativas de odds ratios relacionadas às proporções de permanência hospitalar em tempos superiores à mediana, categorizadas por grupos de bactérias, controlando-se o impacto de dois fatores previamente selecionados: o resultado da COVID-19 e os tipos de genes de resistência associados. Adicionalmente, conduziu-se o teste de homogeneidade dos estratos para explorar possíveis interações entre as variáveis (Gimeno; Souza, 1995). Na ausência de interação nos estratos e na presença de uma associação global significativa, adotou-se a medida resumo ajustada de odds ratio, baseada na estimativa de Mantel-Haenszel.

Para a organização preliminar dos dados, empregou-se uma planilha do *software Microsoft Excel*, versão 2010. Posteriormente, as análises estatísticas foram conduzidas com o auxílio do *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 14, e do *software Epitools* (Sergeant, 2018).

4.9 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo seguiu rigorosamente os padrões éticos estabelecidos pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que define as normas e diretrizes regulamentadoras para pesquisas envolvendo seres humanos. Adicionalmente, recebeu aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário de Juiz de Fora, com o parecer número: 6.008.128, registrado no comitê com Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 62059822.2.0000.5133.

É importante observar que o referido comitê de ética dispensou a exigência do termo de consentimento livre e esclarecido, considerando a natureza retrospectiva do

estudo e a consulta apenas aos prontuários. Destaca-se que todas as informações dos pacientes foram analisadas de forma anônima, visando preservar integralmente a privacidade e confidencialidade dos indivíduos envolvidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão desta dissertação foram detalhadamente abordados no artigo intitulado “Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em pacientes de um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a pandemia de SARS-CoV-2” apresentado no Apêndice A desta dissertação. Após apreciação e avaliação por esta banca de defesa, o trabalho será ajustado e traduzido para a língua inglesa, visando sua subsequente submissão a um período científico de destaque na área de Saúde Coletiva.

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo fornece *insights* cruciais que corroboram com o atual cenário global da RAM. No entanto, é essencial reconhecer as limitações inerentes que devem ser ponderadas ao interpretar os resultados. A natureza retrospectiva, a falta de informações detalhadas sobre fatores de risco individuais, como comorbidades e exposição prévia a antimicrobianos, a possibilidade de subnotificação dos casos COVID-19, principalmente, nos primeiros anos da pandemia, e a focalização geográfica única são aspectos que podem restringir a generalização dos achados.

Apesar dessas limitações, é relevante ressaltar que a confirmação da identificação bacteriana por MALDI-TOF e a diferenciação dos genes codificadores de carbapenemases por qPCR conferiram robustez à metodologia empregada. A exclusão de isolados duplicados e a análise minuciosa dos prontuários contribuíram para a precisão e confiabilidade dos resultados obtidos.

O presente estudo destaca a necessidade urgente de estratégias de controle mais eficazes diante da significativa resistência observada, especialmente nas linhagens de *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens*. A predominância do gene blaKPC em todas as espécies examinadas ressalta a urgência de medidas preventivas e de tratamento específicas para essa enzima, considerando sua disseminação global e impacto clínico, juntamente com a preocupante presença crescente do gene blaNDM.

Nesse contexto, é imperativo que sejam desenvolvidas e implementadas estratégias de controle imediatas, acompanhadas por estudos prospectivos abrangentes para uma compreensão mais aprofundada dos fatores individuais que contribuem para essa resistência. A manutenção da vigilância rigorosa e pesquisa ativa emerge como elemento crucial para orientar intervenções direcionadas, visando atenuar os impactos adversos da resistência antimicrobiana na saúde global.

REFERÊNCIAS

- Allegranzi, B.; Nejad, S.B.; Combescure, C.; Graafmans, W.; Attar, H.; Donaldson, L.; Pittet, D. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: Systematic review and meta-analysis. **Lancet**, v. 377, n. 9761, p. 228-241, 2011.
- Amarsy, R.; Jacquier, H.; Munier, A.L.; Merimèche, M.; Berçot, B.; Mégarbane, B. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in the intensive care unit during the COVID-19 pandemic: another nightmare. **American Journal of Infection Control**, v. 49, n. 10, p. 1324-1326, 2021.
- Ambler, R.P. The structure of beta-lactamases. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980.
- Ayobami, O.; Brinkwirth, S.; Eckmanns, T.; Markwart, R. Antibiotic resistance in hospital-acquired ESKAPE-E infections in low- and lower-middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. **Emerging Microbes & Infections**, v. 11, n. 1, p. 443-451, 2022.
- Bradford, P.A.; Bratu, S.; Urban, C.; Visalli, M.; Mariano, N.; Landman, D. et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 1, p. 55-60, 2004.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. **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: 08 jan. 2024.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [BrCast]. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos**. Rio de Janeiro: BrCast, 2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-v1-mar-2021.pdf> Acesso em: 08 jan. 2024.
- Bush, K. Past and present perspectives on β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. 1-20, 2018.
- Bush, K.; Bradford, P.A. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n.8, p. 1-22, 2016.
- Cai, J.C.; Zhou, H.W.; Zhang, R.; Chen, G.X. Emergence of *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* isolates possessing the plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2 in intensive care units of a

Chinese hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 6, p. 2014-2018, 2008.

Cassini, A.; Högberg, L.D.; Plachouras, D.; Quattrocchi, A.; Hoxha, A.; Skov, G. et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 56-66, 2019.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2013**. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, 2013. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf> Acesso em: 08 jan. 2024.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2019**. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, 2019. Disponível em: [Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019 \(cdc.gov\)](https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2019/pdf/ar-threats-2019-508.pdf) Acesso em: 08 jan. 2024.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022**. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/covid19-impact-report-508.pdf> Acesso em: 08 jan. 2024.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) November 2015 Update - CRE Toolkit**. Atlanta, GA: National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2015. Disponível em: [Guidance for Control of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae, 2012 CRE Toolkit \(cdc.gov\)](https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/carbapenem-resistant-enterobacteriaceae/2015-11-01-cre-toolkit/) Acesso em: 08 jan. 2024.

Codjoe, F.S.; Donkor, E.S. Carbapenem resistance: A review. **Medical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 1-28, 2018.

Côrrea, J.S.; Zago, L.F.; Silva-Brandão, R.R.; Oliveira, S.M.; Fraccolli, L.A.; Padoveze, M.C. et al. The governance of antimicrobial resistance in Brazil: Challenges for developing and implementing a one health agenda. **Global Public Health**, v. 18, n. 1, p. -, 2023.

Cui, J.; Li, F.; Shi, Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Public Health Emergency Collection**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019.

Daikos, G.L.; Tsaousi, S.; Tzouveleakis, L.S.; Anyfantis, I.; Psicogiou, M.; Argyropoulou, A. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 4, p. 2322-2328, 2014.

Despotovic, A.; Milosevic, B.; Cirkovic, A.; Vujovic, A.; Cucanic, K.; Cucanic, T. et al. The impact of COVID-19 on the profile of hospital-acquired infections in adult intensive care units. **Antibiotics**, v. 10, n. 1146, p. 1-17, 2021.

Drosten, C.; Günther, S.; Preiser, W.; Werf, S.; Brodt, H.R.; Becker, S. et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 20, p. 1967-1976, 2003.

Duin, D.; Bonomo, R.A. Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation β -Lactam/ β -Lactamase inhibitor combinations. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 2, p. 234-241, 2016.

Duin, D.; Doi, Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Virulence**, v. 8, n. 4, p. 460-469, 2017.

El-Gamal, M.I.; Brahim, I.; Hisham, N.; Aladdin, R.; Mohammed, H.; Bahaaeldin, A. Recent updates of carbapenem antibiotics. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 131, p. 185-195, 2017.

Eljaaly, K.; Alharbi, A.; Alshehri, S.; Ortwine, J.K.; Pogue, J.M. Plazomicin: A novel aminoglycoside for the treatment of resistant Gram-Negative bacterial infections. **Drugs**, v. 79, n. 3, p. 243-269, 2019.

Evans, M.E.; Simbartl, L.A.; Kralovic, S.M.; Clifton, M.; DeRoos, K.; McCauley, B.P. et al. Healthcare-associated infections in Veterans Affairs acute-care and long-term healthcare facilities during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, p. 1-7, 2022.

Fakih, M.G.; Bufalino, A.; Sturm, L.; Huang, R.H.; Ottenbacher, A.; Saake, K. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, central-line-associated bloodstream infection (CLABSI), and catheter-associated urinary tract infection (CAUTI): The urgent need to refocus on hardwiring prevention efforts. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, p. 1-6, 2021.

Fernandes, Q.; Inchakalody, V.P.; Merhi, M.; Mestiri, S.; Taib, N.; El-Ella, D.M.A. et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. **Annals of Medicine**, v. 54, n. 1, p. 524-540, 2022.

Ferri, M.; Ranucci, E.; Romagnoli, P.; Giaccone, V. Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 13, p. 2857-2876, 2017.

Forchette, L.; Sebastian, W.; Liu, T. A comprehensive review of COVID-19 virology, vaccines, variants, and therapeutics. **Current Medical Science**, v. 41, n. 6, p. 1037-1057, 2021.

Gimeno, S.G.A.; Souza, J.M.P. Utilização de estratificação e modelo de regressão logística na análise de dados de estudos caso-controle. **Revista Saúde Pública**, v. 29, n. 4, p. 283-289, 1995.

Gupta, N.; Limbago, B.M.; Patel, J.B.; Kallen, A.J. Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiology and Prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 1, p. 60-67, 2011.

Gupta, V. Metallo beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 17, n. 2, p. 131-143, 2008.

Hawkey, P.; Finch, R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 13, n. 4, p. 354-362, 2007.

Hirvonen, V.H.A.; Spencer, J.; Kamp, M.W. Antimicrobial resistance conferred by OXA-48 β -Lactamases: Towards a detailed mechanistic understanding. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 6, p. 1-18, 2021.

Ito, H.; Arakawa, Y.; Ohsuka, S.; Wacharotayankun, R.; Kato, N.; Ohta, M. Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene *bla_{IMP}* among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 4, p. 824-829, 1995.

Janda, J.M.; Abbott, S.L. The changing face of the family *Enterobacteriaceae* (Order: "Enterobacterales"): New members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 2, p. 1-45, 2021.

Kalil, A.C.; Metersky, M.L.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.A.; Palmer, L.B. et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 5, p. 61-111, 2016.

Karaiskos, I.; Lagou, S.; Pontikis, K.; Rapti, V.; Poulakou, G. The "old" and the "new" antibiotics for MDR Gram-Negative pathogens: For whom, when, and how. **Frontiers in Public Health**, v. 7, n. 151, p. 1-25, 2019.

