



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA *CAMPUS* SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIA WALCLEANES MAGALHÃES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E DETECÇÃO
DE GENES DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS
DE PACIENTES COM COVID-19 ASSISTIDOS NUM HOSPITAL TERCIÁRIO DA
REGIÃO NORTE DO CEARÁ**

SOBRAL

2024

MARIA WALCLEANES MAGALHÃES DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E DETECÇÃO DE
GENES DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS DE
PACIENTES COM COVID-19 ASSISTIDOS NUM HOSPITAL TERCIÁRIO DA REGIÃO
NORTE DO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará – *Campus Sobral*, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Biologia Molecular e de Microrganismos. Área de Concentração: Resistência Antimicrobiana.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Cesar Barroso Barbosa.

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Gleiciane de Queiroz Martins.

SOBRAL

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O48a Oliveira, Maria Walcleanes Magalhães de.
AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS DE PACIENTES COM COVID-19 ASSISTIDOS NUM HOSPITAL TERCIÁRIO DA REGIÃO NORTE DO CEARÁ / Maria Walcleanes Magalhães de Oliveira. – 2024.
91 f.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Francisco Cesar Barroso Barbosa.
Coorientação: Prof. Dr. Maria Gleiciane de Queiroz Martins.
1. SARS-CoV-2; . 2. Coinfecções bacterianas; . 3. Multidroga resistente (MDR); . 4. Resistência antimicrobiana; . 5. Betalactamases. I. Título.
-

MARIA WALCLEANES MAGALHÃES DE OLIVIERA

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS DE PACIENTES COM COVID-19 ASSISTIDOS NUM HOSPITAL TERCIÁRIO DA REGIÃO NORTE DO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Biologia Molecular e de Microrganismos. Área de Concentração: Resistência Antimicrobiana.

Aprovada em: 28/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco Cesar Barroso Barbosa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Maria Gleiciane de Queiroz Martins (Co-orientadora)
Centro Universitário (UNINTA)

Profa. Dra. Denise Hélen Imaculada Pereira de Oliveira (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Roberto Viana Silva (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, aos meus pais Maria Odete e José Macleodes, meu esposo Jesuíno Farias Ximenes por sempre me incentivar e apoiar em todos os momentos, minhas filhas Maria Júlia e Maria Cecília por todo amor e por serem a razão da minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por seu amor, por ter me dado sabedoria, força, discernimento e ao Divino Espírito Santo por sempre estar comigo me guiando e iluminado em todos os momentos.

À minha abençoada e querida família que é meu alicerce sempre, em especial meu esposo Jesuíno que esteve sempre ao meu lado em todas as etapas me incentivando e apoiando e as minhas filhas Júlia e Cecília pelo apoio e amor. Minha mãe e meu pai por toda dedicação, força e apoio, meus irmãos Janiele, Macleisom e Jeycielle pelo parceria, torcida e amor de sempre.

Ao meu querido orientador, Professor Dr. Francisco Cesar Barroso Barbosa por todos os ensinamentos, orientações, incentivo, apoio, atenção, disponibilidade e carinho. A você toda minha gratidão, respeito e consideração.

À minha Coorientadora Profa. Dra. Maria Gleiciane de Queiroz Martins por toda ajuda, sabedoria e disponibilidade de tempo durante os experimentos.

Aos Professores participantes da banca examinadora Professora Dra. Denise Hélen Imaculada Pereira de Oliveira e Professor Dr. José Roberto Viana Silva pela disponibilidade de tempo, pelas valiosas colaborações, sugestões e incentivo.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará (UFC) *Campus* Sobral pela oportunidade e por me permitir colaborar com a produção científica desta estimada casa.

Ao Hospital Regional Norte (HRN-ISGH) na pessoa do Msc. Victor Fontenele por cederem gentilmente as amostras biológicas e ao laboratório São Carlos em Fortaleza pelo cuidado com o isolamento, triagem e estocagem dessas.

Ao Núcleo de Bioprospecção e Experimentação Molecular Aplicada - Nubem do Centro Universitário Uninta, por ter permitido a realização de uma parte dos meus experimentos em seu laboratório.

Aos meus colegas de vida acadêmica e laboratório, Carlos Victor Fontenele, Júlio César Prado e Flávia Silva, que contribuíram de alguma forma para a realização desse processo, e com carinho à minha amiga Izabelly que muito me incentivou na seleção do mestrado.

“Disciplina é a ponte que liga nossos sonhos
às nossas realizações!”

(Pat Tillman)

RESUMO

Pacientes com COVID-19 podem estar em risco de infecções bacterianas concomitantes, incluindo bactérias gram-negativas multidroga resistentes (MDR) adquiridas em ambiente hospitalar, e a administração imediata de antibióticos de acordo com os relatórios de sensibilidade antimicrobiana são essenciais para reduzir a gravidade, complicações e a morbimortalidade. O objetivo desse estudo foi avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e detectar a presença de genes de resistência em bacilos gram-negativos (BGN) isolados de pacientes com diagnóstico de COVID-19 assistidos em um hospital terciário da Região Norte do Ceará. Dados microbiológicos de pacientes com coinfeções bacterianas foram coletados pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do referido hospital no período de abril/2021 a março/2022 e um total de 46 BGN foram isolados. A identificação bacteriana e o perfil de sensibilidade foram realizados pelo sistema automatizado VITEK®2 (bioMérieux) e a análise molecular para detecção dos genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-23} e *bla*_{OXA-48} foi feita por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), seguida de corrida eletroforética em gel de agarose. Do total de BGN analisados, a maior frequência foi de *Klebsiella pneumoniae* (n = 18; 39,1%), seguida de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* com 12 (26,1%) isolados de cada. Quanto à hospitalização, 58,7% se encontravam no setor da Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e metade dos isolados foram caracterizados como agentes de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS). Para a sensibilidade antimicrobiana, a maior taxa de resistência foi encontrada para Imipenem (60,9%), seguido de Piperacilina/Tazobactam (54,3%). Entretanto, 58,7% dos BGN foram sensíveis ao Aztreonam. Dentre os genes que codificam Betalactamases de espectro Estendido (ESBL), o *bla*_{KPC} foi o mais frequente, detectado em 31 (67,4%) dos isolados com prevalência em *K. pneumoniae*, e o *bla*_{OXA-23} em espécimes de *A. baumannii* (n = 26; 56,5%). Por outro lado, sete amostras apresentaram a coexistência de três genes simultaneamente. Portanto, esses dados poderão ser úteis para a geração de informações importantes no controle da disseminação desses patógenos no ambiente hospitalar, implicando diretamente nos eixos de segurança do paciente e melhorando a qualidade da assistência.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Coinfeções bacterianas; Multidroga resistente (MDR); Resistência antimicrobiana; Betalactamases.

ABSTRACT

Patients with COVID-19 may be at risk of concomitant bacterial infections, including hospital-acquired multidrug resistant (MDR) gram-negative bacteria, and prompt administration of antibiotics in accordance with antimicrobial susceptibility reports is essential to reduce severity, complications and morbidity and mortality. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial sensitivity profile and detect the presence of resistance genes in gram-negative bacilli (GNB) isolated from patients diagnosed with COVID-19 treated at a tertiary hospital in the Northern Region of Ceará. Microbiological data from patients with bacterial co-infections were collected by the Hospital Infection Control Committee of the aforementioned hospital from April/2021 to March/2022 and a total of 46 GNB were isolated. Bacterial identification and sensitivity profile were performed by the automated system VITEK®2 (bioMérieux) and molecular analysis to detect the genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-48} was performed by Chain Reaction Polymerase (PCR), followed by electrophoretic run in agarose gel. Of the total GNB analyzed, the highest frequency was *Klebsiella pneumoniae* (n = 18; 39.1%), followed by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* with 12 (26.1%) isolates of each. Regarding hospitalization, 58.7% were in the Intensive Care Unit (ICU) sector and half of the isolates were characterized as agents of Healthcare-Associated Infections (HAIs). For antimicrobial sensitivity, the highest resistance rate was found for Imipenem (60.9%), followed by Piperacillin/Tazobactam (54.3%). However, 58.7% of GNB were sensitive to Aztreonam. Among the genes encoding ESBLs, *bla*_{KPC} was the most frequent, detected in 31 (67.4%) of the isolates prevalent in *K. pneumoniae*, and *bla*_{OXA-23} in specimens of *A. baumannii* (n = 26; 56.5%). On the other hand, seven samples showed the coexistence of three genes simultaneously. Therefore, these data could be useful for generating important information to control the spread of these pathogens in the hospital environment, directly affecting patient safety and improving the quality of care.

Keywords: SARS-CoV-2; Bacterial co-infections; Multidrug resistant (MDR); Antimicrobial resistance; Betalactamases.

LISTA DE FIGURAS
REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Estrutura química dos antibióticos betalactâmicos..... 29

LISTA DE FIGURAS
ARTIGO DE REVISÃO

Figure 1 - Flowchart of the search and selection procedure of the articles included in the
sample..... 39

LISTA DE TABELAS
ARTIGO DE REVISÃO

Table 1 - Highlighted Results by Study for the Investigation of Bacterial Coinfections MDR by MDR Microorganisms in Patients Diagnosed with COVID-19 Hospitalized in Healthcare Units.....41

LISTA DE TABELAS
ARTIGO EXPERIMENTAL

Tabela 1 –	<i>Primers</i> para amplificação dos genes	68
Tabela 2 –	Frequência de microorganismos e perfil epidemiológico dos pacientes internados com COVID-19 e Coinfecção bacteriana no HRN.....	69
Tabela 3 –	Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana de isolados de pacientes internados com COVID-19 e coinfecção bacteriana no HRN.....	70
Tabela 4 –	Genes de resistência detectados em isolados de pacientes com COVID-19 e coinfecção bacteriana.....	71
Tabela 5 –	Correlação da presença dos genes <i>bla</i> -KPC e <i>bla</i> -OXA-23 com resistência a antibióticos em isolados clínicos de pacientes internados com COVID-19 no HRN.....	72
Tabela 6 –	Relação dos isolados dos pacientes com coexistência de genes de resistência e antimicrobianos.....	72
Tabela 7 –	Desfecho clínico dos pacientes internados com COVID-19 e coinfecção no HRN por microorganismos.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Enzima Conversora de Angiotensina II
AmpC	Cefalosporinas cromossomiais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BES	Brazil extended spectrum
BGN	Bactéria Gram-negativa
BGN-NF	Bactéria Gram-negativa-Não Fermentadora
BHI	Brain Heart Infusion
<i>Bla</i>	Betalactamase
BVS	Biblioteca Virtual de Saúde
CDC	Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CEP	Comissão de Ética em Pesquisa
CIVD	Coagulação Intravascular Disseminada
cKp	Clássicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>
COVID-19	Doença Coronavírus-19
CRAB	<i>Acinetobacter baumannii</i> resistente a carbapenêmicos
CRO	Microorganismos resistentes aos carbapenêmicos
CTX-M	Cefotaximase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAse	Enzima que degrada Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleótidos trifosfato
DoLR	Droga de último recurso
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ECDC	Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças dos EUA
ECMO	Oxigenação para Membrana Extracorpórea
ESBL	Extended Spectrum β -Lactamase
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterobacter</i> spp.
EUA	Estados Unidos da América
FAMED	Faculdade Medicina-UFC, Sobral-Ceará

GES	Guiana Extended Spectrum
GECA	Gastroenterocolite aguda
H ₁ N ₁	Proteína Hemaglutinina 1 - Enzima Neuraminidase 1
HKU1	Um dos 4 gêneros de Coronavírus da subfamília Orthocoronaviridae
HRN	Hospital Regional Norte
IC	Intervalo de Confiança
IgG	Imunoglobulina Classe G
IgM	Imunoglobulina Classe M
IMP	IMP – Imipenemase
INTER 3	Intermediária 3
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ISAbal	Elemento de inserção do tipo ba1
ISGH	Instituto de Saúde e Gestão Hospitalar
ITU	Infecções do Trato Urinário
KLC	Cloreto de potássio
KPC	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> Carbapenemase
LAMP	Laboratório de Microbiologia e Parasitologia
LPS	Lipopolissacarídeo
MBL	Metalo-β-lactamases
MDR	Multidroga resistente
MDRO	Microrganismo Multidroga Resistente
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NAG	N-acetilglicosamina
NAM	N-acetilmurâmico
NBM	Meningite Neonatal
NDM-1	Nova Delhi metalo-β-lactamase-1
NL63	Coronavírus Setracovírus do gênero <i>Alphacoronavirus</i>
NT	Não testado
OC43	Coronavírus HCoV-OC43 <i>Betacoronavirus 1</i> , infecta humanos e bovinos
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde

OXA	Active on oxacillin
Pb	Proteínas ligadoras de Penicilinas
PBPs	Pares de base
RAM	Resistência Antimicrobiana
RNA	Ácido ribonucléico
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase Transcriptase Revers
SARS-CoV	Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo Coronavírus-2
SHU	Síndrome Urêmica
SHV	Sulphydryl-Variable β -Lactamase
spp	Espécie ainda não identificada
SPSS	Software aplicativo do tipo científico
SPM	Metallo-beta-lactamase Paulista
TBE	Tris/Borato/EDTA
TCD4	Linfócito T do Grupamento de diferenciação 4
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEM	Temoniera β -Lactamase
TSA	Teste de Sensibilidade antimicrobiana
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNINTA	Centro Universitário Uninta
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VIM	Verona integron-encoded metallo- β -lactamase
Zn	Zinco
229E	Coronavírus humano 229E (HCoV-229E) infecta humanos e morcegos.