Khan, M.; Adil, S.F.; Alkhathlan, H.Z.; Tahir, M.N.; Saif, S.; Khan, M. et al. COVID-19: A Global challenge with old history, epidemiology and progress so far. **Molecules**, v. 26, n. 39, p. 1-25, 2021.

Kelly, H. The classical definition of a pandemic is not elusive. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 89, n. 7, p. 540-541, 2011.

La, Y.; Hong, J.Y.; Lee, H.S.; Lee, E.H.; Lee, K.H.; Song, Y.G. et al. Increase of multidrug-resistant bacteria after the COVID-19 pandemic in South Korea: Time-series analyses of a long-term multicenter cohort. **Journal Infection**, v. 85, n. 6, p. 702-769, 2022.

Lasko, M.J.; Nicolau, D.P. Carbapenem-Resistant Enterobacterales: Considerations for treatment in the era of new antimicrobials and evolving enzymology. **Current Infectious Disease Reports**, v. 22, n. 6, p. 1-12, 2020.

Lastinger, L.M.; Alvarez, C.R.; Kofman, A.; Konnor, R.Y.; Kuhar, D.T.; Nkwata, A. et al. Continued increases in the incidence of healthcare-associated infection (HAI) during the second year of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, p. 1-5, 2022.

Leavitt, A.; Navon-Venezia, S.; Chmelnitsky, I.; Schwaber, J.; Carmeli, Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n.8, p. 3026-3029, 2007.

Li, T.; Wang, Z.; Guo, J.; Fuente-Nunez, C.; Wang, J.; Han, B. et al. Bacterial resistance to antibacterial agents: Mechanisms, control strategies, and implications for global health. **Science of the Total Environment**, v. 860, n. 160461, p. 1-20, 2023.

Liapis, E.; Pantel, A.; Roberto, J.; Nicolas-Chanoine, M.H.; Cavalie, L., Mee-Marquet, N. et al. Molecular epidemiology of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in France. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 12, p. 1121-1123, 2014

Livermore, D.M.; Woodford, N. Carbapenemases: a problem in waiting? **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, n. 5, p. 489-495, 2000.

Logan, L.K.; Weinstein, R.A. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: The Impact and evolution of a global menace. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 215, n. 1, p. 28-36, 2017.

Ma, J.; Song, X.; Li, M.; Yu, Z.; Cheng, W.; Yu, Z. et al. Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. **Microbiological Research**, v. 266, n. 127249, p. 1-15, 2023.

Maes, M.; Higginson, E.; Pereira-Dias, J.; Curran, M.D.; Parmar, S.; Khokhar, F. et al. Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19. **Critical Care**, v. 25, n. 25, p.1-11, 2021.

Majumder, A.A.; Rahman, S.; Cohall, D.; Bharatha, A.; Singh, K.; Haque, M. et al. Antimicrobial stewardship: Fighting antimicrobial resistance and protecting Global Public Health. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 4713-4738, 2020.

Martin, A.; Fahrbach, K.; Zhao, Q.; Lodise, T. Association between carbapenem resistance and mortality among adult, hospitalized patients with serious infections due to *Enterobacteriaceae*: Results of a systematic literature review and meta-analysis. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 5, n. 7, p. 1-9, 2018.

Maya, J.J.; Ruiz, S.J.; Blanco, V.M.; Gotuzzo, E.; Guzman-Blanco, M.; Labarca, J. et al. Current status of carbapenemases in Latin America. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 11, n. 7, p. 657-667, 2013.

Minarini, L.A.R.; Andrade, L.N.; Gregorio, E.; Grosso, F.; Naas, T.; Zarrilli, R. et al. Editorial: Antimicrobial resistance as a Global Public Health Problem: how can we address it? **Frontiers in Public Health**, v. 8, n. 612844, p. 1-6, 2020.

Monteiro, J.; Abboud, C.S.; Inoue, F.M.; Tufik, S.; Kiffer, C.R.V. NDM-producing Enterobacterales prevalence associated to COVID-19 in a tertiary hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 1-5, 2023.

Monteiro, J.; Santos, A.F. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333-334, 2009.

Murray, A.K. The novel coronavirus COVID-19 outbreak: Global implications for antimicrobial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 1020, p. 1-4, 2020.

Navon-Venezia, S.; Leavitt, A.; Schwaber, M.J.; Rasheed, J.K.; Srinivasan, A.; Patel, J.B. et al. First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p. 818-820, 2008.

Nordmann, P.; Naas, T.; Poirel, L. Global Spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791-1798, 2011.

Nordmann, P.; Poirel, L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 9, p. 821-830, 2014.

Ochoa-Hein, E.; González-Lara, M.F.; Chávez-Ríos, A.R.; Paz-García, R.; Haro-Osnaya, A.; González-González, R. et al. Surge in ventilator-associated pneumonias and bloodstream infections in an academic referral center converted to treat COVID-19 patients. **Revista de Investigación Clínica**, v. 73, n. 4, p. 210-215, 2021.

O'Neill, J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. **The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill. Review on Antimicrobial Resistance**. Wellcome Trust. HM Government, 2014. Disponível em: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf Acesso em: 08 jan 2024.

OPLUSTIL, C.P.; Zoccoli, C.M.; Tobouti, N.R.; Scheffer, M.C. **Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica**. 4^a ed. São Paulo: Sarvier, 2019. 756 p.

Organização Pan-Americana da Saúde [OPAS], Organização Mundial de Saúde [OMS]. **Folha informativa sobre COVID-19. Histórico da pandemia de COVID-19**. Organização Pan-Americana da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19> Acesso em: 08 jan 2024.

Pan American Health Organization / World Health Organization. **Epidemiological alert: emergence and increase of new combinations of carbapenemases in Enterobacterales in Latin America and the Caribbean.** Washington, D.C.: PAHO/WHO, 2021. Disponível em: 2021-October_PHE-Epi Alert_carbapenemases_EN.pdf Acesso em: 08 jan 2024.

Papp-Wallace, K.M.; Endimiani, A.; Taracila, M.A.; Bonomo, R.A. Carbapenems: past, presente, and future. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 11, 4943-4960, 2011.

Petty, L.A.; Henig, O.; Patel, T.S.; Pogue, J.M.; Kaye, K.S. Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1461-1472, 2018.

Pierce, V.M.; Simner, P.J.; Lonsway, D.R.; Roe-Carpenter, D.E.; Johnson, J.K.; Brasso, W.B. et al. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among *Enterobacteriaceae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 2321-2333, 2017.

Poirel, L.; Hombrouck-Alet, C.; Freneaux, C.; Bernabeu, S.; Nordmann, P. Global spread of New Delhi metallo- β -lactamase 1. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 10, . 12, p. 832-832, 2010.

Poirel, L.; Savov, E.; Nazli, A.; Trifonova, A.; Todorova, I.; Gergova, I. et al. Outbreak caused by NDM-1- and RmtB-Producing *Escherichia coli* in Bulgaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 4, p. 2472-2474, 2014.

Porreca, A.M.; Sullivan, K.V.; Gallagher, J.C. The epidemiology, evolution, and treatment of KPC-producing organisms. **Current Infectious Disease Reports**, v. 20, n. 13, p. 1-12, 2018.

Rabaan, A.A.; Eljaaly, K.; Alhumaid, S.; Albayat, H.; Al-Adsani, W.; Sabour, A.A. et al. An overview on phenotypic and genotypic characterisation of carbapenem-resistant Enterobacterales. **Medicina (Kaunas)**, v. 58, n. 1675, p. 1-19, 2022.

Rawson, T.M.; Moore, L.S.P.; Zhu, N.; Ranganathan, N.; Skolimowska, K.; Gilchrist, M. et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 9, p. 2459-2468, 2020.

ReAct. **ReAct Facts: Burden of Antibiotic Resistance.** Sweden: Uppsala University, 2012. Disponível em: [ReAct facts burden 120513 ver... \(reactgroup.org\)](https://reactgroup.org/react-facts-burden-120513-ver-1-0/) Acesso em: 08 jan 2024.

Rehman, S. A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. **Journal of Infection and Public Health**, v. 16, n. 4, p. 611-617, 2023.

Rodríguez-Baño, J.; Gutiérrez-Gutiérrez, B.; Machuca, I.; Pascual, A. Treatment of infections caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 2, p. 1-42, 2018.

Rouzé, A.; Martin-Loeches, I.; Póvoa, P.; Makris, D.; Artigas, A.; Bouchereau, M. et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study. **Intensive Care Medicine**, v. 47, n. 2, p. 188-198, 2021.

Sader, H.S.; Castanheira, M.; Duncan, L.R.; Flamm, R.K. Antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from United States Medical Centers stratified by infection type: Results from the international network for optimal resistance monitoring (INFORM) surveillance program, 2015-2016. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 92, n. 1, p. 69-74, 2018.

Saliba, R.; Zahar, J.R.; Dabar, G.; Riachy, M.; Karam-Sarkis, D.; Husni, R. Limiting the spread of multidrug-resistant bacteria in low-to-middle-income countries: one size does not fit all. **Pathogens**, v. 12, n. 144, p. 1-19, 2023.

Sepp, R.; Szabó, I.; Uda, H.; Sakamoto, H. Rapid techniques for DNA extraction from routinely processed archival tissue for use in PCR. **Journal of Clinical Pathology**, v. 47, n. 4, p. 318-323, 1994.

Seiffert, S.N.; Marschall, J.; Perreten, V.; Carattoli, A.; Furrer, H.; Endimiani, A. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-1, OXA-48, CTX-M-15, CMY-16, QnrA and ArmA in Switzerland. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 3, p. 260-262, 2014.

Sergeant, E.S.G. **Epitools Epidemiological Calculators**. Ausvet. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>. Acesso em: 06 fev 2024.

Sfeir, M.M.; Hayden, J.A.; Fauntleroy, K.A.; Mazur, C.; Johnson, J.K.; Simner, P.J. et al. EDTA-Modified carbapenem inactivation method: A phenotypic method for detecting Metallo- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 1-9, 2019.

Smith, R.; Coast, J. The true cost of antimicrobial resistance. **BMJ : British Medical Journal**, v. 346, n. 1493, p. 1-5, 2013.

Stewart, A.; Harris, P.; Henderson, A.; Paterson, D. Treatment of infections by OXA-48-producing *Enterobacteriaceae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 11, p. 1-10, 2018.

Suay-García, B.; Pérez-Gracia, M.T. Present and future of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) infections. **Antibiotics**, v. 8, n. 122, p. 1-16, 2019.

Tamma, P.D.; Goodman, K.E.; Harris, A.D.; Tekle, T.; Roberts, A.; Taiwo, A. et al. Comparing the outcomes of patients with carbapenemase-producing and non-

carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 3, p. 257-264, 2017.

Tängdén, T.; Adler, M.; Otto, C.; Sandegren, L.; Löwdin, E. Frequent emergence of porin-deficient subpopulations with reduced carbapenem susceptibility in ESBL-producing *Escherichia coli* during exposure to ertapenem in an in vitro pharmacokinetic model. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 6, p. 1319-1326, 2013.

Temkin, E.; Adler, A.; Lerner, A.; Carmeli, Y. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: biology, epidemiology, and management. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1323, p. 22-42, 2014.

Thirapanmethee, K. Detection of carbapenemases-producing *Acinetobacter baumannii*: the phenotypic approaches. **Pharmaceutical Sciences Asia**, v. 47, n. 4, p. 319-328, 2020.

Thomas, G.R.; Corso, A.; Pasterán, F.; Shal, J.; Sosa, A.; Pilonetto, M. 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. 1-8, 2022.

VIASURE Real Time PCR Detection Kit. **Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae**. Zaragoza (Spain): Certest Biotec, 2023. Disponível em: https://www.certest.es/wp-content/uploads/2021/08/VIASURE_Carbapenemase_EN.pdf Acesso em: 08 jan 2024.

Walkty, A.; Adam, H.; Baxter, M.; Denisuik, A.; Lagacé-Wiens, P.; Karlowsky, J.A. et al. In vitro activity of plazomicin against 5,015 gram-negative and gram-positive clinical isolates obtained from patients in canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011-2012. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 2554-2563, 2014.

Walsh, T.R.; Toleman, M.A.; Poirel, L.; Nordmann, P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 2, p. 306-325, 2005.

Walther-Rasmussen, J.; Høiby, N. OXA-type carbapenemases. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, n. 3, p. 373-383, 2006.

White, A.R. Effective antibacterials: at what cost? The economics of antibacterial resistance and its control. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 9, p. 1948-1953, 2011.

Winn, W.C.; Allen, S.D.; Janda, M.W.; Koneman, E.W.; Procop, G.W.; Schreckenberger, P.C. et al. **Koneman, Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. 1872p.

Witt, L.S.; Howard-Anderson, J.R.; Jacob, J.T.; Gottlieb, L.B. The impact of COVID-19 on multidrug-resistant organisms causing healthcare-associated infections: a narrative review. **JAC-Antimicrobial Resistance**, v. 5, n.1, p. 1-9, 2023.

World Health Organization [WHO]. **Global action plan on antimicrobial resistance**. Geneva: World Health Organization, 2015. Disponível em: 9789241509763_eng (1).pdf Acessado em: 08 jan 2024.

World Health Organization [WHO]. **Pandemic Influenza Preparedness and Response: A WHO Guidance Document**. Geneva: World Health Organization, 2009. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44123/9789241547680_eng.pdf Acesso em: 08 jan 2024.

World Health Organization [WHO]. **Therapeutics and COVID-19: living guideline, 13 January 2023**. Geneva: World Health Organization, 2023a. Disponível em: [Therapeutics and COVID-19: Living guideline, 13 January 2023 \(who.int\)](https://www.who.int/news/therapeutics-and-covid-19-living-guideline-13-january-2023) Acesso em: 08 jan 2024.

World Health Organization [WHO]. **Top ten threats to global health in 2019**. Geneva: World Health Organization, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019> Acesso em: 08 jan 2024.

World Health Organization [WHO]. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. Homepage: World Health Organization, 2023b. Disponível em: [WHO Coronavirus \(COVID-19\) Dashboard | WHO Coronavirus \(COVID-19\) Dashboard With Vaccination Data](https://covid19.who.int/) Acesso em: 08 jan 2024.

World Health Organization [WHO]. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Geneva: World Health Organization, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Acesso em: 08 jan 2024.

Xu, J.; Zhao, S.; Teng, T.; Abdalla, A.E.; Zhu, W.; Xie, L. et al. Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. **Viruses**, v. 12, n. 244, p. 1-17, 2020.

Yigit, H.; Queenan, A.M.; Anderson, G.J.; Domenech-Sanchez, A.; Biddle, J.W.; Steward, C.D. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1151-1161, 2001.

Yong, D.; Toleman, M.A.; Giske, C.G.; Cho, H.S.; Sundman, K.; Lee, K. et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 5046-5054, 2009.

Zaki, A.M.; Boheemen, S.; Bestebroer, T.M.; Osterhaus, A.D.M.E.; Fouchier, R.A.M. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. **The New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 19, p. 1814-1820, 2012.

Zhen, X.; Lundborg, C.S.; Sun, X.; Hu, X.; Dong, H. The clinical and economic impact of antibiotic resistance in China: a systematic review and meta-analysis. **Antibiotics**, v. 8, n. 115, p. 1-27, 2019.

Zhong, N.S.; Zheng, B.J.; Li, Y.M.; Poon, L.L.M.; Xie, Z.H.; Chan, K.H. et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. **The Lancet**, v. 362, n. 9393, p. 1353-1358, 2003.

Zwaluw, K.; Haan, A.; Pluister, G.N.; Bootsma, H.J.; Neeling, A.J.; Schouls, L.M. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. **PloS One**, v. 10, n. 3, p. 1-13, 2015.

APÊNDICE A – ARTIGO ELABORADO PARA SUBMISSÃO A UM PERIÓDICO CIENTÍFICO DA ÁREA

Prevalência e caracterização molecular de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos em pacientes de um hospital público de referência em uma região não metropolitana do Brasil durante e após a pandemia de SARS-CoV-2

Prevalence and molecular characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacterales in patients from a public reference hospital in a non-metropolitan region of Brazil during and after the SARS-CoV-2 pandemic

Resumo: A resistência antimicrobiana (RAM) é uma ameaça global crítica, com as Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos (ERC) representando uma preocupação significativa devido às opções terapêuticas limitadas. Este estudo transversal retrospectivo investigou a prevalência de genes de carbapenemase em linhagens de ERC isoladas de aspirados traqueais de pacientes em um hospital universitário, entre janeiro de 2020 e agosto de 2023. Das 1.133 amostras analisadas, 111 (9,79%) apresentaram crescimento de ERC, com 46 isolados incluídos na amostra final, predominando *Klebsiella pneumoniae* (65,21%) e *Serratia marcescens* (19,57%). O gene blaKPC foi prevalente (78,26%), enquanto o blaNDM foi encontrado em 21,74% dos isolados. A análise demográfica revelou uma população predominantemente masculina (67,39%), idosa (69,57%), autodeclarada branca (56,52%), não casada (63,04%) e com baixa escolaridade (56,52%). A maioria dos pacientes (69,57%) encontrava-se na Unidade de Terapia Intensiva e permaneceu mais de 30 dias no hospital (76,08%). A infecção por COVID-19 foi registrada em 34,78% dos casos. A análise estratificada mostrou uma tendência inversamente significativa entre a prevalência de *Klebsiella pneumoniae* e faixa etária ($p = 0,045$), além de uma tendência linear direta entre o gene blaNDM e a tendência anual do aumento de casos de COVID-19 no Brasil ($p = 0,050$). Este estudo encontrou uma probabilidade significativamente elevada de encontrar bactérias Não *Klebsiella pneumoniae* em pacientes com tempo de permanência hospitalar prolongado, independente do diagnóstico de COVID-19 ($p = 0,006$) e do tipo de gene de resistência ($p = 0,020$). Destaca-se a prevalência persistente de ERC, especialmente com o gene blaKPC.

Palavras chaves: Resistência antimicrobiana, Aspirado traqueal, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*; blaKPC; blaNDM.

Abstract: Antimicrobial resistance (AMR) is a critical global threat, with carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) representing a significant concern due to limited therapeutic options. This retrospective cross-sectional study investigated the prevalence of carbapenemase genes in CRE strains isolated from tracheal aspirates of patients in a university hospital, between January 2020 and August 2023. Out of 1,133 samples analyzed, 111 (9.79%) showed CRE growth, with 46 isolates included in the final sample, predominantly *Klebsiella pneumoniae* (65.21%) and *Serratia marcescens* (19.57%). The blaKPC gene was prevalent (78.26%), while blaNDM was found in 21.74% of isolates. Demographic analysis revealed a predominantly male population (67.39%), elderly (69.57%), self-reported white (56.52%), unmarried (63.04%), and with low educational attainment (56.52%). Most patients (69.57%) were in the Intensive Care Unit and stayed in the hospital for more than 30 days (76.08%). COVID-19 infection was recorded in 34.78% of cases. Stratified analysis showed a significantly inverse trend between the prevalence of *Klebsiella pneumoniae* and age group ($p = 0.045$), as well as a direct linear trend between blaNDM gene and the annual trend of increasing COVID-19 cases in Brazil ($p = 0.050$). This study found a significantly higher likelihood of finding Non-*Klebsiella pneumoniae* bacteria in patients with prolonged hospital stay, independent of COVID-19 diagnosis ($p = 0.006$) and resistance gene type ($p = 0.020$). The persistent prevalence of CRE, especially with blaKPC gene, is highlighted.

Keywords: Antimicrobial resistance, Tracheal aspirate, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, blaKPC, blaNDM.

Introdução

Nos últimos anos, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) têm alertado sobre a crescente ameaça da resistência antimicrobiana (RAM) em escala global (CDC, 2019; WHO, 2019). Em 2014, O'Neill já pronunciava que a contínua ascensão da resistência antimicrobiana até 2050 poderia resultar na mortalidade anual de 10 milhões de pessoas, acompanhada

de uma estimada redução de 2% a 3,5% no Produto Interno Bruto mundial, acarretando custos alarmantes de até 100 trilhões de dólares (O'Neill, 2014).

O uso excessivo de antimicrobianos em diversos cenários, incluindo saúde humana, animal, produção de alimentos e meio ambiente, continua a impulsionar a resistência bacteriana, tornando essencial reduzir o uso inadequado dessas substâncias (WHO, FAO; UNEP; WOA, 2023; ANVISA, 2023). No entanto, durante a pandemia da doença de coronavírus 2019 (COVID-19), observou-se um aumento indiscriminado no uso de antibióticos, muitas vezes sem confirmação completa de infecção bacteriana secundária (Rehman, 2023; Rawson et al, 2020). Adicionalmente, as abruptas mudanças na prestação de cuidados de saúde durante este período, como a escassez de equipamentos de proteção e interrupção de protocolos de prevenção de infecções, estão possivelmente associadas ao aumento das taxas de infecções resistentes em ambientes hospitalares (Witt et al., 2023).