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
–	Menos
=	Igual
~	Aproximadamente
<	Menor que
>	Maior que
μL	Microlitro
μM	Micrómetro
°C	Grau Celsius
g/min	Gravidade de rotação/minuto
P	Nível de Significância
®	Marca registrada
mL	Mililitro
m ²	Metro quadrado
min	Minuto
β	Beta
U	Unidades
h	Horas
s	Segundos
X	Veze (Multiplicação)
Nº	Número
II	Numeral dois
XXI	Século 21

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Doença Coronavírus-19 (COVID-19)	19
2.2	Coinfecção e COVID-19.....	20
2.3	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)	22
2.4	Principais patógenos de importância em IRAS	23
2.4.1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	23
2.4.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
2.4.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2.4.4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	26
2.5	Resistência Antimicrobiana (RAM).....	27
2.6	Antimicrobianos Betalactâmicos	28
2.7	Beta-lactamases.....	30
2.7.1	Mecanismo de ação das beta-lactamases.....	30
2.7.2	Classificação das beta-lactamases.....	30
2.7.3	Beta-lactamases de Espectro Estendido (ESBL)	31
2.7.3.1	Família KPC.....	32
2.7.4	Metalo beta-lactamases (MBL).....	33
2.7.4.1	Família NDM-1.....	33
2.7.5	Oxacilinas	33
2.7.5.1	<i>Bla_{OXA-23}</i> e <i>Bla_{OXA-48}</i>	34
3	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivo geral	35
3.2	Objetivos específicos.....	35
4	ARTIGOS.....	36
4.1	Artigo de Revisão.....	36
4.2	Artigo Experimental.....	52
	ANEXO 01.....	74
	ANEXO 02.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76

1 INTRODUÇÃO

A nova doença coronavírus 2019 (COVID-19), doença respiratória aguda, causada por um novo coronavírus (SARS-CoV-2, anteriormente conhecido como 2019-nCoV), se espalhou pela China e recebeu atenção mundial (Guo *et al.*, 2020). Em 30 de janeiro de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou oficialmente a epidemia de COVID-19 como uma emergência de saúde pública de importância internacional (Sohrabi *et al.*, 2020). Em maio de 2023 a Instituição declarou o fim da "Emergência de Saúde Pública", permanecendo ainda o título de Pandemia (OMS, 2023).

O coronavírus pertence à família dos Coronavirinae. Ele infecta principalmente o sistema respiratório e é transmitido por meio de gotículas respiratórias por contato próximo. O vírus pode resultar em doença leve até uma condição de cuidado crítico, que requer tratamento especializado em unidades de terapia intensiva (Zhu *et al.*, 2020).

Pacientes com COVID-19 podem estar em risco de infecções bacterianas concomitantes que exijam tratamento antibacteriano (Lansbury *et al.*, 2020). A coinfeção bacteriana e fúngica em pacientes hospitalizados com COVID-19 é mal compreendida e a diferenciação entre a infecção viral por COVID-19 e a possível presença de infecção bacteriana ou fúngica secundária na base clínica é um desafio (Rawson *et al.*, 2020).

Para casos de pacientes com diagnóstico de COVID-19 que apresentam coinfeções com outros patógenos respiratórios, a administração imediata de antibióticos de acordo com os relatórios de sensibilidade antimicrobiana, bem como a aplicação estrita de estratégias de controle de infecção são essenciais para reduzir a gravidade, complicações, mortalidade e disseminação nosocomial alcançada por essas superbactérias (Rawson *et al.*, 2020).

Conforme a Portaria n.º 2.616 de 12 de maio de 1998 do Ministério da Saúde, a infecção hospitalar no Brasil é definida como toda aquela adquirida após a admissão do paciente em um hospital, podendo se manifestar durante a internação ou após a alta, desde que relacionada à permanência do paciente na instituição ou a procedimentos hospitalares. Também são consideradas infecções hospitalares as que se manifestam antes de 72 horas da internação, quando associadas a procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos realizados durante este período.

Dentre as unidades hospitalares, a unidade de terapia intensiva (UTI) representa um ambiente favorável à presença desses agentes patogênicos, sendo que cerca de 30% das infecções nosocomiais ocorrem nesse local. Há vários fatores que favorecem a presença de

microrganismos na UTI, como a diversidade e disseminação desses agentes ocasionadas pelo fluxo de pacientes submetidos a cirurgias, o longo tempo de internação, doença de base, uso de cateteres urinários e venosos, ventilação mecânica, estado imunológico, idade e uso de medicações imunossupressoras; com isso, os pacientes se tornam mais susceptíveis a adquirir infecções. Além disso, o tratamento empírico com antibióticos pode contribuir para uma elevada taxa de resistência aos antimicrobianos, dificultando o tratamento do paciente (Arcanjo *et al.*, 2017).

A resistência antimicrobiana é considerada uma ameaça significativa aos sistemas de saúde pública não apenas nos países em desenvolvimento, mas em todo o mundo (Prestinaci *et al.*, 2016; Fornou *et al.*, 2017). Ocorre quando microrganismos, incluindo bactérias, vírus, fungos e parasitas, se tornam capazes de se adaptar e crescer na presença de medicamentos que antes os impactavam (CDC, 2019). A infecção por microrganismos multidroga resistentes (MDR) leva a doenças graves e internações prolongadas, aumento dos custos de saúde e falhas no tratamento (Shrestha *et al.*, 2018; Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças, ECDC 2019; Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, CDC, 2019).

Durante a última década, a resistência antimicrobiana (RAM) tornou-se uma das principais preocupações de saúde pública no mundo devido ao surgimento de patógenos que apresentam novos mecanismos de resistência. A RAM é uma crise crescente que afeta a saúde global e exige ações urgentes (OMS, 2018).

Dentre os mecanismos de resistência nas bactérias, destacam-se a reduzida permeabilidade da membrana externa bacteriana, perda de porinas, alteração nos sítios de ligação dos antibióticos, hiperexpressão de bombas de efluxo e produção de Betalactamases. No entanto, o mecanismo que mais contribui para a rápida disseminação de cepas multirresistentes dentro de ambientes hospitalares é a aquisição de genes de resistência e produção de enzimas Betalactamases, as quais se propagam principalmente por plasmídeos, transposons ou integrons, e do elemento de inserção ISAbal1 localizado entre os genes de resistência como *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24} e *bla*_{AmpC} que têm sido associados a um aumento na resistência aos carbapenêmicos (Martins *et al.*, 2013).

O grupo dos Betalactâmicos inclui os antimicrobianos pertencentes às subclasses: penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, monobactam e os inibidores de betalactamases. Essa denominação é uma referência a presença de um anel beta-lactâmico na molécula desses fármacos, que confere a atividade bactericida. As betalactamases agem degradando o anel β -lactâmico desses antibióticos, o que neutraliza sua atividade bactericida, uma vez que esse

anel é o princípio ativo da molécula que se liga às Proteínas Ligadoras de Penicilina (PBP) (Faria, *et al.*, 2022).

A coexistência de vários genes de resistência é notadamente observada em isolados Gram-negativos, como MBL (*Metallo- β -lactamases*) do tipo NDM-1 e ESBL (*β -lactamases Extended Spectrum*) como CTX-M em *Klebsiella pneumoniae* e KPC em enterobactérias. A produção dessas enzimas (ESBL e MBL) em conjunto permite que as bactérias resistam a diversos antibióticos, incluindo os carbapenêmicos, e é a principal causa de falha do tratamento (Lincopan *et al.*, 2005).

Considerando os principais patógenos associados às infecções nosocomiais, destacam-se as bactérias, principalmente os bacilos Gram-negativos (BGN) fermentadores, do grupo das enterobactérias, como *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. e bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGN-NF), principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Stenotrophomonas* spp. (Exner *et al.*, 2017).

No Brasil, segundo o Boletim Informativo de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 20 de dezembro de 2018 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e publicado em janeiro de 2020, os bacilos gram-negativos, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes a carbapenêmicos, *S. maltophilia* resistente a fluoroquinolonas, *E. coli* resistente aos carbapenêmicos e cefalosporinas da 3ª geração, e *K. pneumoniae* sensível aos carbapenêmicos e resistente às cefalosporinas de 3ª geração, estão entre os cinco principais microrganismos associados às infecções de corrente sanguínea em pacientes hospitalizados (Brasil, 2020).

O Hospital Regional do Norte (HRN) é o maior hospital do interior da Região Nordeste, com mais de 54 mil m² quadrados de área construída, sendo responsável por atender uma população estimada em 1,6 milhão de pessoas, dos 55 municípios integrantes da macrorregião Norte do Estado. Terciário (atende casos de média e alta complexidade), conta com atendimento 24h em urgência e emergência. É referência em pediatria, cirurgias torácicas, cirurgias vasculares e otorrinolaringologia. Tem como missão prover a assistência, ensino e pesquisa através do cuidado excelente, inovador, integrado à Rede de Saúde do Estado do Ceará (<https://isgh.org.br/hospital-regional-norte>). Em 2020 e 2021 foi referência como hospital de campanha na pandemia de COVID-19, na Região Norte do Ceará.

Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e detectar a presença de genes de resistência em bactérias gram-negativas isoladas de pacientes com diagnóstico de COVID-19 assistidos em um hospital terciário da Região Norte do Ceará.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Coronavírus-19 (COVID-19)

A emergente síndrome respiratória aguda causada pelo SARS-CoV-2 resultou em um efeito devastador em todo o mundo, tornando-se um dos grandes desafios do século XXI para a humanidade. Atualmente, acomete mais de 188 países e territórios nos cinco continentes. Seus impactos ainda são inestimáveis, mas afetam direta e/ou indiretamente a saúde e a economia da população mundial (OMS, 2022). No Brasil, o primeiro relato ocorreu em 26 de fevereiro de 2020, após a confirmação de que um homem de 61 anos de São Paulo que retornou da Itália testou positivo para o SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, com a primeira morte anunciada em 17 de março do mesmo ano (Brasil *et al.*, 2021).

O Coronavírus 2 é o sétimo coronavírus humano, foi descoberto em Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China durante a recente epidemia de pneumonia em janeiro de 2020 (Zhou *et al.* 2019). SARS-CoV-2, bem como o SARS-CoV e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) causam pneumonia grave com uma taxa de mortalidade de 2,9%, 9,6% e ~36%, respectivamente (Wang *et al.*, 2020; Hui, *et al.*, 2019). Os outros quatro coronavírus humanos, OC43, NL63, HKU1 e 229E, geralmente causam doença autolimitada com sintomas leves (Corman *et al.*, 2018).

Os coronavírus estão por toda parte. Eles são a segunda principal causa de resfriado comum (após rinovírus) e, até as últimas décadas, raramente causavam doenças mais graves em humanos do que o resfriado comum. Assim como outros vírus respiratórios, a transmissão do SARS-CoV-2 ocorre com alta eficácia e infectividade principalmente pela via respiratória. A transmissão por gotículas é a principal via reconhecida, embora os aerossóis possam representar outra via importante (Leung *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2020). O RNA do SARS-CoV-2 também foi detectado em superfícies inanimadas, como maçanetas de portas e na superfície de telefones celulares em locais residenciais de pacientes com COVID-19 confirmado. Assim, indivíduos que entraram em contato com superfícies infectadas podem ser infectados se tocarem seus olhos, boca ou nariz (Han, *et al.*, 2020).

Com base em uma distribuição Weibull, estimou-se que o período médio de incubação é de 6,4 dias (intervalo de confiança de 95% (IC): 5,6–7,7), com um intervalo de 2,1–11,1 dias (percentil 2,5–97,5) (Backer, *et al.*, 2020). Estimativas semelhantes foram feitas por outros autores. Em um estudo de Lauer *et al.* 2019, estimou-se que o período médio de incubação foi de 5,1 dias (IC 95%, 4,5-5,8 dias), e que 97,5% dos indivíduos infectados desenvolveriam sintomas dentro de 11,5 dias (IC, 8,2-15,6 dias) após a infecção. Portanto, o

período de 14 dias de monitoramento ativo recomendado pelas autoridades de saúde é justificado pelas evidências, segundo o Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC, 2020).

O SARS-Cov-2 é um vírus de RNA, membro da família Coronaviridae da ordem *Nidovirales*, que causa manifestações clínicas em um amplo espectro, geralmente resulta em febre, tosse e dispneia. Os pacientes com comorbidades evoluem com pneumonia intersticial e desenvolvimento rápido de insuficiência respiratória aguda, choque séptico, coagulação intravascular disseminada (CIVD), disfunção hepática e renal, sendo altamente letal neste estágio da doença. Ao ser infectado, as partículas virais entram nos pneumatócitos via receptores da enzima conversora de angiotensina II (ACE2), sendo reconhecidas pelos macrófagos alveolares e células dendríticas, e desenvolvem uma resposta imune mediada por células T CD4, ativando plasmócitos que geram uma disfunção imune e uma tempestade de citocinas, que leva a dano tecidual (Raoult *et al.*, 2020; Raoult *et al.*, 2020). O diagnóstico laboratorial da COVID-19 é baseado principalmente na detecção de anticorpos IgM e IgG contra o Coronavírus através de teste rápido; e a confirmação da infecção é realizada por meio das técnicas de RT-PCR em tempo real e sequenciamento parcial ou total do genoma viral (Yi *et al.*, 2020).

2.2 Coinfecção e COVID-19

Sabidamente infecções virais podem estar associadas a infecções bacterianas de forma concomitante. A coinfecção bacteriana pode desempenhar um papel importante no aumento da taxa de morbidade e mortalidade durante surtos e pandemias virais anteriores. A maioria das mortes de pacientes durante a pandemia de influenza de 1918-1919 estava relacionada com patógenos bacterianos e não ao próprio vírus. Durante as pandemias de H1N1, vários estudos registraram a alta prevalência de coinfecção secundária e bacteriana (Morens *et al.*, 2020).

Para Lansbury *et al.* (2020) a coinfecção do SARS-CoV-2 com outros microrganismos, como vírus, bactérias e fungos, é um fator importante na COVID-19, e pode aumentar as dificuldades de diagnóstico, tratamento, prognóstico da doença e até mesmo sintomas e mortalidade. Atualmente muitas investigações indicam a forte relação entre outros vírus, bactérias, fungos com SARS-CoV-2 (Shen *et al.*, 2020). A infecção secundária pode inibir significativamente o sistema imunológico do hospedeiro, aumentando assim a intolerância à terapia antibacteriana, sendo prejudicial para o prognóstico da doença (Ramadan *et al.*, 2020).

Netea *et al.* (2020) descobriram que na maioria dos indivíduos, a infecção por

SARS-CoV-2 é leve, enquanto a coinfeção pode aumentar a suscetibilidade dos pacientes a doenças graves, afetando a função imunológica do corpo. Wang (2020) relatou coinfeções de SARS-CoV-2 na China onde acrescentou detalhes sobre infecções combinadas de bactérias e fungos. No entanto, os tipos de patógenos co-infectados e a proporção de coinfeção em pacientes com SARS-CoV-2-positivos não são claros.

Considerando dados anteriores de outras doenças virais respiratórias, como síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-1), síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), alguns autores apontaram que pacientes com COVID-19 também podem ser mais suscetíveis à coinfeção (Lansbury *et al.*, 2020). Rawson *et al.* (2020), realizaram uma revisão sistemática e encontraram uma prevalência de 8% de coinfeções bacterianas ou fúngicas em pacientes diagnosticados com COVID-19. Os autores destacam que esse número é menor do que o encontrado em estudos com outros coronavírus: para o SARS-CoV-1, a prevalência de coinfeções foi de 31% e para outros coronavírus, de 13%.

Garazzino *et al.* (2020) citam que atualmente, dados clínicos mostram que a taxa de coinfeção bacteriana ou fúngica de pacientes infectados por SARS-CoV-2 é menor do que de outras infecções pelo vírus influenza. Isso pode ser devido aos relativamente poucos relatórios clínicos relevantes e ao uso extensivo de antibióticos no diagnóstico precoce da infecção da infecção por SARS-CoV-2. No entanto, é certo que a taxa de coinfeção bacteriana com SARS-CoV-2 é proporcional à gravidade da doença e essa coinfeção pode aumentar a mortalidade (Bengoechea; Bamford, 2020).

Muitos estudos de pacientes hospitalizados com COVID-19 observam o uso empírico de antibióticos na maioria dos pacientes (Wu *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Du *et al.*, 2020). As diretrizes nacionais e internacionais da COVID-19 variam em suas recomendações sobre terapia antimicrobiana empírica – algumas recomendam terapia antimicrobiana empírica na doença grave (OMS, 2021; Alhazzani *et al.*, 2020), enquanto outras não (Diretrizes de tratamento da Doença Coronavírus-2019, 2020). A OMS (2020) desaconselha a terapia empírica, sem evidências específicas de infecção bacteriana em pacientes com COVID-19, indicando sua prescrição somente em casos graves da doença.

Em um estudo prospectivo multicêntrico realizado em pacientes internados com COVID-19 realizado por Ramadan *et al.* (2020), cerca de 10,7% dos pacientes com COVID-19 apresentaram infecções bacterianas e/ou fúngicas. *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *Staphylococcus aureus* foram as bactérias isoladas predominantes, enquanto entre os fungos, *Candida albicans* e *Candida glabrata* foram predominantes. Os isolados Gram-negativos eram multirresistentes e carregavam diferentes genes associados à resistência, incluindo NDM-1, KPC, TEM, CTX-M e SHV.

Pacientes mais graves, estão mais propensos a receber tratamento com cateteres invasivos, resultando em maior sensibilidade a infecções secundárias com patógenos multirresistentes, como *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Enterococcus* spp. (Rawson *et al.*, 2020).

2.3 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)

A Organização Mundial da Saúde define infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS) como “infecção que ocorre em um paciente durante o processo de atendimento em um hospital ou outro estabelecimento de saúde, que estava presente ou incubado no momento da admissão” (OMS, 2011). Para o Ministério da Saúde (1998), também são consideradas infecções hospitalares as que se manifestam antes de 72 horas da internação, quando associadas a procedimentos diagnósticos e ou terapêuticos realizados durante este período. As infecções no recém-nascido são hospitalares, exceto as transmitidas de forma transplacentária e as associadas à bolsa rota superior a 24 horas (Brasil, 1998). As IRAS são uma ameaça global a segurança dos pacientes. Estão entre os eventos adversos mais comuns no atendimento ao paciente e são responsáveis por morbidade e mortalidade substanciais (Kritsotakis *et al.*, 2017; Koch *et al.*, 2015; OMS, 2011).

Infecção nosocomial é um problema grave em hospitais em todo o mundo e sua prevalência é duas a três vezes maior nos países em desenvolvimento em relação à Europa ou aos Estados Unidos da América. A incidência é particularmente elevada em unidades de terapia intensiva (UTI) em comparação com outros setores hospitalares (Naidu *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2016).

As taxas de infecção hospitalar em hospitais de ensino frequentemente são maiores do que em outros equipamentos de saúde, ressalta-se ainda que infecções hospitalares causadas por bactérias multirresistentes estão associadas com aumento dos custos de internação, hospitalização prolongada e, principalmente, aumento das taxas de morbidade e mortalidade (Jia *et al.*, 2015).

Os principais microrganismos envolvidos nas IRAS são: *E. coli*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Candida* spp., *Enterobacter* spp., e *Proteus* spp. (ECDC 2020; CDC, 2019). Muitos desses microrganismos são multidroga resistentes (MDR) (Cristina *et al.*, 2018; Spagnolo, *et al.*, 2014).

Pacientes hospitalizados com COVID-19 também estão em risco de adquirir infecções relacionadas à assistência à saúde. Garcia *et al.* (2021) relataram sua experiência de

coinfecção e superinfecção em pacientes hospitalizados com COVID-19, sendo que a infecção hospitalar ocorria na maioria dos casos em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Enquanto, pneumonia associada à ventilação mecânica, pneumonia adquirida no hospital e bacteremia eram as infecções comuns entre esses pacientes com predomínio de organismos nosocomiais habituais, como *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *S. aureus*.

2.4 Principais Patógenos de Importância em IRAS

2.4.1 *Acinetobacter baumannii*

O gênero *Acinetobacter* é um grupo grande e diversificado de bactérias bioquímicas, fisiológicas e naturalmente polivalentes. *Acinetobacter* spp., um gênero de cocobacilos ubíquos, é caracterizado como bactérias gram-negativas não fermentativas, não móveis, catalase-positivas, oxidase-negativas e não fermentadoras de glicose (Lee *et al.*, 2017; Lin *et al.*, 2014). Este gênero compreende 26 espécies nomeadas e nove espécies genômicas. Dentre as principais espécies, *A. baumannii* é a mais prevalente clinicamente (Vieira; Picoli, 2015).

Acinetobacter baumannii é um aeróbio obrigatório gram-negativo, e uma das causas mais prevalentes de infecções nosocomiais. Sua crescente resistência às terapias antimicrobianas primárias criou uma combinação mortal de patogenicidade e resistência antimicrobiana que assola os hospitais (Martin; Aspas *et al.*, 2018). Classificado como um patógeno ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), *A. baumannii* resistente a carbapenêmico é considerado o patógeno de prioridade crítica número um da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o qual novas terapêuticas são urgentemente necessárias (Shlaes; Bradford, 2018).

Fatores de risco associados a infecções por *A. baumannii* incluem internações hospitalares prolongadas, imunossupressão, idade avançada, presença de doenças comórbidas, grandes traumas ou queimaduras, uso prévio de antibióticos, procedimentos invasivos, presença de cateteres de demora ou ventilação mecânica, residência em asilo e colonização prévia com *A. baumannii* (Zhou *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2017). *A. baumannii* resistente a drogas e seus padrões de sensibilidade tornaram as decisões empíricas e terapêuticas ainda mais complexas. Altas taxas de resistência antimicrobiana são observadas na Europa Oriental e Meridional, América Latina e muitos países asiáticos. Este patógeno apresenta resistência intrínseca a diferentes classes de antibióticos, principalmente resistência aos carbapenêmicos, o que é uma preocupação mundial porque esse tipo de antimicrobiano é uma das últimas opções terapêuticas usada para tratar infecções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes (Wong *et*

al., 2017).

A coinfeção com *A. baumannii* secundária a infecções por SARS-CoV-2 foi relatada várias vezes na literatura durante a pandemia de COVID-19, incluindo Wuhan (China), França, Espanha, Irã, Egito, Nova York (EUA), Itália e Brasil. No entanto, não há dados definitivos sobre o papel do *A. baumannii* na COVID-19 (Rangel *et al.*, 2021).

2.4.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae é um bacilo Gram-negativo, encapsulado, em forma de bastonete, não esporulado, anaeróbio facultativo com melhor crescimento em condições aeróbias. Seu tamanho varia de 0,3 a 1,0 µm de diâmetro e 0,6 a 6,0 µm de comprimento, sendo imóvel. São H₂S negativo, fenilalanina negativo, indol negativo, motilidade negativa, citrato positivo, urease positivo, lisina positivo, lactose positivo e formação de gás positivo (Brooks *et al.*, 2012; Levy, 2004).

O gênero *Klebsiella* faz parte da família Enterobacteriaceae. É uma classe de bactéria encontrada ubiquamente na superfície da mucosa em animais ou no ambiente (como água, solo etc.). Em humanos, concentra-se no trato gastrointestinal e algumas poucas na nasofaringe, por onde a bactéria pode entrar na circulação sanguínea ou em outros tecidos e causar infecção (Wang *et al.*, 2020). Possui muitos genomas acessórios de plasmídeos e loci de genes cromossômicos. De acordo com o genoma acessório, as cepas de *K. pneumoniae* são divididas em três tipos: oportunistas, hipervirulentas e multirresistentes (MDR). Recentemente, a maioria das infecções de *K. pneumoniae* foi causada pelas cepas clássicas de *K. pneumoniae* (*cKp*) que permaneceram nos hospitais, e então causaram infecção em pacientes debilitados (Martin *et al.*, 2018).

Muitas das infecções por *K. pneumoniae* em todo o mundo são infecções oportunistas associadas a IRAS, às vezes chamadas de infecções por *K. pneumoniae* 'clássicas'. A bactéria pode residir no trato gastrointestinal como componente fisiológico da microbiota intestinal, na pele e na cavidade oral. Infelizmente, em pacientes imunocomprometidos, pode causar infecções graves, incluindo infecções do trato urinário, infecções respiratórias, infecções de tecidos moles, peritonite e sepse (Podschun; Ullmann, 2018). A cápsula, os lipopolissacarídeos (LPS) e os receptores proteicos da parede celular são responsáveis pela patogenicidade da *K. pneumoniae*. Esses fatores determinam o processo de ligação às células hospedeiras e fornecem proteção contra a resposta do sistema imunológico humano (Yuling *et al.*, 2014; Czekaj *et al.*, 2015). Recentemente, essas bactérias têm demonstrado cada vez mais resistência aos carbapenêmicos, que têm sido usados como drogas de último recurso (DoLR) no curso de

infecções graves causadas por bacilos gram-negativos (Kotb *et al.*, 2020). Para Arcari *et al.* (2021) espécies de *Klebsiella* multirresistentes permanecem como um patógeno comum em pacientes gravemente enfermos com COVID-19.

2.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, em forma de bacilo (tamanho de 0,5 a 3,0 µm), com metabolismo aeróbico e um único flagelo que auxilia na locomoção. É uma bactéria não fermentativa que, em situações aeróbicas, utiliza a via glicolítica para degradação da glicose, tendo o oxigênio como seu aceptor final de elétrons (Palleroni *et al.*, 2010). No entanto, sob condições anaeróbicas, o nitrogênio pode ser usado como um aceptor de elétrons. É uma bactéria adaptável a diferentes ambientes e metabolicamente versátil, abrangendo uma grande variedade de habitats, incluindo o corpo humano, solo, água, ambiente hospitalar, drenos, mas também outros locais ricos em água (piscinas), bem como ambientes não domésticos (como a água do rio), e também podem ser isolados de vegetais (Crone *et al.*, 2020).

Uma característica clínica crítica de *P. aeruginosa* é sua capacidade de interagir e coexistir com outros microrganismos em comunidades multi espécies. Do ponto de vista clínico, essas interações geralmente são prejudiciais ao paciente, pois infecções causadas por múltiplas espécies estão frequentemente associadas a pior prognóstico (Peters, 2012). Devido ao desafio clínico dos biofilmes de *P. aeruginosa* e às infecções recalcitrantes que eles causam, a ciência avançou no desenvolvimento de estratégias antimicrobianas eficientes e alternativas para erradicar biofilmes de *P. aeruginosa* (Guillon *et al.*, 2018; Mwangi *et al.*, 2019; Ibaraki *et al.*, 2020).

Pseudomonas. aeruginosa vive como um organismo comensal e ambiental, mas pode ocasionalmente mudar para um estado patogênico, causando infecções de difícil tratamento (Palmer *et al.*, 2015). É a principal causa de infecções, como pneumonia associada à ventilação mecânica, trato urinário, corrente sanguínea e infecções crônicas (Parkins *et al.*, 2018).

Segundo Cabassi *et al.* (2017), *P. aeruginosa* apresenta uma resistência natural a muitas classes de antibióticos e sua capacidade de desenvolver rapidamente novos mecanismos de resistência durante o tratamento representa uma das razões mais comuns para falhas terapêuticas. Essa bactéria é uma das seis patogênicas “ESKAPE” pertencentes à lista de “patógenos prioritários” da Organização Mundial da Saúde de resistência a antibióticos (OMS, 2020). A taxa de resistência de *P. aeruginosa* a antibióticos está aumentando em todo o mundo

e por isso é necessário aumentar o monitoramento de infecções em animais e humanos para minimizar possíveis transferências entre hospedeiros (Haenni *et al.*, 2015).

Pseudomonas aeruginosa é um patógeno oportunista formador de biofilme que causa infecções crônicas em pacientes imunocomprometidos e leva a uma alta taxa de mortalidade. É identificado como um patógeno co-infectante comum em pacientes com COVID-19, causando exacerbação da doença (Gellatly e Hancock, 2020). Embora a coinfeção por *P. aeruginosa* tenha sido relatada, sua modificação adaptativa para colonização e invasão prolongada em pacientes com COVID-19 ainda não está clara.