Pesquisas recentes indicam que a pandemia de COVID-19 pode ter tido um impacto significativo no aumento da RAM em escala global (Rehman, 2023; CDC, 2022; Thomas et al., 2022; Fakhri et al., 2021). Um dos mecanismos preponderantes de resistência antimicrobiana é a produção de carbapenemases por bactérias Gram negativas (BGN), destacando-se pela inativação dos carbapenêmicos e, conseqüentemente, restringindo as opções terapêuticas disponíveis (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019; El-Gamal et al., 2017). As Enterobacterales resistentes aos carbapenêmicos (ERC) são classificadas como ameaças “críticas” à saúde global pela OMS, sendo prioritárias para pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos (WHO, 2017).

A OMS e outras entidades internacionais enfatizam a importância de ações multissetoriais para conter a RAM. Destacam a abordagem da Saúde Única como a estratégia mais eficaz e com o melhor custo-benefício para enfrentar esse desafio crescente. No entanto, a falta de inovação no desenvolvimento de novos antimicrobianos dificulta cada vez mais o controle da resistência (WHO, FAO; UNEP; WOA, 2023).

Diante da emergência global relacionada à RAM, é crucial conduzir estudos de prevalência, especialmente em relação aos grupos bacterianos de alto risco destacados pela OMS. O objetivo deste estudo foi investigar a prevalência dos genes de resistência a carbapenêmicos, nomeadamente blaKPC, blaOXA-48, blaNDM, blaIMP e blaVIM, em ERC isoladas de aspirados traqueais de pacientes

hospitalizados entre janeiro de 2020 e agosto de 2023 (período durante e pós pandemia), bem como identificar possíveis associações de fatores de risco para infecções resistentes.

Métodos

Trata-se de um estudo transversal retrospectivo, no qual foi realizada a pesquisa dos genes blaKPC, blaOXA-48, blaNDM, blaIMP e blaVIM em linhagens de ERC isoladas de amostras do trato respiratório inferior (aspirado traqueal) provenientes de pacientes submetidos à intubação e/ou em uso de ventilação mecânica. A pesquisa foi conduzida em um hospital universitário localizado na cidade de Juiz de Fora – Minas Gerais, abrangendo o período de janeiro de 2020 a agosto de 2023.

O hospital em foco nesta pesquisa é uma instituição certificada como Hospital de Ensino, sem fins lucrativos, que desempenha um papel fundamental como centro de referência no tratamento de pacientes integrados à Rede de Atenção à Saúde (RAS) do Sistema Único de Saúde (SUS). O hospital oferece para a Macrorregião Sudeste de Minas Gerais, formada por 94 municípios e 2 milhões de habitantes, serviços assistenciais de alta e média complexidade (EBSERH; HU- UFJF, 2022).

O laboratório de Microbiologia do hospital desempenha um papel central nas etapas de pesquisa, isolamento e identificação bacteriana, além de ser responsável pela realização do teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) e pela investigação fenotípica de mecanismos de resistência (EBSERH; HU-UFJF, 2019).

Em relação as amostras de aspirado traqueal, após a coleta por meio de sonda de aspiração (Kalil et al., 2016; ANVISA, 2004), foram semeadas em ágarSangue de carneiro 5% (Renylab Diagnósticos®) e em ágar *MacConkey* (Renylab Diagnósticos®), incubadas em estufa de aerobiose (FANEM LTDA) a $35^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de 24 a 48 horas. Após o período de incubação foram realizados os testes microbiológicos para a identificação das espécies mediante provas bioquímicas e fisiológicas (Oplustil et al., 2020; Winn, 2018). O TSA é realizado e interpretado seguindo critérios do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2023). As linhagens bacterianas que apresentaram algum mecanismo de resistência específico, incluindo a resistência aos carbapenêmicos, foram inoculadas em caldo Soja Trypticaseina (TSB) (HIMEDIA®) e glicerol a 15%, sendo posteriormente

congeladas em *freezer* (temperatura entre -10° a -20° C) para fins de armazenamento (ANVISA, 2004).

Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão adotados neste estudo foram os seguintes: linhagens bacterianas de amostras de aspirado traqueal de pacientes hospitalizados no período entre janeiro de 2020 e agosto de 2023, com uma contagem de colônias $\geq 10^5$ UFC/mL, identificadas como pertencentes à ordem Enterobacterales e que apresentaram resistência fenotípica a pelo menos um dos antibióticos carbapenêmicos, a saber: imipenem, meropenem e/ou ertapenem.

Bactérias que não apresentaram viabilidade celular após o período de congelamento foram excluídas da análise final. Além dos isolados bacterianos da mesma espécie com mesmo genótipo de resistência isolados no mesmo paciente.

Teste de viabilidade dos isolados congelados

As linhagens de ERC, que foram selecionadas conforme os critérios de inclusão estabelecidos para este estudo, foram inoculadas em meio ágar *Mueller-Hinton* (MH) (TM Media[®]) e incubadas em estufa de aerobiose (FANEM LTDA) a $35^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 24 a 48 horas. Após essa fase, a viabilidade foi avaliada com base no crescimento observado das colônias (ANVISA, 2004).

Para aquelas linhagens que não apresentaram crescimento nas condições mencionadas anteriormente, procedeu-se com um novo repique a partir do meio de congelamento, utilizando ágar Sangue (Renylab LTDA[®]) e caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Renylab LTDA[®]). Estas culturas foram incubadas nas mesmas condições anteriores e após 48 horas, as bactérias que não demonstraram qualquer crescimento foram consideradas não viáveis (ANVISA, 2004).

Identificação bacteriana por *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight*

As linhagens bacterianas isoladas e identificadas por testes fenotípicos no laboratório de microbiologia do referido hospital, foram submetidas ao método de espectrometria de massa por ionização/dessorção em matriz assistida por laser (MALDI-TOF) para confirmação das espécies bacterianas.

Os perfis de massas foram adquiridos com espectrômetro - MALDI-TOF MTB - *Smart* (Brucker[®]) e os espectros brutos foram processados utilizando o programa *MaldiBiotyper* (Brukers Daltonics), sendo essa etapa executada no Laboratório de Bacteriologia Geral do Instituto Biológico de São Paulo (São Paulo - SP, Brasil). Os perfis proteicos das colônias bacterianas foram obtidos seguindo o protocolo de extração com etanol/ácido fórmico descrito por Freiwald e Sauer (2009) e a metodologia utilizada para a identificação bacteriana foi a mesma de Bier et al. (2017).

As análises por *Biotyper* foram classificadas utilizando valores de escore proposto pelo fabricante: uma pontuação entre 2,3 e 3,0 indica identificação confiável de espécie; entre 2,0 e 2,29 indica identificação confiável de gênero e provável identificação de espécie; e entre 1,7 e 1,99 indica provável identificação de gênero, enquanto pontuações abaixo de 1,7 indicam falta de identificação confiável. Neste estudo, foram consideradas apenas as identificações com escore acima de 2,3.

Extração do material genético de linhagens bacterianas produtoras decarbapenemase e análise dos respectivos genes codificadores dessas enzimas por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

A obtenção do material genético das linhagens bacterianas selecionadas para este estudo e a subsequente realização de testes moleculares visando à detecção específica e diferenciação dos genes codificadores de carbapenemases (*blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaIMP* e *blaVIM*) foram conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora (Juiz de Fora - MG, Brasil).

Após a avaliação de viabilidade, no qual as linhagens bacterianas foram cultivadas em meio sólido ágar MH (TM Media[®]) ou Sangue (Renylab Diagnósticos[®]), adotou-se um método de extração rápida para garantir a eficaz obtenção de ácido nucleico. Três a quatro colônias isoladas foram transferidas com alça bacteriológica estéril para microtubos contendo caldo BHI (Renylab LTDA[®]) e incubadas a uma temperatura controlada de $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, *overnight*. Após a confirmação do crescimento bacteriano, evidenciado pela turvação do meio, 40 μL da amostra foram combinados com 40 μL do Reagente de Extração de Ácido Nucleico Pi-Lise (Pi- Biotech Genética Avançada[®] - Juiz de Fora, Brasil) numa proporção de 1:1 (v/v), utilizando outro microtubo estéril.

A amostra resultante foi então submetida a um processo de lise térmica a 95°C por 5 minutos, seguido por um resfriamento de 2 minutos e subsequente centrifugação a 3.500 rpm por 30 segundos. A execução cuidadosa dessas etapas conferiu à amostra a prontidão necessária para a aplicação em Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR), sendo adotado, no presente estudo, o Kit de detecção por PCR em Tempo Real de *Enterobacteriaceae* Produtoras de Carbapenemase da VIASURE (Certest Biotec S.L., San Mateo de Cállego, Zaragoza, Espanha).

Para a reação de qPCR, foram adicionados a cada poço das *strips* do kit 17 µL de tampão e 3µL do DNA extraído de cada linhagem bacteriana. Posteriormente, as *strips* foram fechadas, brevemente centrifugadas e inseridas no termociclador da *Bio-Rad* (CFX96 *Real-Time System*). A interpretação dos resultados foi conduzida de maneira rigorosa, seguindo as orientações detalhadas pelo fabricante do kit (VIASURE, 2024).

Antes dos testes com os isolados clínicos, o kit e as condições para a qPCR foram validados utilizando DNA extraído de controles bacterianos, incluindo *Klebsiella pneumoniae* 13438 (*blaKPC*), *Klebsiella pneumoniae* 13440 (*blaVIM*), *Klebsiella pneumoniae* 13443 (*blaNDM*), *Klebsiella pneumoniae* 13442 (*blaOXA-48*) e *Escherichia coli* 23476 (*blaIMP*). Ademais, o ensaio incluiu controle positivo e negativo fornecido pelo kit.

Pesquisa de prontuários dos pacientes hospitalizados

Após a identificação de todas as amostras de aspirado traqueal positivas para ERC no período abrangido por esta pesquisa no hospital universitário em questão, realizou-se a análise minuciosa dos prontuários dos pacientes. As informações referentes aos pacientes foram acessadas por meio do sistema eletrônico do hospital, conhecido como Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários (AGHU). Durante esse procedimento, foram coletados dados abrangentes, incluindo informações demográficas e clínicas, bem como os resultados dos exames de confirmação de infecção por COVID-19, obtidos tanto por meio de testes imunocromatográficos quanto pela técnica de qPCR (Allplex SARS-CoV-2 Assay, by Seegene Inc., Seoul, Republic of Korea).