2.4.4 *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia, anteriormente conhecido como *Bacterium bookeri*, foi isolado pela primeira vez em 1943 e posteriormente classificado como membro do gênero *Pseudomonas* em 1961 e depois *Xanthomonas* em 1983, finalmente chegando à denominação de *Stenotrophomonas* em 1993 (Denton; Kerr, 1998; Gilligan *et al.*, 2003). O gênero *Stenotrophomonas* atualmente consiste de quatro espécies, das quais apenas uma, *S. maltophilia*, é conhecida por causar infecção em seres humanos (Coenye *et al.*, 2008).

Stenotrophomonas maltophilia é um bastonete Gram-negativo não fermentador que é ubíquo na natureza (ocorrendo predominantemente em ambientes aquáticos e em plantas). Bioquimicamente, é catalase positivo e oxidase negativo, e produz ácido a partir da maltose (daí o nome “*maltophilia*”) (Adegoke *et al.*, 2017). É considerado um MDRO gram-negativo emergente global ambiental que é mais comumente associado a infecções respiratórias em humanos, podendo causar várias infecções graves, no entanto, apresenta baixa virulência e invasividade limitada (Brooke, 2014). Esse patógeno é frequentemente responsável por surtos nosocomiais, principalmente em unidades de terapia intensiva (UTI) (Looney 2005; Rajkumari *et al.*, 2017).

Para Gil-Gil *et al.* 2020, *S. maltophilia* é um protótipo de bactéria intrinsecamente resistente a antibióticos. A reduzida sensibilidade desse microrganismo aos antimicrobianos depende principalmente da presença em seu cromossomo de genes que codificam bombas de efluxo e enzimas inativadoras de antibióticos, razão importante para a baixa suscetibilidade a antibióticos desta espécie bacteriana.

As infecções por *S. maltophilia* em indivíduos gravemente imunocomprometidos e debilitados estão associadas a alta morbidade e mortalidade, com taxas de mortalidade geral variando de 21% a 69% (Paez *et al.*, 2008; Hashimoto *et al.*, 2020). A admissão na unidade de terapia intensiva e o atraso no tratamento efetivo são fatores de risco independentes para

mortalidade (Kwa *et al.*, 2013).

A incidência de infecções oportunistas como *S. maltophilia* pode ter aumentado durante a pandemia da doença de coronavírus 2019 (COVID-19) devido ao aumento do número de internações prolongadas em unidades de terapia intensiva para oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) e ventilação (Kuwahara *et al.*, 2022).

2.5 Resistência Antimicrobiana (RAM)

A resistência antimicrobiana é considerada uma ameaça significativa aos sistemas de saúde pública não apenas nos países em desenvolvimento, mas em todo o mundo (Fornou *et al.*, 2017; Prestinaci *et al.*, 2016). Ocorre quando microrganismos, incluindo bactérias, vírus, fungos e parasitas, se tornam capazes de se adaptar e crescer na presença de medicamentos que antes os impactavam (CDC, 2019). A infecção por microrganismos MDR leva a doenças graves e internações prolongadas, aumento dos custos de saúde e falhas no tratamento (Shrestha *et al.*, 2018; ECDC, 2019; CDC, 2019).

A resistência de bactérias aos antibióticos e outras drogas antimicrobianas é um fenômeno natural e de pressão seletiva, mas que devido ao seu uso indiscriminado e recorrente, tornou-se um problema de saúde pública (Oliveira, 2016).

O aparecimento de episódios de microrganismos multirresistentes passou a oferecer risco à saúde dos indivíduos, pois essas infecções não controladas no ambiente hospitalar podem prolongar o período de hospitalização dos pacientes dificultando o estado clínico e sua devida recuperação (Alvarez *et al.*, 2004).

De acordo com a OMS (2018), a RAM está entre as dez principais ameaças à saúde global. O uso indevido e excessivo de diferentes agentes antibacterianos no ambiente de saúde, bem como na indústria agrícola, é considerado a principal razão por trás do surgimento da resistência antimicrobiana. A evolução espontânea, a mutação de bactérias e a passagem dos genes de resistência através da transferência horizontal de genes são contribuintes significativos para a resistência antimicrobiana (Aghapour *et al.*, 2019).

Além disso, as bactérias gram-negativas multirresistentes (MDR-GNB) tornaram o tratamento de diferentes infecções, como pneumonia e infecções do trato urinário, mais desafiadoras (Russo *et al.*, 2021; Annavajhala *et al.*, 2019). Para Boolchandani *et al.* (2019) monitorar e compreender a prevalência, os mecanismos e a disseminação da RAM são prioridades tanto para o atendimento individual ao paciente quanto para as estratégias globais de controle de infecção.

O impacto da COVID-19 na RAM deve ser cuidadosamente

considerado. Preocupações com o aumento do uso de antimicrobianos e superlotação de hospitais, e redução das oportunidades de isolar pacientes com organismos multirresistentes podem ter um impacto negativo na RAM (Rawson *et al.*, 2020). Um grande número de estudos mostrou que, durante a pandemia de COVID-19, as prescrições de antibióticos foram extensas e excessivas durante o tratamento, e para 90% dos pacientes foram prescritos antibióticos empíricos (Lai *et al.*, 2020). A justificativa para a prescrição de antibióticos em pacientes com COVID-19 pode ser devido à experiência anterior com aumento da mortalidade em pacientes devido à superinfecção bacteriana na gripe, onde muitos estudos demonstraram coinfeção inicial ou pneumonia bacteriana secundária em pacientes hospitalizados (Klein *et al.*, 2020). No entanto, as taxas de coinfeção bacteriana aumentam em pacientes internados em unidades de terapia intensiva e essas doenças podem ser decorrentes de superinfecções por bactérias nosocomiais resistentes a antibióticos (Jia *et al.*, 2015).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2020), apenas 15% dos infectados pelo SARS-CoV-2 desenvolvem coinfeção bacteriana que justificaria o uso de antibioticoterapia. Outros estudos afirmam que os antibióticos foram prescritos em cerca de 59% dos casos de internação por COVID-19, independentemente da presença de infecção bacteriana, o que, mediante a capacidade de adaptação e produção de mecanismos de resistência destes microrganismos, embasa a preocupação dos profissionais de saúde quanto ao aumento da ameaça de uma nova pandemia, desta vez causada por bactérias pan-resistentes, ou seja, resistentes a todas as classes de antimicrobianos disponíveis no mercado (Wei *et al.*, 2020).

Para Ardal *et al.* (2020) o tratamento empírico deve ser recomendado com base nos sintomas clínicos dos pacientes com coronavírus, escolhendo o agente antibacteriano mais apropriado de acordo com as diretrizes locais e os modelos locais de sensibilidade aos medicamentos, tendo como base complementar achados laboratoriais e de imagem. Portanto, monitorar e compreender a prevalência, os mecanismos e a disseminação da RAM são prioridades tanto para o atendimento individual ao paciente quanto para as estratégias globais de controle de infecção.

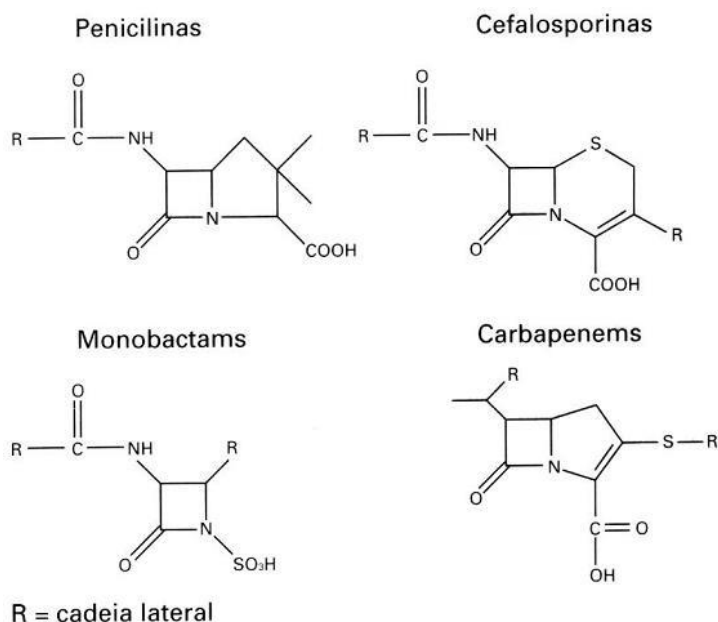
2.6 Antibióticos Betalactâmicos

Betalactâmicos é uma das classes de medicamentos antibacterianos mais relevantes em todo o mundo. A descoberta e o mercado do primeiro antibiótico β -lactâmico (Penicilina G) é um marco simbólico da quimioterapia moderna. Desde então, vários outros antibióticos betalactâmicos foram introduzidos na terapia, revolucionando o tratamento de infecções bacterianas (Lima *et al.*, 2020).

São antimicrobianos que tem por característica um anel beta-lactâmico em sua estrutura básica. Esse anel tem como principal função inibir a formação da parede celular bacteriana, sendo o principal responsável pelo mecanismo de ação desses antibióticos. O anel betalactâmico é composto por três átomos de carbono e um de nitrogênio, mas para que tenha atividade ele deve estar ligado a um radical presente na estrutura química, geralmente outro anel (Arruda *et al.*, 2019). A associação deste anel com um radical específico (radicais do carbono 6 do anel β lactâmico) dá origem a diferentes grupos de antimicrobianos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenênicos) (Figura 1). Vale ressaltar que as diferentes cadeias laterais proporcionam diversos perfis farmacodinâmicos, distintos espectros de ação antibacteriana e diferentes níveis de resistência as β -lactamases (Caselli *et al.*, 2001; Suárez & Gudiol, 2009).

Os antimicrobianos β -lactâmicos interferem de modo específico na síntese dos peptidoglicanos, inibindo as transpeptidases (proteínas de ligação da penicilina [PBP]) que fazem a junção dos açúcares N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM), bloqueando a síntese de peptidoglicana que resulta na ativação de autolisinas que degradam a parede celular e causam a lise osmótica da célula (Chambers, 2010; Petri, 2006).

Figura 1. Estrutura química dos antibióticos betalactâmicos.



Fonte: Williams, 1999.

A resistência aos beta-lactâmicos tem sido descrita cada vez mais na literatura e demonstrada nos perfis de sensibilidade das unidades hospitalares. A resistência a esses

antimicrobianos é um fenômeno preocupante pelo crescimento presente nas unidades de saúde, fazendo-se necessário verificar os principais mecanismos de resistência, pois isso ajudará nas práticas clínicas, pois além da produção de beta-lactamases, há outros mecanismos como diminuição de penetração da droga, alteração do sítio alvo e dos mecanismos de bombeamento específicos (Eckburg *et al.*, 2019).

2.7 Betalactamases

As betalactamases podem ser encontradas extracelularmente em bactérias Gram-positivas, ou no espaço periplasmático em bactérias Gram-negativas. Os genes que codificam a produção dessas enzimas podem estar localizados no cromossomo bacteriano ou em plasmídeos (Bush, 1988).

A produção de betalactamases é o mecanismo de resistência mais comum aos antibióticos β -lactâmicos em bactérias Gram-negativas clinicamente importantes. Essas enzimas podem ser divididas com base em seu espectro hidrolítico em: betalactamases, betalactamases de espectro estendido (ESBL) e betalactamases que hidrolisam carbapenêmicos, também conhecidas como carbapenemases (Bush, Jacoby, 2010). Nas últimas oito décadas, as betalactamases entraram em foco como fatores de resistência a antibióticos. Para qualquer β -lactâmico atualmente disponível na clínica, existe uma betalactamase que pode inativá-lo (Oelschlaeger *et al.*, 2021).

2.7.1 Mecanismo de ação das betalactamases

A hidrólise do anel beta-lactâmico do núcleo estrutural das penicilinas - o ácido 6-aminopenicilâmico - provoca a formação do ácido penicilóico desprovido de atividade antimicrobiana. Conseqüentemente a quebra deste anel nas diversas penicilinas forma derivados do ácido penicilóico, igualmente inativos. De forma similar, ocorre com as cefalosporinas e carbapenêmicos (Tavares, 2001).

2.7.2 Classificação das betalactamases

A primeira β -lactamase foi descrita em 1940 por Abraham e Chain antes mesmo do uso da penicilina para o tratamento de infecções bacterianas (Bush, 1989). Desde então, inúmeras β -lactamases foram identificadas e vários esquemas de classificação foram propostos para agrupar estas enzimas de acordo com suas características bioquímicas e pela análise de

suas estruturas moleculares (Bush, 1989, 2001; Livermore, 1995).

Segundo Ambler (1980), as beta-lactamases foram divididas de acordo com suas estruturas primárias em quatro classes: A) Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), penicilinas e carbenicilinas; B) Metallo-beta-lactamases (MBL); C) Cefalosporinas cromossomais (AmpC); e D) Oxacilinas. As enzimas das classes A, C e D são serino- β -lactamases, pois requerem um resíduo de serina no sítio ativo da enzima para hidrolisarem seus substratos. Já as enzimas da classe B necessitam de um íon zinco (Zn) para hidrolisarem seus substratos e são denominadas metallo-beta-lactamases (MBL).

O esquema proposto por Bush-Jacoby-Medeiros baseia-se na preferência de substrato da enzima e na inativação por inibidores de β -lactamases. Nesta classificação, as ESBLs pertencem ao subgrupo 2be que inclui as enzimas que hidrolisam penicilinas e os oxymino-beta-lactâmicos tais como cefotaxima, ceftazidima e aztreonam a uma taxa geralmente >10% do que as benzilpenicilinas, além de inibição por ácido clavulânico (Bush, 1989; Bush, Jacoby & Medeiros, 1995; Bush & Jacoby, 2010).

2.7.3 Beta-lactamases de Espectro Estendido (ESBL)

Dentre as betalactamases, o grupo epidemiologicamente mais importante dessas enzimas é o das betalactamases de espectro estendido. O surgimento destas enzimas veio em resposta à introdução das cefalosporinas de terceira geração no início dos anos 1980, exemplificando a capacidade de adaptação apresentada por patógenos causadores de infecções hospitalares (Paterson, Bonomo, 2005).

As ESBLs são serina- β -lactamases, pertencentes à classificação molecular e estrutural de Ambler (1980) como classe A e ao grupo 2be na classificação de Bush-Jacoby (2010). Caracterizam-se bioquimicamente por sua capacidade de hidrolisar antibióticos β -lactâmicos de espectro expandido e inibição por inibidores de betalactamases, especificamente clavulanato (Bush; Jacoby, 2010). ESBLs foram encontrados em muitos gêneros de *Enterobacterales*, bem como em *P. aeruginosa*. Elas conferem resistência à maioria dos antibióticos β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas de espectro expandido e monobactâmicos, mas não a carbapenêmicos e cefamicinas (Castanheira *et al.*, 2021). Os genes que codificam as ESBLs são frequentemente encontrados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons e integrons junto com genes que codificam resistência aos aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprim (Paterson *et al.*, 2006; Silva; Lincopan, 2012). A maioria das ESBLs são derivadas das betalactamases de espectro limitado TEM-1, TEM-2 e SHV-1, através de mutações genéticas que alteram a sequência de aminoácidos que determinam o sítio ativo

dessas enzimas (Paterson *et al.*, 2006).

2.7.3.1 Família *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)

KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) é uma serina betalactamase, pertencente à classe A de Ambler e ao grupo 2f de Bush. Essa enzima tem a capacidade de hidrolisar a maioria dos betalactâmicos, principalmente os carbapenêmicos (Bush, 2010). As enzimas KPC são as carbapenemases mais frequentemente encontradas, principalmente entre enterobactérias (Peirano *et al.*, 2009). Essas enzimas eram pouco conhecidas durante os anos de 1980, porém tornaram-se uma das mais importantes carbapenemases desde a descoberta da primeira KPC em um isolado clínico de *K. pneumoniae* nos Estados Unidos em 1996 (Yigit *et al.*, 2001).

Klebsiella pneumoniae produz várias carbapenemases pertencentes às serinas β -lactamase K de classe A de Ambler. *Pneumoniae* carbapenemase (KPC) melato β -lactamase de classe B (MBL) da família IMP, VIM ou NDM e betalactamase semelhante a OXA-48 pertencentes à classe D (Bonomo *et al.*, 2018; Nordmann *et al.*, 2019).

O KPC1/2 foi inicialmente encontrado em uma cepa resistente a carbapenêmico na Carolina do Norte em 1996. Mais tarde, espalhou-se pela costa leste dos EUA e depois se disseminou em todo o mundo. Na Europa taxas particularmente altas de carbapenemases KPC foram relatadas na Polônia, Grécia, Itália e Israel (Nordmann *et al.*, 2019).

Na América do Sul, o primeiro relato de detecção de uma KPC (KPC-2) ocorreu em 2006, em dois espécimes de *K. pneumoniae* isolados em 2005 na Colômbia (Villegas *et al.*, 2007). No Brasil, supostamente, o primeiro relato de uma KPC (KPC2) também ocorreu em 2006, referente a espécimes de *K. pneumoniae* isolados a partir de quatro pacientes internados na UTI de um hospital da cidade de Recife, no Brasil (Monteiro *et al.*, 2009). Apenas um mês após, a detecção de KPC-2 também foi relatada em seis isolados de *K. pneumoniae* provenientes de dois hospitais no Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (Peirano *et al.*, 2009).

Atualmente, as bactérias produtoras de KPC são consideradas endêmicas nos Estados Unidos, Argentina, Brasil, Colômbia, China, Grécia, Israel, Itália, Polônia e Porto Rico. As enzimas do tipo KPC são frequentemente encontradas em *K. pneumoniae* associadas com infecções nosocomiais, tais como infecções do trato urinário, sepse, pneumonia e infecções intra-abdominais, porém não é comum sua ocorrência em infecções adquiridas na comunidade (Chen *et al.*, 2017).

2.7.4 Metalo- β -lactamases (MBL)

Metallo betalactamases pertencem a classe B de Ambler (1980) e 3 de Bush-Jacoby (2010). Conferem resistência a todos os β -lactâmicos, exceto ao aztreonam e não são inibidos pelos inibidores de betalactamases, e sim por agentes quelantes como EDTA e ácido mercaptopropiônico. As MBLs possuem uma forte atividade de carbapenemase e sua atividade contra os outros betalactâmicos varia entre os diferentes tipos de enzimas (Cornaglia *et al.*, 2011). Essas MBLs são geralmente codificadas por plasmídeos. Dentre as famílias mais comuns estão VIM, IMP, SPM e NDM. São detectadas principalmente em *P. aeruginosa*, porém, cada vez mais têm sido encontradas também em espécies de *Acinetobacter* e enterobactérias (Bălăsoiu *et al.*, 2014).

2.7.4.1 Família NDM-1

Nova Delhi metalo- β -lactamase-1 (NDM-1), um novo tipo de metalo-betalactamase, foi relatado pela primeira vez em *K. pneumoniae* e *E. coli* recuperados de um paciente sueco que foi previamente internado em um hospital em Nova Delhi na Índia (Yong *et al.*, 2009).

A enzima NDM-1 se propaga através de um plasmídeo que transporta o gene *bla*_{NDM-1}, em conjunto com outros genes resistentes ao macrolídeos, aminoglicosídeos, rifampicina, sulfametoxazol e aztreonam. Além disso, têm sido observadas infecções por patógenos resistentes à colistina, tornando-se panresistentes (Hong *et al.*, 2015).

Desde 2009, o surgimento e disseminação de isolados NDM-positivos foram relatados em quase todos os continentes, exceto na Antártida (Johnson *et al.*, 2013). O gene NDM (*bla*_{NDM}) foi identificado em várias Enterobacteriaceae e também em *Acinetobacter* e *Pseudomonas* spp. (Rolain *et al.*, 2010).

No Brasil, o primeiro relato da NDM-1 ocorreu em 2013, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, também em *Providencia rettgeri* (Carvalho-assef *et al.*, 2013). Desde a primeira descrição da NDM em Porto Alegre, a detecção dessa enzima no Brasil tem se tornado emergente, especialmente nas regiões Sul e Sudeste. Na cidade de São Paulo, a NDM foi primeiramente detectada em *P. rettgeri* mostrando a necessidade de medidas para a prevenção da disseminação de bactérias produtoras dessa enzima no Brasil (Carmo *et al.*, 2015).

2.7.5 Oxacilinasas

As oxacilinasas (OXAs) são enzimas que pertencem à classe D de Ambler e

apresentam o resíduo de aminoácido de serina no seu sítio ativo, inativam principalmente os antimicrobianos carbapenêmicos e algumas cefalosporinas, como a cefepima; no entanto, não há ação hidrolítica quando o substrato é a ceftazidima (Brown; Amyes, 2006). Uma característica marcante deste grupo de enzimas é o fato de serem fracamente inibidas pelo ácido clavulânico, mas fortemente inibidas *in vitro*, pelo cloreto de sódio (Poirel; Naas; Nordmann, 2010).

A identificação de um gene que codifica para as betalactamases de classe D foi relatada pela primeira vez em *A. baumannii* em 1955. Essa enzima, originalmente denominada ARI-1, foi identificada na Escócia e foi encontrada em um plasmídio sendo renomeada como OXA-23 após a sua caracterização genética e bioquímica (Peleg *et al.*, 2008; Abbott *et al.*, 2013). Um segundo grupo de betalactamases de classe D, que compreende OXA-24, OXA-25, OXA-26 e OXA-40, compartilham 63% e 60% de identidade aminoacídica com OXA-51/69 e OXA-23, respectivamente (Poirel; Nordmann, 2006).

2.7.5.1 *bla*_{OXA-48} e *bla*_{OXA-23}

As OXAs que são comumente produzidas por *Acinetobacter* sp., são codificadas por genes localizados em plasmídeos (Queenan; Bush, 2007). Essas enzimas também têm sido detectadas em *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *E. coli* (Thomson, 2010). Nas enterobactérias o tipo de enzima mais comumente encontrado é OXA-48 e ainda OXA-163 que têm sido identificadas em alguns países da América do Sul (Mathers *et al.*, 2015).

A prevalência de beta-lactamases OXA-48 é subestimada em todo o mundo. A primeira identificação de *Bla*_{OXA-48} foi num isolado de *K. pneumoniae* de um paciente com infecção do trato urinário e queimaduras na pele na Turquia em 2001. (Poirel *et al.* 2012). OXA-48 e suas variantes são relatadas em diversas espécies bacterianas incluindo *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp, *Kluyvera* spp., *P. rettgeri*, *Enterobacter* spp. e *Citrobacter freundii* (Rivera-Izquierdo *et al.*, 2021; Vatansever *et al.*, 2020). Cabe ressaltar que o tipo OXA-48 não é encontrado em bactérias não fermentadoras, portanto não está relacionada com as OXAs encontradas em *Acinetobacter* sp. (Tängdén; Giske, 2015).

O gene *Bla*_{OXA-23} foi identificado mundialmente em *A. baumannii* e *P. mirabilis* na França (Boo *et al.*, 2006). Ele codifica a carbapenemase OXA-23 (e diversas variantes menores dela) sendo difundido em isolados de *A. baumannii* comprometendo o tratamento com antibióticos carbapenêmicos. Em *A. baumannii* e outras espécies de *Acinetobacter*, OXA-23 é geralmente precedido por um IS, IS_{Aba 1}, que fornece o forte promotor necessário para que o gene confira resistência clinicamente relevantes (Steven; Ruth, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e detectar a presença de genes de resistência em bactérias gram-negativas isoladas de pacientes internados com diagnóstico de COVID-19 em um hospital terciário da Região Norte do Ceará.

3.2 Objetivos Específicos:






- Determinar a frequência de bactérias gram-negativas em pacientes com diagnóstico de COVID-19 assistidos no Hospital Regional Norte (HRN);
- Analisar o perfil de sensibilidade antimicrobiana dos bacilos gram-negativos isolados de pacientes com diagnóstico de COVID-19 assistidos no HRN;
- Verificar a associação dos bacilos gram-negativos isolados de pacientes com diagnóstico de COVID-19 com o setor de internação, sítio de origem, IRAS, óbito, perfil de resistência e frequência dos genes analisados;
- Investigar a presença dos genes de resistência *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-23}* e *bla_{OXA-48}* nos bacilos gram-negativos isolados de pacientes internados com diagnóstico de COVID-19 assistidos no HRN;
- Correlacionar a presença dos genes *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-23}* e *bla_{OXA-48}* com a resistência aos antimicrobianos testados.

4 ARTIGOS

4.1 Artigo de Revisão

Artigo submetido (Archives of Current Research International – Qualis B1)

Frequency of multidrug-resistant microorganisms associated with bacterial coinfections in hospitalized patients with COVID-19: A literature review

Maria Walcleanes Magalhães de Oliveira^I , Júlio César Sousa Prado^I , Martinair Santana da Silva^I , Maria Gleiciane de Queiroz Martins^{II} , Francisco Cesar Barroso Barbosa^{I*} 

^I Universidade Federal do Ceará (UFC), Sobral, CE, Brasil

^{II} Centro Universitário Uninta (UNINTA), Sobral, CE, Brasil

RESUMO

Pacientes com COVID-19 podem estar em risco de coinfeções bacterianas associadas, e o envolvimento de microrganismos multidroga resistentes (MDR) nesses casos pode levar a um aumento nas taxas de morbimortalidade. O objetivo deste estudo foi descrever a frequência dos principais microrganismos MRD associados às coinfeções bacterianas em pacientes hospitalizados com COVID-19. Para tanto, realizou-se uma busca nas bases de dados PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), no período de dezembro de 2019 a setembro de 2023, com as palavras-chave COVID-19, coinfeção e microrganismo multidroga resistente. Dos 535 artigos encontrados, apenas 14 foram selecionados. As bactérias Gram-negativas foram mais frequentes em coinfeções bacterianas em pacientes com COVID-19 (70%). Dentre essas, predominaram *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii*, com 85,71% e 78,57%, respectivamente. Entre as bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus* (71,42%) foi a mais comum. Entre os microrganismos MDR, as espécies prevalentes foram bacilos gram-negativos resistentes a carbapenêmicos (32%) e *S. aureus* resistentes à meticilina (85,7%). Além disso, foi observada maior frequência de microrganismos MDR em pacientes com COVID-19 em unidades de terapia intensiva (UTI). Assim, os achados do presente estudo indicam a necessidade de atenção às infecções causadas por microrganismos MDR em pacientes críticos com COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19; Coinfeção bacteriana; Microrganismos multi-resistentes.

ABSTRACT

Patients with COVID-19 may be at risk of associated bacterial co-infections, and the involvement of multidrug-resistant (MDR) microorganisms in these cases can lead to an increase in morbidity and mortality rates. The objective of this study was to describe the frequency of the main MDR microorganisms associated with bacterial co-infections in patients hospitalized with COVID-19. To this end, we carried out a search in the PubMed and Regional Portal of the Virtual Health Library (VHL) databases, from December 2019 to September 2023, with the keywords COVID-19, co-infection and multidrug-resistant microorganism. Of the 535 articles initially found, only 14 were selected. Gram-negative bacteria were most frequently involved in bacterial co-infections in patients with COVID-19 (70%). Among these, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* predominated, with 85.71% and 78.57%, respectively. Among gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* (71.42%) was the most common. Among MDR microorganisms, the prevalent species were carbapenem-resistant gram-negative bacilli (32%) and methicillin-resistant *S. aureus* (85.7%). Furthermore, a higher frequency of MDR microorganisms was observed in patients with COVID-19 in intensive care units (ICU). Thus, the findings of the present study indicate the need for attention to infections caused by multidrug-resistant microorganisms in critically ill patients with COVID-19.

Keywords: COVID-19; Bacterial co-infections; Resistance; Multi-resistant microorganisms.