Análise estatística dos dados

Os dados provenientes das culturas de aspirado traqueal e da avaliação dos genes codificadores de carbapenemases, juntamente com informações demográficas e hospitalares dos pacientes, foram analisados utilizando frequências absolutas e relativas. Além disso, foram calculadas média, desvio padrão e mediana para as variáveis idade e tempo de permanência hospitalar.

As espécies de ERC foram agrupadas em *Klebsiella pneumoniae* e “Não *Klebsiella pneumoniae*”, e as proporções de cada grupo, juntamente com a presença de genes associados, foram submetidas a uma análise univariada para avaliação de possíveis associações dessas proporções com as características demográficas e os dados hospitalares dos pacientes. Essa avaliação comparativa foi realizada utilizando o teste qui-quadrado, adotando uma probabilidade de teste (p) inferior a 0,05 como critério de significância estatística.

Devido ao tamanho reduzido da amostra ($n < 60$), variáveis com $p \leq 0,10$ na análise univariada foram investigadas mais a fundo. Foi utilizado o teste qui-quadrado para tendência linear e análise estratificada para explorar associações entre variáveis explicativas e desfechos predeterminados (Gimeno; Souza, 1995).

A escolha do qui-quadrado de tendência linear foi embasada na hipótese de que cada ano de agravamento da COVID-19 no Brasil, refletido no aumento de casos, estaria associado a escores crescentes na proporção de algum gene de resistência a carbapenêmicos. Já a análise estratificada estimou odds ratios relacionados à permanência hospitalar superior à mediana, controlando o impacto do resultado de COVID-19 e tipos de genes de resistência associados. Foi realizado o teste de homogeneidade dos estratos para explorar interações entre variáveis (Gimeno; Souza, 1995). Na ausência de interação e com uma associação global significativa, a medida resumo ajustada de *odds ratio* foi adotada com base na estimativa de Mantel-Haenszel.

Os dados foram organizados preliminarmente no *Microsoft Excel 2010* e as análises foram conduzidas utilizando o *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versão 14 e o *software Epitools* (Sergeant, 2018).

Aspectos éticos

Este estudo seguiu os padrões éticos estabelecidos pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisas envolvendo seres

humanos. Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário de Juiz de Fora, com o parecer número: 6.008.128, registrado com Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 62059822.2.0000.5133.

Resultados

Durante o período de janeiro de 2020 a agosto de 2023, foram realizadas 1.133 análises de culturas de aspirado traqueal no hospital universitário em questão. Das amostras analisadas, 911 (80,40%) foram positivas para bactérias. A predominância foi de BGN não fermentadores, totalizando 598 (65,64%) culturas, seguidas por 248 (27,22%) de Enterobacterales e 65 (7,14%) de Cocos Gram-Positivos (CGP) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição de resultados de culturas positivas de aspirados traqueais (n = 911) de pacientes de um Hospital Universitário no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023.

Ano	Bastonetes Gram Negativos (BGN) não fermentadores	Enterobacterales		Cocos Gram Positivos (CGP)	Total
		Sensíveis a carbapenêmicos	Resistentes a carbapenêmicos		
2020	201 (22,06%)	34 (3,73%)	44 (4,83%)	13 (1,43%)	292 (32,05%)
2021	180 (19,76%)	34 (3,73%)	31 (3,40%)	25 (2,74%)	270 (29,64%)
2022	131 (14,37%)	31 (3,40%)	23 (2,52%)	17 (1,87%)	202 (22,17%)
2023*	86 (9,44%)	38 (4,17%)	13 (1,43%)	10 (1,10%)	147 (16,14%)
Total	598 (65,64%)	137 (15,04%)	111 (12,18%)	65 (7,14%)	911 (100,00%)

*Os dados relativos ao ano de 2023 abrangem o período até agosto de 2023.

Ao analisar o perfil de resistência dos isolados pertencentes à ordem Enterobacterales, constatou-se que 111 (44,76%) das 248 culturas positivas apresentavam resistência aos carbapenêmicos, incluindo imipenem, meropenem e ertapenem. Das 111 linhagens resistentes, 61 foram recuperadas e incluídas neste estudo.

Após a exclusão de 15 isolados duplicados, a amostra final constituiu em 46 isolados, um de cada paciente, cuja distribuição por espécie e genes está detalhada na Tabela 2. Destaca-se a predominância de *Klebsiella pneumoniae* (65,21%) e o gene blaKPC (78,26%). O gene blaNDM foi observado em 21,74% dos isolados, sem a detecção dos genes blaVIM, blaIMP e blaOXA-48, nem a coexistência de mais de um gene para a produção de carbapenemase. Uma análise comparativa entre os anos de 2020 a 2023 não revelou diferenças estatisticamente significativas nas proporções de espécies ($p=0,075$) e genes ($p=0,136$) no hospital.

Tabela 2. Distribuição de Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos (ERC) e de seus genes codificadores de carbapenemases (n = 46), isoladas de amostras de aspirado traqueal de pacientes internados em um Hospital Universitário.

Ano	Microrganismo										Total por ano
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Serratia marcescens</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Klebsiella aerogenes</i>		<i>Escherichia coli</i>		
	blaKPC	blaNDM	blaKPC	blaNDM	blaKPC	blaNDM	blaKPC	blaNDM	blaKPC	blaNDM	
2020	6 (13,04%)	3 (6,52%)	5 (10,87%)	0	0	0	1 (2,17%)	0	0	0	15 (32,61%)
2021	9 (19,57%)	2 (4,35%)	0	0	0	1 (2,17%)	0	0	0	1 (2,17%)	13 (28,26%)
2022	1 (2,17%)	1 (2,17%)	2 (4,35%)	0	1 (2,17%)	2 (4,35%)	0	0	0	0	7 (15,22%)
2023	8 (17,39%)	0	2 (4,35%)	0	1 (2,17%)	0	0	0	0	0	11 (23,91%)
Total por espécie	24 (52,17%)	6 (13,04%)	9 (19,57%)	0	2 (4,35%)	3 (6,52%)	1 (2,17%)	0	0	1 (2,17%)	46 (100,00%)

Efetuiu-se uma análise comparativa das espécies e dos genes durante o período de 2020 a 2023. Os resultados indicaram a inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre os diversos anos, conforme avaliado pelo teste qui-quadrado de Pearson considerando as prevalências das espécies ($p=0,075$) e dos genes ($p=0,136$).

A caracterização demográfica e hospitalar dos pacientes (Tabela 3) mostrou que a maioria era do sexo masculino (67,39%). A idade média da população estudada foi de $62,00 \pm 13,98$ anos (mediana = 62 anos, intervalo de 14 a 84 anos), com a faixa etária mais afetada situada entre 60 a 69 anos (39,13% dos casos). Predominaram pacientes autodeclarados como brancos (56,52%), não casados (63,04%), e com baixo nível de instrução escolar (56,52%).

A UTI foi o setor com o maior número de casos (69,57%), e o tempo de permanência hospitalar variou de 5 a 273 dias (média = $78,43 \pm 57,32$ anos, mediana = 69 dias), com uma parte significativa de pacientes permanecendo internados por mais de 30 dias (76,08%). A evolução clínica registrou uma taxa de óbitos de 58,70%, sendo *Klebsiella pneumoniae* presente em 59,26% dos casos.

Tabela 3. Perfil demográfico e dados hospitalares de pacientes com culturas de aspirado traqueal positivas para Enterobacterales Resistentes a Carbapenêmicos (ERC) em um Hospital Universitário no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023 (n = 46).

Características dos pacientes	Total	Espécies de ERC agrupadas			Genes de resistência		
		n <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	n Não <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	p-valor	n blaKPC (%)	n blaNDM (%)	p-valor
Ano do diagnóstico							
2020	15	9 (60,00)	6 (40,00)	0,084	12 (80,00)	3 (20,00)	0,099
2021	13	11 (84,61)	2 (15,39)		9 (69,23)	4 (30,77)	
2022	7	2 (28,57)	5 (71,43)		4 (57,14)	3 (42,86)	
2023	11	8 (72,72)	3 (27,28)		11 (100,00)	0 (-)	
Sexo							
Masculino	31	21 (67,74)	10 (32,26)	0,605	23 (74,19)	8 (25,81)	0,336
Feminino	15	9 (60,00)	6 (40,00)		13 (86,66)	2 (13,34)	
Faixa Etária (anos)							
10 – 18	1	1 (100,00)	0 (-)	0,045	1 (100,00)	0 (-)	0,987
19 – 59	13	10 (76,92)	3 (23,08)		10 (76,92)	3 (23,08)	
60 – 69	18	11 (61,11)	7 (38,89)		14 (77,77)	4 (22,23)	
70 – 79	10	8 (80,00)	2 (20,00)		8 (80,00)	2 (20,00)	
80 ou mais	4	0 (-)	4 (100,00)		3 (75,00)	1 (25,00)	
Autodeclaração racial							
Branca	26	16 (61,54)	10 (38,46)	0,934	21 (80,77)	5 (19,23)	0,257
Parda	10	7 (70,00)	3 (30,00)		7 (70,00)	3 (30,00)	
Preta	4	3 (75,00)	1 (25,00)		2 (50,00)	2 (50,00)	
Sem informação	6	4 (66,66)	2 (33,34)		6 (100,00)	0 (-)	
Estado civil							
Casado	17	11 (64,70)	6 (35,30)	0,471	14 (82,35)	3 (17,65)	0,796
Solteiro	13	9 (69,23)	4 (30,77)		11 (84,61)	2 (15,39)	
Separado	4	1 (25,00)	3 (75,00)		3 (75,00)	1 (25,00)	
Viúvo	5	4 (80,00)	1 (20,00)		3 (60,00)	2 (40,00)	
Outro	7	5 (71,43)	2 (28,57)		5 (71,43)	2 (28,57)	
Grau de escolaridade							
Nenhum	6	2 (33,34)	4 (66,66)	0,488	5 (83,33)	1 (16,64)	0,367
1º Grau Incompleto	13	9 (69,23)	4 (30,77)		8 (61,54)	5 (38,46)	
1º Grau Completo	7	5 (71,43)	2 (28,57)		7 (100,00)	0 (-)	
2º Grau Completo	7	4 (57,14)	3 (42,86)		6 (85,71)	1 (14,29)	
Superior completo	2	2 (100,00)	0 (-)		1 (50,00)	1 (50,00)	
Não informado	11	8 (72,72)	3 (27,28)		9 (81,81)	2 (18,19)	
Setor Hospitalar							
Unidade de Terapia Intensiva	32	20 (62,50)	12 (26,09)	0,559	27 (84,37)	5 (15,63)	0,129
Enfermaria	14	10 (71,43)	4 (8,70)		9 (64,29)	5 (35,71)	
Tempo de permanência hospitalar							
Até 10	3	2 (66,66)	1 (33,34)	0,173	1 (33,34)	2 (66,66)	0,159
11 a 19	4	3 (75,00)	1 (25,00)		4 (100,00)	0 (-)	
20 a 30	4	4 (100,00)	0 (-)		3 (75,00)	1 (25,00)	
31 a 60	6	6 (100,00)	0 (-)		5 (83,33)	1 (16,67)	
61 a 90	13	8 (61,54)	5 (38,46)		8 (61,54)	5 (38,46)	
91 a 180	13	6 (46,15)	7 (53,85)		12 (92,30)	1 (7,70)	
181 a 360	3	1 (33,34)	2 (66,66)		3 (100,00)	0 (-)	
Tempo de permanência hospitalar ajustado pela mediana (69 dias)							
Até 69 dias	23	19 (82,60)	4 (17,40)	0,03	16 (69,60)	7 (30,40)	0,280
>69 dias	23	11 (47,80)	12 (52,20)		20 (87,00)	3 (13,00)	
Evolução hospitalar							
Alta	19	14 (73,68)	5 (26,32)	0,312	14 (73,68)	5 (26,32)	0,528
Óbito	27	16 (59,26)	11 (40,74)		22 (81,48)	5 (13,52)	
Diagnóstico de COVID-19							
Sim	16	13 (81,25)	3 (18,75)	0,095	12 (75,00)	4 (25,00)	0,695
Não	30	17 (56,66)	13 (43,34)		24 (80,00)	6 (20,00)	