1 INTRODUCTION

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a clinical condition caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), previously known as 2019-nCoV. Belonging to the Coronaviridae family, it is a zoonotic RNA virus that first emerged in late 2019 in Wuhan, China, with the hypothesis of bats and the Malayan pangolin as potential sources due to the genetic proximity between CoVs found in these animals and the current virus ⁽¹⁻³⁾. It primarily infects the respiratory system and is transmitted through respiratory droplets via close contact, leading to a spectrum of illness ranging from mild to critical conditions requiring specialized treatment in intensive care units⁽⁴⁾.

Reports of secondary infections associated with COVID-19 have become increasingly common. The presence of other microorganisms, such as bacteria, fungi, and viruses, is a critical factor that can complicate the diagnosis, prognosis and treatment of the disease, as well as exacerbate and increase morbidity and mortality ⁽⁵⁾. Coinfection is defined as the result of two or more infectious agents acting simultaneously ^(6,7). For cases of patients diagnosed with COVID-19 who have coinfections with other respiratory pathogens, the immediate administration of antibiotics in accordance with antimicrobial susceptibility reports, as well as strict infection control strategies, are essential to reduce severity, complications, mortality, and the nosocomial transmission facilitated by these superbugs ⁽⁸⁾.

The emergence of infections caused by multidrug-resistant microorganisms (MDRs) has become a health risk, since uncontrolled infections in the hospital setting can prolong patients' hospitalization period by complicating their clinical status and recovery ⁽⁹⁾.

The World Health Organization (WHO) defines healthcare-associated infection as "an infection occurring in a patient during the process of care in a hospital or other healthcare facility that was not present or incubating at the time of admission" ⁽¹⁰⁾. Nosocomial infections can also encompass those that manifest within 72 hours of admission when associated with diagnostic and therapeutic procedures performed during this period ⁽¹⁰⁾.

Nosocomial infection is an event detected based on clinical and laboratory data, with the time frame varying depending on the patient's care unit. In intensive care units (ICUs), for example, the timeframe extends up to 48 hours after discharge ⁽⁶⁾.

Over the last decade, antibiotic resistance has become one of the major global public health concerns due to the emergence of pathogens with new resistance mechanisms. Antimicrobial resistance is a growing crisis that affects global health and demands urgent action ⁽¹¹⁾. Multidrug-resistant bacteria are microorganisms that are not susceptible to at least one antibiotic from three or more classes of antibiotics. They usually arise due to improper use of

antimicrobials or their uncontrolled spread through contamination vectors, posing difficulties to clinical treatment ⁽¹²⁾.

Therefore, considering the relevance of multidrug-resistant bacteria in healthcare and aiming to highlight their role in the pandemic scenario, we aimed to describe the frequency of the main MDR microorganisms associated with bacterial coinfection in hospitalized patients with COVID-19, based on the literature from December 2019 to September 2023.

2 MATERIALS AND METHOD

This is an integrative literature review that utilized scientific literature to analyze the prevalence of multidrug-resistant microorganisms in hospitalized patients with COVID-19 during the period from December 2019 to September 2023. Its methodological structure consists of six vital phases, following the procedures described by Souza *et al.*⁽¹³⁾.

In the first phase, the guiding question used to steer the research was: "Which multidrug-resistant bacteria have been prevalent in hospitalized patients with COVID-19?"

In the second methodological phase, we conducted searches in the PubMed and Regional Portal of the Virtual Health Library (BVS) databases for scientific articles published between December 2019 and September 2023. The keywords used were: COVID-19, Bacterial Coinfection, and Multidrug-Resistant Microorganism. Boolean operators "*and*" and "*or*" were used as search tools, combining Health Sciences Descriptors (DeCS) in the regional BVS portal, resulting in: ("COVID-19") *and* ("coinfection") *and* ("bacteria or multiresistant") along with language filter (English) and publication year (2019 or 2023). The same combinations were used for MeSH (Medical Subject Headings) in PubMed searches, resulting in: ("COVID-19") AND ("coinfection") AND ("bacteria" OR "multidrug resistance"). The articles were directly related to the years 2019 to 2023, so no additional filters were necessary.

Each of the retrieved articles was analyzed according to the inclusion and exclusion criteria. Inclusion criteria were: the period between December 2019 and September 2023, studies investigating bacterial coinfection in hospitalized patients with COVID-19, studies reporting coinfection with multidrug-resistant bacteria, articles in English or Portuguese, and articles that addressed the guiding question. Exclusion criteria were: articles that did not address the research question, articles focused on coinfections with other specific microorganisms that were not bacteria, duplicates, literature reviews, and letters.

In the third phase, an adapted instrument from Souza *et al.* ⁽¹³⁾ was used for data

extraction and recording of selected articles. This instrument was structured with the following topics: article title, authors, year of publication, country, gender, age, department, material analyzed, prevalent bacteria, and sample size/outcome. An Excel spreadsheet was created for data storage and organization.

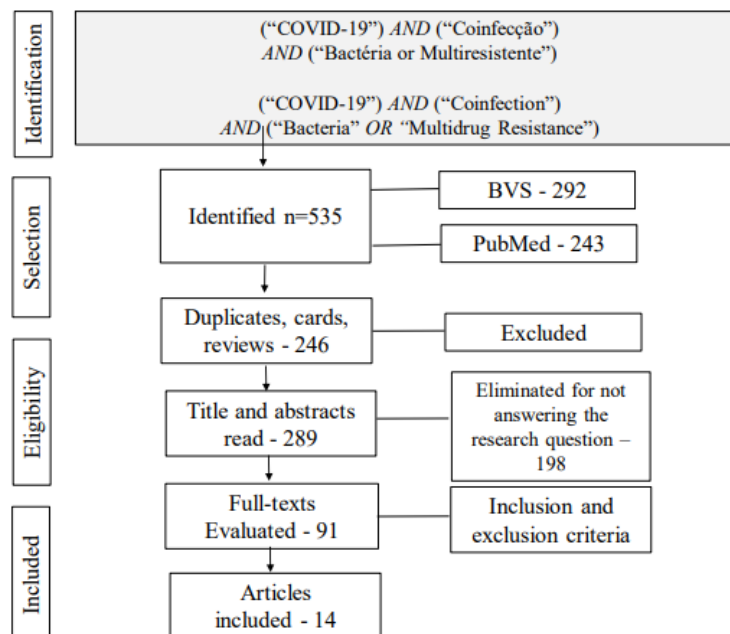
The fourth phase involved analysis of the selected articles. Titles and abstracts were read, and inclusion and exclusion criteria were applied to select the articles that were read in full.

The fifth phase involved the description and discussion of the results. Subsequently, in the sixth phase, the review was written.

3 RESULTS

Initially, 535 articles were found as result of the search in the databases using the associated descriptors and keywords. After analyzing the inclusion and exclusion criteria, 14 articles were chosen: 10 were identified in PubMed and 4 in the BVS Regional Portal (Figure 1). Of these, 37.71% (5/14) corresponded to the year 2023, and 37.71% (5/14) to 2022, with the remaining ones pertaining to 2021 and 2020. Additionally, 50% of the studies were conducted in Asia, followed by 29% in Europe, and the remainder in Africa.

Figure 1 - Flowchart of the search and selection procedure of the articles included in the sample.



Source: Authors, 2023.

Twelve studies had more male patients, while the majority were female in only one study ⁽¹⁴⁾,

and in another study the gender of the patients was not identified⁽²⁷⁾. The median age of the studied populations was similar, ranging from 50 to 70 years old. Regarding the ward where the patients were hospitalized, 71.42% were in intensive care units (ICUs)^(14,16,17,19-24,27). In all articles, the analyzed material was collected from electronic patient record management systems. Ten studies provided details about the types of clinical samples cultured, including sputum, blood and urine, while four study did not specify the source of the sample, indicating only "patient record analysis",^(16,17,19,22).

Regarding the occurrence of multidrug-resistant microorganisms (MDRs) in coinfections, gram-negative bacteria accounted for 70%. Among them, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* predominated with 85.71% and 78.57%, respectively. Among gram-positive bacteria (30%), *Staphylococcus aureus* was the most frequent at 71.42%⁽¹⁵⁻²⁶⁾. Among MDR microorganisms, the most frequently isolated species were carbapenem-resistant gram-negative bacilli (32%), followed by methicillin-resistant *S. aureus* (10%) among gram-positive bacteria.

The sample size varied from study to study, and the number of deaths was not reported in some articles. The most common comorbidities among the participants in the different studies were diabetes mellitus, systemic arterial hypertension, kidney disease, and respiratory diseases⁽¹⁴⁻²⁷⁾. Most patients received empirical antibiotic therapy upon admission to the ICU.

Table 1 presents a list of the selected articles from the databases, describing the article title, authors, year of publication, country, gender, age, hospital sector, material analyzed, prevalent bacteria, and sample size/outcome.

Table 1. Highlighted Results by Study for the Investigation of Bacterial Coinfections by MDR Microorganisms in Patients Diagnosed with COVID-19 Hospitalized in Healthcare Units.

Title	Author/Year of Publication/Country	Gender/age	Sector	Material Analyzed	Prevalent Bacteria	Total Patients/Outcome
Characteristics and Risk Factors of Secondary Bacterial Infections in Patients with COVID-19 ⁽¹⁴⁾	Wu <i>et al.</i> ; 2023; China.	51.2% were female; average age of 68 years.	ICU; others.	Blood, urine, and sputum cultures; data extracted from the electronic patient record management system.	<i>Acinetobacter baumannii</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Enterococcus faecium</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	43; not specified.
Bacterial Coinfection at Hospital Admission in Patients with COVID-19 ⁽¹⁵⁾	Moreno-García <i>et al.</i> ; 2022; Spain.	64.5% were male; average age of 54 years.	Not specified.	Blood cultures; urinary antigen test (pneumococcal); sputum culture; patient record data.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>E. coli</i>	122; not specified
Coinfection and Superinfection in Critically Ill ICU Patients with Severe Pneumonia due to COVID-19 and Influenza Pneumonia: Are the Profiles Different? ⁽¹⁶⁾	Chen <i>et al.</i> ; 2023; China.	80.5% were male; average age of 69 years.	ICU	Electronic patient record management system.	<i>P. aeruginosa</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>Enterococcus faecium</i>	27; not specified
Epidemiology of Bacterial Coinfections and Risk Factors in Patients Hospitalized for COVID-19 in Spain: A National Study ⁽¹⁷⁾	López <i>et al.</i> ; 2020; Spain.	66.55% were male; average age of 67 years.	ICU	Patient records.	<i>Pseudomonas</i> spp.; <i>S. pneumoniae</i> ; <i>Staphylococcus</i> spp.; <i>S. aureus</i> ; <i>Streptococcus</i> spp.; <i>Enterococcus</i> spp.	4,754; 1,590 deaths.
Incidence of Coinfections and Superinfections in Hospitalized Patients with COVID-19: A Retrospective Cohort Study ⁽¹⁸⁾	Garcia-Vidal <i>et al.</i> ; 2020; Spain.	55.8% were male; average age of 62 years.	Not specified.	Clinical samples of sputum, blood cultures, urine cultures, urinary antigen tests; data extracted from patient records.	<i>P. aeruginosa</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>S. pneumoniae</i>	61; 13 deaths.

Title	Author/Year of Publication/Country	Gender/age	Sector	Material Analyzed	Prevalent Bacteria	Total Patients/Outcome
Multidrug-Resistant Infections by <i>Acinetobacter baumannii</i> in COVID-19 Patients Hospitalized in ICU ⁽¹⁹⁾	Russo <i>et al.</i> ; 2022; Italy.	66% were male; average age of 62 years.	ICU	Patient records and in hospital computerized databases.	<i>Acinetobacter baumannii</i> multidroga resistente (MDR-AB).	32; 26 deaths.
Bacterial Infections Associated with COVID-19 in the Intensive Care Unit: A Case-Control Study ⁽²⁰⁾	Kaçmaz <i>et al.</i> ; 2023; Turkey.	60% were male; average age of 71 years.	ICU	Clinical samples detected by cultures and/or molecular tests in the first episode; data extracted from patient records.	<i>Staphylococcus spp.</i> ; <i>Acinetobacter spp.</i> ; <i>Klebsiella spp.</i> ; <i>P. aeruginosa</i>	67; 18 deaths.
Secondary Infections in Critically Ill Patients with COVID-19-Associated ARDS in the ICU: Frequency, Microbiological Characteristics, and Risk Factors ⁽²¹⁾	Taysi <i>et al.</i> ; 2023; Turkey	50.8% were male; average age of 70 years.	ICU	Clinical samples of sputum and tracheal aspirate; blood culture and urine culture; data extracted from patient records.	<i>Klebsiella spp.</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>Enterobacter aerogenes</i>	61; not specified.
The Impact of the COVID-19 Pandemic on Healthcare-Associated Infections: A University Hospital Experience ⁽²²⁾	Obeidat <i>et al.</i> ; 2023; Jordan.	82% were male, average age of 72 years.	ICU; others.	Patient records.	<i>A. baumannii</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	17; 15 deaths.
Profile of Coinfections and Secondary Infections in COVID-19 Patients at a COVID-19 Dedicated Facility in an Indian Tertiary Care Hospital: Implications for Antimicrobial Resistance ⁽²³⁾	Khurana <i>et al.</i> ; 2021; India.	62.5% were male (ICU); 63% were male (Wards); average age of 50 years.	ICU (n= 56); Wards (n= 95).	Clinical samples of blood, urine, respiratory samples, pus; patient records.	<i>K. pneumoniae</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>P. aeruginosa</i> .	151; 51 deaths.