A proporção dos conjuntos (*Klebsiella pneumoniae* e Não *Klebsiella pneumoniae*) e a presença de genes associados foram analisadas em relação às características demográficas e aos dados hospitalares dos pacientes utilizando o teste qui-quadrado, com uma probabilidade de teste (p) inferior a 0,05 como critério de significância estatística.

A predominância de *Klebsiella pneumoniae* e do gene blaKPC foi notável em praticamente todos os segmentos analisados. No entanto, é relevante salientar que a prevalência do gene blaNDM, neste estudo, demonstrou um aumento progressivo de 2020 a 2022, mesmo que não detectada significância estatística ($p = 0,25$).

A infecção por COVID-19 foi positiva em 34,78% dos pacientes. Analisando as informações oficiais do Ministério da Saúde em relação ao número de novos casos de COVID-19 no Brasil (Ministério da Saúde, 2024), observou-se, neste estudo, uma tendência linear direta entre as proporções de ERC que carregam o gene blaNDM e a tendência anual de aumento de casos novos de COVID-19 no país ($p = 0,050$). Essa associação foi ainda mais evidente nos pacientes com resultado negativo para COVID-19 ($p = 0,001$) (Figura 1).

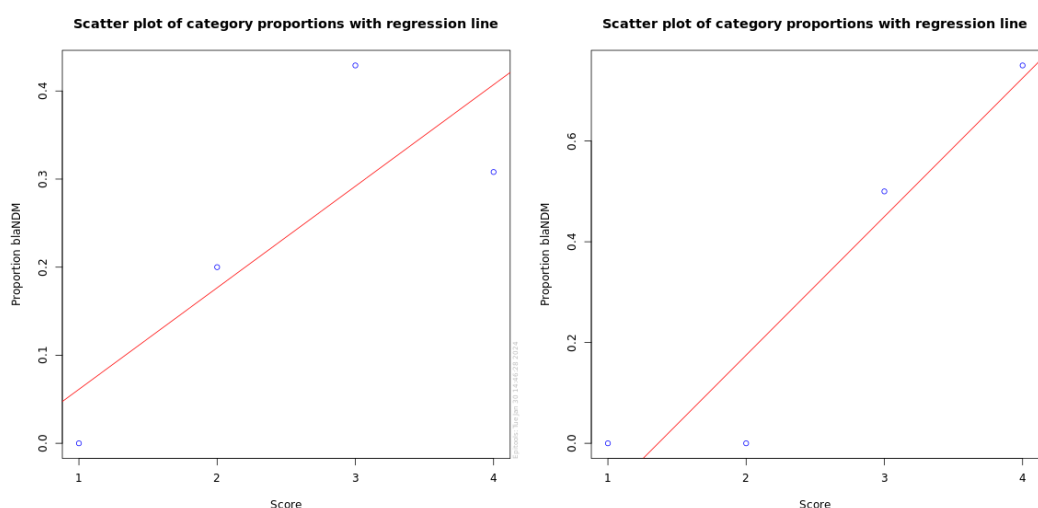


Figura 1. Relação entre as proporções de ERC com o gene blaNDM e a evolução anual de novos casos de COVID-19 no Brasil (Ministério da Saúde, 2024).

Lado esquerdo: ERC isoladas de amostras do trato respiratório inferior de pacientes em um Hospital Universitário ($n = 46$), no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023. Qui-quadrado para inclinação (tendência linear) = 3,82; Valor de p para a inclinação = 0,05; Inclinação (slope) = 0,10; escores 1 (2023), 2 (2020), 3 (2022) e 4 (2021).

Lado direito: ERC isoladas de amostras do trato respiratório inferior de pacientes em um Hospital Universitário e que não apresentaram resultado positivo para COVID-19 ($n = 30$) no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023. Qui-quadrado para inclinação (tendência linear) = 13,35; Valor de p para a inclinação = 0,001; Inclinação (slope) = 0,26; escores 1 (2023), 2 (2020), 3 (2022) e 4 (2021).

Em relação às diferentes faixas etárias, constatou-se uma tendência linear inversa significativa entre as proporções de *Klebsiella pneumoniae* ($p = 0,045$) (Figura 2). As taxas de bactérias “Não *Klebsiella pneumoniae*” foram significativamente maiores em pacientes com permanência hospitalar acima da mediana (69 dias), independentemente dos resultados de COVID-19 ($p = 0,0061$) (Tabela 4). Essa tendência persistiu após ajustes para os tipos de genes de resistência (Tabela 5).

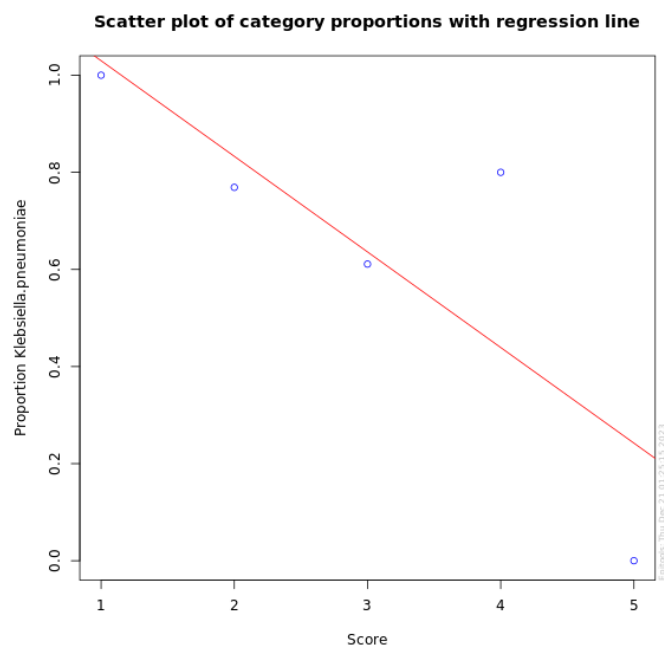


Figura 2. Tendência linear inversa entre proporções de *Klebsiella pneumoniae* e faixas etárias dos pacientes. Linhagens de ERC, incluindo *Klebsiella pneumoniae*, foram isoladas de amostras do trato respiratório inferior de pacientes em um Hospital Universitário ($n = 46$) no período de janeiro de 2020 a agosto de 2023.

Qui-quadrado para inclinação (tendência linear) = 3,65; Valor de p para a inclinação = 0,055; Inclinação (slope) = - 0,13; escores 1 (10-18 anos), 2 (19-59 anos), 3 (60-69 anos), 4 (70-79 anos) e 5 (80 anos ou mais).

Tabela 4. Associação entre grupos de bactérias “*Klebsiella pneumoniae*” e “Não *Klebsiella pneumoniae*” resistentes a carbapenêmicos em amostras de aspirado traqueal (n = 46) de pacientes em um Hospital Universitário e o tempo de permanência hospitalar agrupado pela mediana (69 dias), estratificada pelos resultados do teste de diagnóstico de COVID-19.

COVID-19	Tempo de permanência hospitalar agrupado pela mediana	Total	n <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	n Não <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	p-valor	ORMH* (IC95%)
Positivo	Até 69 dias	5	5 (100,00)	0 (-)	0,29	-
	> 69 dias	11	8 (72,70)	3 (27,30)		
Negativo	Até 69 dias	18	14 (77,80)	4 (22,20)	0,013	-
	> 69 dias	12	3 (25,00)	9 (75,00)		
Taxa de “não <i>Klebsiella pneumoniae</i> ” ajustada por resultado de COVID-19	Até 69 dias	-	-	-	0,0061	12,84 (2,25-73,21)
	> 69 dias	-	-	-		

*Odds Ratio ajustado de Mantel-Haenszel.

Tabela 5. Associação entre grupos de bactérias “*Klebsiella pneumoniae*” e “Não *Klebsiella pneumoniae*” resistentes a carbapenêmicos em amostras de aspirado traqueal (n = 46) de pacientes em um Hospital Universitário e o tempo de permanência hospitalar agrupado pela mediana (69 dias), estratificada por tipos de genes de resistência encontrados.

Genes de resistência a carbapenêmicos	Tempo de permanência hospitalar agrupado pela mediana	Total	n <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	n Não <i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	p-valor	ORMH* (IC95%)
blaKPC	Até 69 dias	16	14 (87,50)	2 (12,50)	0,04	-
	> 69 dias	20	10 (50,00)	10 (50,00)		
blaNDM	Até 69 dias	7	5 (71,40)	2 (28,60)	0,33	-
	> 69 dias	3	1 (33,30)	2 (66,70)		
Taxa de “não <i>Klebsiella pneumoniae</i> ” ajustada por tipos de genes de resistência	Até 69 dias	-	-	-	0,02	6,47 (1,47-28,37)
	> 69 dias	-	-	-		

*Odds Ratio ajustado de Mantel-Haenszel.