Title	Author/Year of Publication/Country	Gender/age	Sector	Material Analyzed	Prevalent Bacteria	Total Patients/Outcome
Profiles of Bacterial Coinfection and Antibiotic Resistance among Hospitalized Patients with COVID-19 ⁽²⁴⁾	Bazaid <i>et al.</i> ; 2022; Saudi Arabia.	55% were male; average age 60 years.	ICU (n= 49); Wards (n= 24).	Clinical samples of blood, urine, sputum, and wound smears; patient records.	<i>K. pneumoniae</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>P. aeruginosa</i>	73; not specified.
Preditores de gravidade e perfil de resistência à infecção em pacientes com COVID-19: primeiro relatório do Alto Egito ⁽²⁵⁾	Radaman <i>et al.</i> ; 2020; Egypt.	55.4% were male; the most common age range was 51 to 70.	Not specified.	Blood samples, sputum, endotracheal aspirates; culture, genetic tests, antibiogram, and statistical analysis.	<i>K. pneumoniae</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>S. pneumoniae</i> ; <i>E. faecalis</i>	260; 24deaths.
Prevalence and Clinical Impact of Coinfection in Patients with Coronavirus Disease 2019 in Korea ⁽²⁶⁾	Jeong <i>et al.</i> ; 2022; South Korea.	51.4% were male; average age 70 years.	Not specified.	Clinical samples of sputum, nasal swab, and tracheal aspiration; patient records.	<i>A. baumannii</i> (CRAB); <i>P. aeruginosa</i> (CRPA); <i>S. aureus</i> (MRSA), <i>K. pneumoniae</i> ; <i>E. coli</i> . (produtoras de ESBL)	30; not specified.
A Comparative Study on Bacterial Coinfections and the Prevalence of Multidrug-Resistant Organisms among Patients in COVID and Non-COVID Intensive Care Units ⁽²⁷⁾	Sathyakamala <i>et al.</i> ; 2022; India.	Not specified.	ICU.	Clinical samples of blood, urine, and sputum; patient records.	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp.</i> ; <i>Acinetobacter spp.</i> ; <i>Citrobacter spp.</i> ; <i>Proteus spp.</i>	203; not specified.

Source: Authors, 2023.

4 DISCUSSION

Microbial coinfection plays a significant role in the occurrence and development of SARS-CoV-2 infection, increasing the challenges in diagnosing, treating, and predicting COVID-19, and even exacerbating the disease's symptoms and mortality⁽²⁸⁾.

In this study, the rate of bacterial coinfection ranged from 9.6% to 29.8%. Ripa *et al.*⁽²⁹⁾ found a coinfection rate of 9.3% in hospitalized COVID-19 patients. Yu *et al.*⁽³⁰⁾ investigated the rate of secondary infection in 226 critically ill COVID-19 patients, and found a coinfection rate of 21.7%. A meta-analysis conducted in 2020 concluded that 7% of patients had bacterial coinfection, a rate that increased to 14% for patients admitted to the ICU⁽³¹⁾. Huang *et al.*⁽³¹⁾ reported that four cases (9.8%) had secondary bacterial infections among 41 hospitalized COVID-19 patients. In the case of COVID-19 coinfections, the mechanisms leading to a low incidence are not well understood. Several hypotheses have been raised, including prophylactic antibiotic therapy upon hospital admission and the presence of an immune factor such as macrophage hyperactivation⁽³³⁾.

The results of this study showed that bacterial coinfections can affect the progression of COVID-19 and mortality, especially in patients in intensive care units (ICUs)^(14,16,17,19-24,27). Other studies have reported similar results, with only 7% of hospitalized patients presenting bacterial coinfections and a high degree of heterogeneity, increasing to 14% in ICU patients^(34,35).

According to Sharifipour *et al.*⁽³⁶⁾, the observed prevalence of bacterial coinfection among COVID-19 patients in ICUs can be attributed to various factors, including compromised immunity, low adherence to self-protection measures by healthcare professionals and patients, weak infection control in wards, high workload, and staff shortages.

Additionally, we observed that the majority of COVID-19 patients with coinfections were male, reaching up to 80% in some studies^(16,22). Studies suggest that most coinfections involve male patients, which is an additional independent risk factor in the more severe cases of this condition, in addition to the major comorbidities and the use of immunosuppressive medications that favor this outcome⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Regarding the prevalent microorganisms found in hospitalized COVID-19 patients in our study, gram-negative bacteria stood out (70%), among which *Klebsiella pneumoniae* (85.71%) and *Acinetobacter baumannii* (78.57%) predominated^(14-16,18-27). Among gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* had the highest frequency at 71.42%^(14-17,18,20-22,25,26),

followed by *Streptococcus pneumoniae* (35.71%)^(15,17,18,25). In line with these findings, Obeidat *et al.*⁽²²⁾ reported, in a study involving the distribution of reported microorganisms, that gram-negative and gram-positive bacteria were isolated in 72% and 8.5% of cases, respectively. This finding differed from a Chinese study, where gram-negative bacteria accounted for 87.5%, and gram-positive isolates were identified in 12.0% of cases⁽⁴⁰⁾.

A study conducted in Bahrain demonstrated the prevalence of gram-negative isolates in over 1,380 COVID-19 patients, distributed as follows: *Klebsiella pneumoniae* (23.8%), *Pseudomonas aeruginosa* (23.2%), *Acinetobacter baumannii* (22.0%), and *Escherichia coli* (17.1%)⁽⁴¹⁾. Furthermore, among 1,495 COVID-19 patients hospitalized in Wuhan with secondary bacterial infections, the most commonly isolated bacteria were *Acinetobacter baumannii* (35.8%) and *Klebsiella pneumoniae* (30.8%)⁽⁴²⁾. Conversely, an international retrospective study showed that gram-positive bacteria were the most commonly isolated microorganisms in COVID-19 patients, with *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* each occurring in 16.2% of patients. These studies suggest that drug resistance and the distribution of these pathogenic microorganisms vary among countries⁽²²⁾.

In this integrative review, multidrug-resistant microorganisms were reported in 85.7% of cases. The most frequently isolated species were carbapenem-resistant gram-negative bacteria and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The most prevalent resistant microorganisms in the analyzed studies were methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA; 64.00%), followed by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB; 57.14%) and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* (ESBL+; 42.85%). However, in the study by Mahmoudi⁽⁴³⁾ and the one conducted by Khurana *et al.*⁽⁴⁴⁾, there were higher occurrences of multidrug-resistant species of *Klebsiella*, followed by *Acinetobacter* spp. On the other hand, the study by Rezasoltani *et al.*⁽⁴⁵⁾ observed a higher prevalence of *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Obeidat *et al.*⁽²²⁾ reported several resistance mechanisms among microorganisms. However, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production was the leading cause of antimicrobial resistance among *Klebsiella* spp. and *E. coli*, reaching 67% and 52%, respectively. Moreover, a high occurrence of carbapenem-resistant gram-negative bacteria was observed, with 97% for *A. baumannii* (CRAB) and 44% for *P. aeruginosa*. This fact certainly is important and can lead to severe complications in cases of coinfection in COVID-19 patients. Although these data are higher than those reported in a Chinese study, where the

rates of occurrence of coinfections by *E. coli* (ESBL), *K. pneumoniae* (ESBL), *A. baumannii* (CRAB), and *P. aeruginosa* (CRO) were 30.5%, 16.1%, 19.5%, and 10.0%, respectively ⁽⁴⁶⁾.

The extensive use of broad-spectrum antimicrobial drugs during the COVID-19 outbreak in hospitalized patients, especially in ICUs, may have contributed to the selection of pathogens with different resistance profiles. Additionally, microorganisms such as *S. aureus*, *Enterococcus* spp., Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. are often responsible for healthcare-associated infections and are prone to developing multidrug resistance.

5 CONCLUSION

This integrative literature review found that patients hospitalized in ICUs with COVID-19 who presented bacterial coinfection were more frequently infected by multidrug-resistant microorganisms in comparison with patients admitted to other hospital wards/sectors. The microorganisms most frequently isolated in these individuals with a multidrug resistance profile were *A. baumannii* (CRAB), *K. pneumoniae*, *E. coli* (ESBL), and *P. aeruginosa* (CRO). Additionally, among gram-positive bacteria, *S. aureus* (MRSA) stood out. Therefore, it is important to emphasize that bacterial coinfections in critically ill patients should not be underestimated. These results indicate the need to pay attention to infections caused by multidrug-resistant microorganisms, and reinforce the need for ethical and rational use of antibiotics.

Conflict of Interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Khalil, OAK, & da Silva Khalil, S. (2020). SARS-CoV-2: taxonomy, origin and constitution. *Revista de Medicina*, 99 (5), 473-479.
2. Vieira MCS, Sardinha DM, Silva MJA, Lima LNGC, Lima KVB. SARS-CoV-2 infection. In: Rodrigues YC, Lima KVB. Infectious and parasitic agents of importance in the Brazilian Amazon: updates on clinical, epidemiological and molecular aspects. Bauru: Gradus Editora; 2021. p. 285-304.
3. Manzini, S., Rodrigues, N. J. L., Bertozzo, T. V., Aires, I. N., & Lucheis, S. B. (2021). SARS-COV-2: Its relationship with animals and potential zoonotic disease. *Veterinaria e*

Zootecnia.

4. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., ... & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England journal of medicine*, 382(8), 727-733.

5. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), 2011. Disponível online: <http://www.who.int/> (acessado em 8 de março de 2023).

6. Hinrichsen SL, Gallindo M, Galvão BHA, Costa IC, Hinrichsen BL. Healthcare-associated infection: importance and control. In: Hinrichsen SL. Biosafety and infection control: hospital health risk. 3rd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018. p. 273-81.

7. Da Silva, RA, Freitas, DKP, & de Souza, RV (2021). Impact of covid-19 on patients with leprosy. *Multidisciplinary Health Journal*, 2 (4), 122-122.

8. Rawson, T. M., Moore, L. S., Zhu, N., Ranganathan, N., Skolimowska, K., Gilchrist, M., ... & Holmes, A. (2020). Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clinical infectious diseases*, 71(9), 2459-2468.

9. Brazil. National Health Surveillance Agency. Prevention of infections by multidrug-resistant microorganisms in healthcare services: patient safety and quality in healthcare services series. [Internet]. Brasília: Anvisa; 2021.103p. [cited 2021 Jul 20]. Available at: <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2021/03/manual-prevencaode-multirresistencias7.pdf>.

10. WHO, World Health Organization. (2018). Report on surveillance of antibiotic consumption. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/surveillance-system-manual/en/>. Accessed January 10, 2022.

11. Brazil. Ministry of Health. Ordinance no. 2616, Official Gazette of the Union, Brasília, May 12, 1998. Available at: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html> Accessed in March. 2023.

12. Bradford, P. A., Bratu, S., Urban, C., Visalli, M., Mariano, N., Landman, D., ... & Quale, J. (2004). Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 β -lactamases in New York City. *Clinical infectious diseases*, 39 (1), 55-60.

13. Souza, M. T. D., Silva, M. D. D., & Carvalho, R. D. (2010). Integrative review: what is it? How to do it? *Einstein (São Paulo)*, 8, 102-106.

14. Wu, G., Lu, J., Liu, D., & He, Y. (2023). Characteristics and risk factors of secondary bacterial infections in COVID-19 patients. *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology*, 3(1), e156.

15. Moreno-García, E., Puerta-Alcalde, P., Letona, L., Meira, F., Dueñas, G., Chumbita, M., ... & Garcia-Vidal, C. (2022). Bacterial co-infection at hospital admission in patients with COVID-19. *International Journal of Infectious Diseases*, 118, 197-202.

16. Chen, Z., Zhan, Q., Huang, L., & Wang, C. (2023). Coinfection and superinfection in ICU critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia and influenza pneumonia: are the pictures different? *Frontiers in Public Health*, 11.
17. López-Herrero, R., Sánchez-de Prada, L., Tamayo-Velasco, A., Lorenzo-López, M., Gómez-Pesquera, E., Sánchez-Quirós, B., ... & Álvaro-Meca, A. (2023). Epidemiology of bacterial co-infections and risk factors in COVID-19-hospitalized patients in Spain: a nationwide study. *European Journal of Public Health*, ckad060.
18. Garcia-Vidal, C., Sanjuan, G., Moreno-García, E., Puerta-Alcalde, P., Garcia-Pouton, N., Chumbita, M., ... & Torres, A. (2021). Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(1), 83-88.
19. Russo, A., Gavaruzzi, F., Ceccarelli, G., Borrazzo, C., Oliva, A., Alessandri, F., ... & Venditti, M. (2022). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit. *Infection*, 1-10.
20. Kaçmaz, B., Keske, Ş., Şişman, U., Ateş, S. T., Güldan, M., Beşli, Y., ... & Ergönül, Ö. (2023). COVID-19 associated bacterial infections in intensive care unit: a case control study. *Scientific Reports*, 13(1), 13345.
21. Taysi, M. R., Yildirim, F., Simsek, M., Dural, H. I., & Sencan, I. (2023). Secondary Infections in Critical Patients with COVID-19 Associated ARDS in the ICU: Frequency, Microbiologic Characteristics and Risk Factors. *J. Coll. Physicians Surg. Pak*, 33, 181-187.
22. Obeidat, H., El-Nasser, Z., Amarin, Z., Qablan, A., & Gharaibeh, F. (2023). The impact of COVID-19 pandemic on healthcare associated infections: A teaching hospital experience. *Medicine*, 102(15).
23. Khurana, S., Singh, P., Sharad, N., Kiro, V. V., Rastogi, N., Lathwal, A., ... & Mathur, P. (2021). Profile of co-infections & secondary infections in COVID-19 patients at a dedicated COVID-19 facility of a tertiary care Indian hospital: Implication on antimicrobial resistance. *Indian journal of medical microbiology*, 39(2), 147-153.
24. Bazaid, A. S., Barnawi, H., Qanash, H., Alsaif, G., Aldarhami, A., Gattan, H., ... & Alfouzan, F. (2022). Bacterial coinfection and antibiotic resistance profiles among hospitalised COVID-19 patients. *Microorganisms*, 10(3), 495.
25. Ramadan, H. K. A., Mahmoud, M. A., Aburahma, M. Z., Elkhawaga, A. A., El-Mokhtar, M. A., Sayed, I. M., ... & Medhat, M. A. (2020). Predictors of severity and co-infection resistance profile in COVID-19 patients: First report from upper Egypt. *Infection and drug resistance*, 3409-3422.
26. Jeong, S., Lee, N., Park, Y., Kim, J., Jeon, K., Park, M. J., & Song, W. (2022). Prevalence and clinical impact of coinfection in patients with coronavirus disease 2019 in Korea. *Viruses*, 14(2), 446.
27. Sathyakamala, R., Peace, A. R., & Shanmugam, P. (2022). A comparative study on

bacterial co-infections and prevalence of multidrug resistant organisms among patients in COVID and non-COVID intensive care units. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 63(1), E19.