Discussão

A redução do uso inadequado de antibióticos é uma estratégia central no enfrentamento da RAM (WHO, FAO; UNEP; WOA, 2023; ANVISA, 2023), porém a pandemia de COVID-19 sobrecarregou os sistemas de saúde mundialmente, potencialmente agravando o cenário de resistência bacteriana (Rehman, 2023; Witt et al., 2023; Rawson et al., 2020). A literatura destaca que entre 1% e 10% dos casos de COVID-19 apresentaram infecções secundárias (Murray, 2020), no entanto, até 72% dos pacientes críticos receberam tratamento antimicrobiano empírico, incluindo regimes de amplo espectro (Rawson et al., 2020).

A permanência prolongada em ambientes hospitalares, especialmente em UTIs, aumenta o risco de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (Blot et al., 2022), sendo que o aumento na incidência de IRAS observado em 2019-2020 foi predominantemente atribuído ao uso intensivo de dispositivos invasivos, tais como ventilação mecânica e cateteres vasculares (CDC, 2022; Evans et al., 2022; Lastinger et al., 2022; Fakhri et al., 2021; Maes et al., 2021; Rouzé et al., 2021; Ochoa-Hein et al., 2021). A avaliação da prevalência de genes de resistência a carbapenêmicos em Enterobacterales isolados de aspirados traqueais de pacientes hospitalizados desde o início da pandemia de COVID-19 pode desempenhar um papel fundamental na compreensão da extensão da resistência antimicrobiana, fornecendo subsídios para tratamento e prevenção de padrões específicos de resistência.

Os resultados deste estudo demonstraram uma alta prevalência de culturas com crescimento bacteriano superior a 10^5 UFC/mL (80,40%), indicando uma carga bacteriana substancial que pode ter implicações clínicas relevantes (ANVISA, 2004). A análise das culturas positivas, com BGN não fermentadores e Enterobacterales predominantes, revela a diversidade microbiana presente no hospital. Acrescentando uma camada de complexidade à gestão dessas infecções, a resistência a carbapenêmicos foi observada em cerca de metade dos isolados de Enterobacterales (44,76%), alinhando-se com preocupações globais sobre a resistência a esses antibióticos (CDC, 2019; WHO, 2019).

A predominância de *Klebsiella pneumoniae* observada neste estudo alinha-se às pesquisas prévias que a identificam como uma das principais propagadoras de

resistência aos carbapenêmicos (Porreca et al., 2018; Logan; Weinstein, 2017). No cenário brasileiro, as linhagens de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC, principalmente os subtipos ST437 e ST11 identificados por tipagem de sequência *multilocus*, são epidêmicos e considerados uma ameaça à saúde pública (Conceição-Neto et al., 2022; Braun et al., 2018; Sampaio; Gales, 2016).

Neste estudo, o gene blaKPC foi o mais prevalente entre as espécies identificadas, mantendo sua predominância ao longo dos anos investigados. No entanto, o gene blaNDM foi observado em 10 isolados (21,74%), com sua proporção aumentando de 20,00% a 42,86% entre 2020 e 2022. Pesquisas anteriores revelaram um aumento na incidência de resistência aos carbapenêmicos em hospitais de São Paulo, Brasil (6,8% em 2011 para 35,5% em 2015). Notavelmente, o gene blaKPC foi identificado em 96,2% das linhagens de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemases avaliadas (Bartolleti et al., 2016). Em um estudo mais recente, as taxas de detecção de blaKPC e blaNDM em Enterobacterales foram 68,6% (41.301/60.205) e 14,4% (8.377/58.172), respectivamente, considerando dados de hospitais brasileiros de 2015 a 2022, integrados ao sistema público de informações laboratoriais (Kiffer et al., 2023).

A ausência de outros genes de resistência e a não coexistência de múltiplos genes produtivos de carbapenemase, aliadas à falta de diferença estatisticamente significativa nas prevalências de espécies e genes ao longo do período estudado, podem indicar uma possível especificidade nas linhagens analisadas neste estudo. É imperativo observar que essa constatação não diminui a importância da vigilância contínua, conforme constatado no plano brasileiro para a prevenção e o controle da RAM nos serviços de saúde (ANVISA, 2023).

A enzima KPC, produzida por ERC em genes plasmidiais, transcende suas linhagens originais de *Klebsiella pneumoniae*, sendo detectada em isolados clínicos de diversas espécies bacterianas, o que amplia sua importância clínica (Suay-García; Pérez-Gracia, 2019). No âmbito deste estudo, constatou-se que 19,57% dos isolados pertenciam à espécie *Serratia marcescens*, os quais carregavam o gene blaKPC. A produção de carbapenemases por *Serratia* impõe restrições terapêuticas mais significativas, dada a resistência intrínseca desse gênero bacteriano às polimixinas, utilizadas para tratar infecções por ERC (Tuon; Cordova et al., 2017). Isso sublinha a

complexidade clínica associada à disseminação da resistência a carbapenêmicos e destaca a necessidade de abordagens terapêuticas inovadoras para lidar com infecções causadas por essas linhagens resistentes.

A análise demográfica e hospitalar revelou que os pacientes mais afetados tinham mais de 60 anos, corroborando estudos anteriores sobre RAM (Alvim; Couto; Gazzinelli, 2019; Lorenzoni et al., 2017). A predominância de casos em pacientes do sexo masculino, não-casados e com menor nível de instrução escolar, em concordância com pesquisas prévias, enfatiza a importância da consideração de fatores sociais e demográficos na abordagem da RAM (Aiesh et al., 2023; Ahn et al., 2023; Tuon; Graf, 2017; Lorenzoni et al., 2017).

Ao analisar as características dos pacientes em relação às linhagens bacterianas ou genes específicos, observou-se um padrão divergente da literatura: a redução nas proporções de *Klebsiella pneumoniae* está associada ao avanço nas faixas etárias. Essa descoberta sugere a necessidade de estratégias de prevenção e controle de infecções direcionadas tanto para a população jovem quanto para a idosa. No entanto, dada a complexidade da interação hospedeiro- patógeno, amplamente reconhecida na literatura (Abdul-Mutakabbir et al., 2021; Goh; Knight, 2017), ressalta-se a urgência de estudos mais abrangentes para compreender as nuances dessa relação.

A elevada prevalência nas UTIs, reportada em 69,57% dos casos, está alinhada com estudos que identificam essas unidades como pontos críticos para a disseminação de linhagens bacterianas resistentes (Blot et al., 2022; Thomas et al., 2022). A maioria dos pacientes (76,08%) permaneceu hospitalizada por mais de 30 dias, um fator de risco conhecido para o desenvolvimento de IRAS (CDC, 2022; Logan; Weinstein, 2017). Embora este estudo não tenha investigado as causas de óbito dos pacientes com ERC isoladas de amostras do trato respiratório inferior, é relevante observar que 58,70% desses pacientes faleceram. De acordo com uma metanálise conduzida por Martin e colaboradores (2018), as infecções por ERC estão associadas a taxas de mortalidade mais elevadas, com pacientes portadores de ERC apresentando taxas de mortalidade 2 a 3 vezes superiores àqueles com infecções suscetíveis a carbapenêmicos.

A avaliação da infecção por COVID-19 revelou que 34,78% dos pacientes testaram positivo. Além disso, observou-se uma correlação linear entre a presença do gene bla_{NDM} e o aumento anual de casos novos de COVID-19 no Brasil, indicando uma interseção crítica entre infecções respiratórias hospitalares e a pandemia global (Evans et al., 2022; Rouzé et al., 2021). Essa relação tem sido objeto de investigação, ressaltando a necessidade de pesquisas adicionais para um entendimento mais aprofundado.

Com o objetivo de explorar a dinâmica das infecções hospitalares à luz dos dados disponíveis neste estudo, realizou-se uma análise estratificada considerando associações entre os grupos bacterianos *Klebsiella pneumoniae* e “Não *Klebsiella pneumoniae*”. Este estudo revelou uma probabilidade significativamente maior de encontrar bactérias “Não *Klebsiella pneumoniae*” em pacientes com permanência hospitalar superior à mediana calculada (69 dias). Esses resultados sugerem uma associação entre esse grupo bacteriano e permanências prolongadas, independentemente do diagnóstico de COVID-19 ou do tipo de gene de resistência. Essas descobertas têm implicações importantes para o desenvolvimento de abordagens mais eficazes na gestão e controle de infecções hospitalares, bem como para propostas de novos estudos.

Embora este estudo forneça dados importantes sobre a RAM, é importante reconhecer suas limitações ao interpretar os resultados. A abordagem retrospectiva, a falta de detalhes sobre fatores de risco individuais, como comorbidades e exposição prévia a antimicrobianos, a concentração geográfica única e a possível subnotificação de casos de COVID-19, principalmente nos primeiros anos da pandemia, podem restringir a generalização dos achados. Além disso, as associações significativas encontradas, pouco exploradas na literatura, destacam a necessidade de estudos mais abrangentes para entender os determinantes individuais da resistência. No entanto, a metodologia robusta, incluindo a confirmação da identificação bacteriana por MALDI-TOF e a diferenciação dos genes de resistência por qPCR, fortaleceram os resultados. A exclusão de isolados duplicados e a análise detalhada dos prontuários contribuíram para a precisão e confiabilidade dos resultados obtidos.

Conclusão

A alta prevalência de resistência aos carbapenêmicos, especialmente nas linhagens de *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens*, destaca a urgência de estratégias de controle mais eficazes. O predomínio do gene blaKPC em todas as espécies avaliadas reforça a necessidade de medidas preventivas e de tratamento específicas para essa enzima, dada sua disseminação global e impacto clínico, sem desconsiderar a preocupante presença crescente do gene blaNDM.

Diante dessas constatações, é crucial o desenvolvimento e a implementação imediata de estratégias de controle mais eficazes, juntamente com a promoção de estudos prospectivos abrangentes para uma compreensão mais profunda dos determinantes individuais dessa resistência e da dinâmica de transmissão de linhagens resistentes em âmbito hospitalar. A continuidade da vigilância rigorosa e pesquisa ativa é fundamental para orientar intervenções direcionadas, visando atenuar os impactos adversos da resistência antimicrobiana na saúde global. Esta responsabilidade é inquestionável diante do crescente desafio à eficácia dos tratamentos antimicrobianos.

Referências

Abdul-Mutakabbir, J.C.; Griffith, N.C.; Shields, R.K.; Tverdek, F.P.; Escobar, Z.K. Contemporary perspective on the treatment of *Acinetobacter baumannii* infections: insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 10, n. 4, p. 2177-2202, 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. **Manual de Microbiologia Clínica para o controle de infecção em Serviços de Saúde**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf Acesso em: 08 jan. 2024.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. **Pan-Serviços de Saúde: Plano Nacional para prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos em serviços de saúde 2023-2027**. Brasília: Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde, Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde, Terceira Diretoria, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2023. Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/pan-servicos-de-saude-2023-2027-final-15-12-2023%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/pan-servicos-de-saude-2023-2027-final-15-12-2023%20(2).pdf) Acesso em: 08 jan. 2024.

Ahn, J.Y.; Ahn, S.M.; Kim, J.H.; Jeong, S.J.; Ku, N.S.; Choi, J.Y. et al. Clinical characteristics and associated factors for mortality in patients with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bloods stream infection. **Microorganisms**, v. 11, n. 1121, p. 1-11, 2023.

Aiesh, B.M.; Maali, Y.; Qandeel, F.; Omarya, S.; Taha, S.A.; Sholi, S. et al. Epidemiology and clinical characteristics of patients with carbapenem-resistant *Enterobacterales* infections: experience from a large tertiary care center in a developing country. **BMC Infectious Diseases**, v. 23, n. 644, p. 1-10, 2023.

Alvim, A.L.S.; Couto, B.R.G.M.; Gazzinelli, A. Epidemiological profile of healthcare-associated infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 53, n. e03474, p. 1-6, 2019.

Barbolleti, F.; Seco, B.M.S.; Santos, C.C.; Felipe, C.B.; Lemo, M.E.B.; Alves, T.S. et al. Polymyxin B resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, São Paulo, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 10, p. 1849-1851, 2016.

Bier, D.; Tutija, J.F.; Pasquatti, T.N.; Oliveira, T.L.; Araújo, F.R.; Verbisck, N.V. Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de *Salmonella* spp. E *Escherichia coli* isolados de carcaças bovinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1373-1379, 2017.

Blot, S.; Ruppé, E.; Harbarth, S.; Asehnoune, K.; Poulakou, G.; Luyt, C.E. et al. Healthcare-associated infections in adult intensive care unit patients: Changes in epidemiology, diagnosis, prevention and contributions of new Technologies. **Intensive & Critical Care Nursing**, v. 70, n. 103227, p. 1-15, 2022.

Braun, G.; Cayô, R.; Matos, A.P.; Fonseca, J.M.; Gales, A.C. Temporal evolution of polymyxin B – resistant *Klebsiella pneumoniae* clones recovered from blood cultures in a teaching hospital during a 7-year period. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 51, n. 3, p. 522-527, 2018.

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [BrCast]. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos**. Rio de Janeiro: BrCast, 2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-v1-mar-2021.pdf> Acesso em: 08 jan. 2024.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2019**. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, 2019a. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> Acesso em: 08 jan. 2024.

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. **COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022**. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/covid19-impact-report-508.pdf> Acesso em: 08 jan. 2023.

Conceição-Neto, O.C.; Costa, B.S.; Pontes, L.S.; Silveira, M.C.; Silva, L.H.J.; Santos, I.C.O. et al. Polymyxin resistance in clinical isolates of *K. pneumoniae* in Brazil: Update on molecular mechanisms, clonal dissemination and relationship with KPC-producing strains. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.12, n. 898125, p. 1-13, 2022.

El-Gamal, M.I.; Brahim, I.; Hisham, N.; Aladdin, R.; Mohammed, H.; Bahaaeldin, A. Recent updates of carbapenem antibiotics. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 131, p. 185-195, 2017.

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares [EBSERH], Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora [HU-UFJF]. **Relatório do HU-UFJF 2019 a julho de 2022**. Juiz de Fora: Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, 2022. Disponível em: [Anexo_Resolução-27.2023-Consu-UFJF_SEI_Assinada.pdf](#) [Relatório-de-Gestão.Monitoramento.pdf](#) Acesso em: 08 jan. 2024.

Evans, M.E.; Simbartl, L.A.; Kralovic, S.M.; Clifton, M.; DeRoos, K.; McCauley, B.P. et al. Healthcare-associated infections in Veterans Affairs acute-care and long-term healthcare facilities during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, p. 1-7, 2022.

Fakih, M.G.; Bufalino, A.; Sturm, L.; Huang, R.H.; Ottenbacher, A.; Saake, K. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, central-line-associated bloodstream infection (CLABSI), and catheter-associated urinary tract infection (CAUTI): The urgent need to refocus on hardwiring prevention efforts. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, p. 1-6, 2021.

Freiwald, A.; Sauer, S. Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. **Nature Protocols**, v. 4, n. 5, p. 732-742, 2009.

Gimeno, S.G.A.; Souza, J.M.P. Utilização de estratificação e modelo de regressão logística na análise de dados de estudos caso-controle. **Revista Saúde Pública**, v. 29, n. 4, p. 283-289, 1995.

Goh, C.; Knight, J.C. Enhanced understanding of the host-pathogen interaction in sepsis: new opportunities for omic approaches. **The Lancet. Respiratory Medicine**, v. 5, n. 3, p. 212-223, 2017.

Kalil, A.C.; Metersky, M.L.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.A.; Palmer, L.B. et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 5, p. 61-111, 2016.

Kiffer, C.R.V.; Rezende, T.F.T.; Costa-Nobre, D.T.; Marinonio, A.S.S.; Shiguenaga, L.H.; Kulek, D.N.O 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**, v. 77, Suppl. 1, p. 29-37, 2023.

Lastinger, L.M.; Alvarez, C.R.; Kofman, A.; Konnor, R.Y.; Kuhar, D.T.; Nkwata, A. et al. Continued increases in the incidence of healthcare-associated infection (HAI) during the second year of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, p. 1-5, 2022.

Logan, L.K.; Weinstein, R.A. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: The Impact and evolution of a global menace. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 215, n. 1, p. 28-36, 2017.

Lorenzoni, V.V.; Silva, D.C.; Rampelotto, R.F.; Brites, P.C.; Villa, B.; Horner, R. Evaluation of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a tertiary-level reference hospital in Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 685-688, 2017.

Maes, M.; Higginson, E.; Pereira-Dias, J.; Curran, M.D.; Parmar, S.; Khokhar, F. et al. Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19. **Critical Care**, v. 25, n. 25, p.1-11, 2021.

Martin, A.; Fahrbach, K.; Zhao, Q.; Lodise, T. Association between carbapenem resistance and mortality among adult, hospitalized patients with serious infections due to Enterobacteriaceae: Results of a systematic literature review and meta-analysis. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 5, n. 7, p. 1-9, 2018.

Ministério da Saúde. **COVID-19 no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde. Secretarias Estaduais de Saúde, Dados até 27/01/2024, 2024. Disponível em: https://infoms.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html Acesso em: 08 jan. 2024.

Murray, A.K. The novel coronavirus COVID-19 outbreak: Global implications for antimicrobial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 1020, p. 1-4, 2020.

O'Neill, J. **Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill**. Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust. HM Government, 2014. Disponível em: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf Acesso em: 08 jan. 2024.

Ochoa-Hein, E.; González-Lara, M.F.; Chávez-Ríos, A.R.; Paz-García, R.; Haro-Osnaya, A.; González-González, R. et al. Surge in ventilator-associated pneumonias and bloodstream infections in an academic referral center converted to treat COVID-19 patients. **Revista de Investigación Clínica**. v. 73, n. 4, p. 210-215, 2021.

OPLUSTIL, C.P.; Zoccoli, C.M.; Tobouti, N.R.; Scheffer, M.C. **Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica**. 4a ed. São Paulo: Sarvier, 2020. 756 p.

Porreca, A.M.; Sullivan, K.V.; Gallagher, J.C. The epidemiology, evolution, and treatment of KPC-producing organisms. **Current Infectious Disease Reports**, v. 20, n. 13, p. 1-12, 2018.

Rawson, T.M.; Moore, L.S.P.; Zhu, N.; Ranganathan, N.; Skolimowska, K.; Gilchrist, M. et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 9, p. 2459-2468, 2020.

Rehman, S. A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. **Journal of Infection and Public Health**, v. 16, n. 4, p. 611-617, 2023.

Rouzé, A.; Martin-Loeches, I.; Póvoa, P.; Makris, D.; Artigas, A.; Bouchereau, M. et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study.

Intensive Care Medicine, v. 47, n. 2, p. 188-198, 2021.

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

Sergeant, E.S.G. **Epitools Epidemiological Calculators**. Ausvet, 2018. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>. Acesso em: 06 fev 2024.

Suay-García, B.; Pérez-Gracia, M.T. Present and future of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) infections. **Antibiotics**, v. 8, n. 122, p. 1-16, 2019.

Thomas, G.R.; Corso, A.; Pasterán, F.; Shal, J.; Sosa, A.; Pilonetto, M. 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. 1-8, 2022.

Tuon, F.; Cordova, K.; Dario, T.M.; Nunes, L.S.; Barth, A.L.; Martins, A.F. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Serratia marcescens* outbreak in a university hospital. **American Journal of Infection Control**, v. 45, n. 6, p. 700-702, 2017.

Tuon, F.F.; Graf, M.E.; Merlini, A.; Rocha, J.L.; Stallbaum, S.; Arend, L.N. et al. Risk factors for mortality in patients with ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2017.

VIASURE Real Time PCR Detection Kit. **Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae**. Zaragoza (Spain): Certest Biotec, 2024. Disponível em: https://www.certest.es/wp-content/uploads/2021/08/VIASURE_Carbapenemase_EN.pdf Acesso em: 08 jan. 2024.

Winn, W.C.; Allen, S.D.; Janda, M.W.; Koneman, E.W.; Procop, G.W.; Schreckenberger, P.C. et al. **Koneman, Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. 1872p.

Witt, L.S.; Howard-Anderson, J.R.; Jacob, J.T.; Gottlieb, L.B. The impact of COVID-19 on multidrug-resistant organisms causing healthcare-associated infections: a narrative review. **JAC-Antimicrobial Resistance**, v. 5, n.1, p. 1-9, 2023.

World Health Organization [WHO], Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], United Nations Environment Programme [UNEP] and World Organisation for Animal Health [WOAH]. **A one health priority research agenda for antimicrobial resistance**. Geneva: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organisation for Animal Health, 2023. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/370279/9789240075924-eng.pdf?sequence=1> Acesso em: 08 jan. 2024.

World Health Organization [WHO]. **Top ten threats to global health in 2019**. Geneva: World Health Organization, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019> Acesso em: 08 jan. 2024.

World Health Organization [WHO]. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Geneva: World Health Organization, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Acesso em: 08 jan. 2024.