28. Chen, X., Liao, B., Cheng, L., Peng, X., Xu, X., Li, Y., ... & Ren, B. (2020). The microbial coinfection in COVID-19. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 7777-7785.

29. Ripa, M., Galli, L., Poli, A., Oltolini, C., Spagnuolo, V., Mastrangelo, A., ... & Vinci, C. (2021). Secondary infections in patients hospitalized with COVID-19: incidence and predictive factors. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(3), 451-457.

30. Yu, Y., Xu, D., Fu, S., Zhang, J., Yang, X., Xu, L., ... & Shang, Y. (2020). Patients with COVID-19 in 19 ICUs in Wuhan, China: a cross-sectional study. *Critical care*, 24, 1-10. .

31. Lansbury, L., Lim, B., Baskaran, V., & Lim, W. S. (2020). Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Journal of infection*, 81(2), 266-275.

32. Cao, M., Zhang, D., Wang, Y., Lu, Y., Zhu, X., Li, Y., ... & Lu, H. (2020). Clinical features of patients infected with the 2019 novel coronavirus (COVID-19) in Shanghai, China. *MedRxiv*, 2020-03.

33. Garcia-Vidal, C., Sanjuan, G., Moreno-García, E., Puerta-Alcalde, P., Garcia-Pouton, N., Chumbita, M., ... & Torres, A. (2021). Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(1), 83-88.

34. Fu, Y., Yang, Q., Xu, M., Kong, H., Chen, H., Fu, Y., ... & Zhou, J. (2020, June). Secondary bacterial infections in critical ill patients with coronavirus disease 2019. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 7, No. 6, p. ofaa220). US: Oxford University Press.

35. Lansbury, L., Lim, B., Baskaran, V., & Lim, W. S. (2020). Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Journal of infection*, 81(2), 266-275.

36. Sharifipour, E., Shams, S., Esmkhani, M., Khodadadi, J., Fotouhi-Ardakani, R., Koohpaei, A., ... & Ej Golzari, S. (2020). Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU. *BMC infectious diseases*, 20(1), 1-7.

37. Da Silva Sousa, A. H., Martins, S. B., & Cortez, A. C. L. (2021). Influence of comorbidities on the health of the elderly in the face of the Covid-19 pandemic: an integrative review. *Research, Society and Development*, 10(17), e199101724678-e199101724678.

38. Pereira Filho, A. R., Navarini, A., & Mimica, L. M. J. (2022). Association of COVID-19 to multidrug-resistant bacterial superinfections and coinfections: an integrative review. *Medical Archives of the Hospitals and Faculty of Medical Sciences of Santa Casa de São Paulo*, 1-of

39. Machado, ABS, Alves, AF, Araújo, HR, Barros, JF, Teixeira, LSF, & de Moura, RS (2021). Immunosuppressive therapies in the treatment of COVID-19: an integrative literature review. *Brazilian Journal of Health Review*, 4 (2), 5115-5130.

40. Wei, X. L., Zeng, Q. L., Xie, M., & Bao, Y. (2023). Pathogen distribution, drug resistance risk factors, and construction of risk prediction model for drug-resistant bacterial infection in hospitalized patients at the respiratory department during the COVID-19 pandemic. *Infection and Drug Resistance*, 1107-1121.
41. Saeed, N. K., Al-Khawaja, S., Alsalman, J., Almusawi, S., Albaloooshi, N. A., & Al-Biltagi, M. (2021). Bacterial co-infection in patients with SARS-CoV-2 in the Kingdom of Bahrain. *World journal of virology*, 10(4), 168.
42. Li, J., Wang, J., Yang, Y., Cai, P., Cao, J., Cai, X., & Zhang, Y. (2020). Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 1-7.
43. Mahmoudi, H. (2020). Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19. *GMS hygiene and infection control*, 15.
44. Khurana, S., Singh, P., Sharad, N., Kiro, V. V., Rastogi, N., Lathwal, A., ... & Mathur, P. (2021). Profile of co-infections & secondary infections in COVID-19 patients at a dedicated COVID-19 facility of a tertiary care Indian hospital: Implication on antimicrobial resistance. *Indian journal of medical microbiology*, 39(2), 147-153.
45. Rezasoltani, S., Yadegar, A., Hatami, B., Asadzadeh Aghdaei, H., & Zali, M. R. (2020). Antimicrobial resistance as a hidden menace lurking behind the COVID-19 outbreak: the global impacts of too much hygiene on AMR. *Frontiers in microbiology*, 11, 590683.
46. Nasir, N., Rehman, F., & Omair, S. F. (2021). Risk factors for bacterial infections in patients with moderate to severe COVID-19: A case-control study. *Journal of medical virology*, 93(7), 4564-4569.

4.2 Artigo Experimental

Artigo a submeter (Journal of applied Microbiology – Qualis A3; Impact Factor: 4.0)

Perfil de sensibilidade antimicrobiana e detecção de genes de resistência em bactérias gram-negativas isoladas de pacientes com COVID-19 assistidos num Hospital Terciário da Região Norte do Ceará

Maria Walcleanes Magalhães de Oliveira^{1*}, Carlos Victor Fontenele Pinheiro¹, Martinair Santana da Silva¹, Júlio César Sousa Prado¹, Flávia de Araújo Silva², Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle^{1,3}, Maria Gleiciane de Queiroz Martins⁴, Francisco Cesar Barroso Barbosa^{1*}

1 Health Sciences Graduate Program, Federal University of Ceará (UFC), Comandante Mauricélio 9 Rocha Pontes Street, 100, Sobral, CE, Brazil

2 Microbiology Laboratory, Federal University of Ceará, Comandante Mauricélio Rocha Pontes Street, 100, Sobral, CE, Brazil

3 Vale do Acaraú State University (UVA), Av. Padre Francisco Sadoc de Araújo, 850 Campus da Betânia, Sobral, CE, Brazil

4 Center University Uninta (UNINTA), R. Antônio Rodrigues Magalhães, 359 Dom Expedito, Sobral, CE, Brazil

*Correspondente: fcbarbosa@yahoo.com.br

Abstract

Patients hospitalized with Covid-19 may present coinfections with other pathogens, including multidrug-resistant gram-negative bacteria (MDR), which can increase severity, complications, and morbimortality rates. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial sensitivity profile and detect the presence of resistance genes in gram-negative bacteria isolated from patients diagnosed with COVID-19 treated at a tertiary hospital in Ceará, Brazil. Microbiological data from patients with bacterial coinfections were collected from April/2021 to March/2022, and a total of 46 gram-negative bacteria were isolated. Bacterial identification and sensitivity profile were performed using the automated VITEK®2 system (bioMérieux), and molecular analysis to detect *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-23}, and *bla*_{OXA-48} was conducted by conventional Polymerase Chain Reaction. *Klebsiella pneumoniae* was the most prevalent (n=18, 39.1%), followed by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* with 12 (26.1%) isolates of each. Regarding antimicrobial sensitivity, the highest resistance rate was found for Imipenem (60.9%). However, 58.7% of bacteria were sensitive to Aztreonam. *Bla*_{KPC} was the most frequent, detected in 31 (67.4%) of the isolates. Therefore, these data could be useful for generating important information in controlling the spread of these pathogens in the hospital environment, directly impacting patient safety measures and improving the quality of care.

Keywords: COVID-19, Bacterial co-infection, Multi-drug resistant, Antimicrobial resistance, Betalactamases.

Introdução

A emergente Síndrome Respiratória Aguda Grave ou COVID-19 é uma condição clínica causada pelo novo coronavírus o SARS-CoV-2, anteriormente conhecido como 2019-nCoV. O vírus pode resultar em doença leve até uma condição de cuidado crítico, que requer tratamento especializado em Unidade de Terapia Intensiva (Zhu *et al.*, 2020).

Para casos de pacientes com diagnóstico de COVID-19 que apresentam coinfeções com outros patógenos respiratórios, a administração imediata de antibióticos de acordo com os relatórios de sensibilidade antimicrobiana, bem como a aplicação estrita de estratégias de controle de infecção são essenciais para reduzir a gravidade, complicações, mortalidade e disseminação nosocomial alcançada por essas superbactérias (Rawson *et al.*, 2020).

A resistência antimicrobiana é considerada uma ameaça significativa aos sistemas de saúde pública não apenas nos países em desenvolvimento, mas em todo o mundo (Prestinaci *et al.*, 2016; Fornou *et al.*, 2017;). A infecção por microrganismos MDR leva a doenças graves e internações prolongadas, aumento dos custos de saúde e falhas no tratamento (Shrestha *et al.*, 2018; ECDC, 2019; CDC, 2019).

Considerando os principais patógenos associados às infecções nosocomiais, destacam-se as bactérias, principalmente os bacilos Gram-negativos (BGN) fermentadores, do grupo das enterobactérias, como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. e bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGN-NF), principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Stenotrophomonas* spp. (Exner *et al.*, 2017).

Dentre os mecanismos de resistência nas bactérias, destacam-se a reduzida permeabilidade da membrana externa bacteriana, perda de porinas, alteração nos sítios de ligação dos antibióticos, hiperexpressão de bombas de efluxo e produção de enzimas Betalactamases. No entanto, o mecanismo que mais contribui para a rápida disseminação de cepas multirresistentes dentro de ambientes hospitalares é a aquisição de genes de resistência e produção de enzimas Betalactamases que têm sido associadas a um aumento na resistência aos carbapenêmicos (Martins *et al.*, 2013).

A coexistência de vários genes de resistência é notadamente observada em isolados Gram-negativos, como MBL (*Metallo- β -lactamases*) do tipo NDM-1 e ESBL (*β -lactamases Extended Spectrum*) como CTX-M em *Klebsiella pneumoniae* e KPC em enterobactérias. A produção dessas enzimas (ESBL e MBL) em conjunto permite que as

bactérias resistam a diversos antibióticos, incluindo os carbapenêmicos, e é a principal causa de falha do tratamento (Lincopan *et al.*, 2005).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e detectar a presença de genes de resistência em bactérias gram-negativas isoladas de pacientes com diagnóstico de COVID-19 assistidos em um hospital do Ceará, Brasil.

Material e Métodos

Cepas bacterianas e Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (TSA)

Um total de 46 isolados clínicos foram coletados no período de abril/2021 a março/2022 em um hospital de cuidados terciários na Região Norte do Estado do Ceará, Brasil, de pacientes internados com COVID-19. A identificação bacteriana e o teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) para os antimicrobianos ampicillina, amicacina, ceftolozane/tazobactam, ceftriaxona, levofloxacina, tobramicina, ceftazidima, ciprofloxacina, colistina, gentamicina, cefepima, imipenem, meropenem, ertapenem, piperacillina/tazobactam, aztreonam, tigeciclina e trimetoprim/sulfametoxazol foram realizados pelo sistema automatizado VITEK®2 (*BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France*) a partir de amostras clínicas (sangue, aspirado traqueal, urina, hemocultura, lavado brônquioalveolar, cateteres cutâneos e fragmento de tecido) no Laboratório de referência São Carlos em Fortaleza, Ceará, Brasil. Os isolados foram obtidos de pacientes internados em diversos setores como, hospital de campanha, clínica COVID, UTI pediátrica, UTI COVID e intermediárias (Inter) 1 e 2.

A seguir, as cepas foram armazenadas em tubos contendo infusão de cérebro e coração (BHI) (Himedia®, Mumbai, Índia) com glicerol 20% e enviadas ao Laboratório de Microbiologia e Parasitologia (LAMP) da Universidade Federal do Ceará na cidade de Sobral, onde foram mantidos a -80°C (Revco, EUA) até a realização das análises genômicas.

Extração do DNA

Para a extração do DNA as amostras foram inicialmente reativadas em caldo BHI (Himedia®, Mumbai, Índia) por 24 horas a 37°C. Após o crescimento dos microrganismos em meio líquido, 2mL de cada amostra foram transferidos para tubos de microcentrífuga, devidamente identificados. Após essa etapa, os tubos sofreram uma centrifugação (4.500rcf/3min) e o sobrenadante foi descartado. Ao precipitado, foi adicionado 200 µL de

tampão 1 e 200 μL de fenolclorofórmio-álcool isoamílico (25:24:1) e realizada uma ressuspensão. Em seguida, foram inseridas 3 beads (microesferas de sílica) em cada tubo e agitados em disruptor gênico por 5 minutos. Ao mesmo tubo, adicionou-se 200 μL de tampão 2 e agitou-se por 30 segundos. Uma outra centrifugação (12.000rcf/6min) foi realizada e transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo eppendorf, acrescentando-se 1.000 μL de etanol 100% gelado nas amostras e deixando descansar em freezer -20°C por 30 minutos. Após esse intervalo, os tubos em 100 μL de tampão 2 e incubação em banho maria por 30 minutos, a 60°C . Após essa etapa, os tubos seguiram armazenados em -80°C , para realização da PCR, quantificação e eletroforese (Brito *et al.*, 2009). Logo após a extração de DNA, foi realizada uma eletroforese para verificar a integridade e pureza das amostras.

Detecção dos genes *bla* NDM-1, KPC, OXA-23 e OXA-24 por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Os genes β -lactamases KPC, NDM-1, OXA-23 e OXA-48 foram investigados por PCR usando primers previamente descritos na Tabela 1. As reações de amplificação foram preparadas em um volume total de 16 μL contendo: 8,0 μL de Taq Pol- (2X Class Five PCR Master Mix, que contém desoxirribonucleotídeos trifosfato - dNTPs, KCL, MgCl_2 , corante, gel buffer de carga e estabilizadores), tendo sido acrescentado 4,0 μL do DNA da amostra e água milliQ, 2,0 μL de cada primer e 1X buffer (concentração final). As amplificações foram realizadas no termiclador da eppendorf com as seguintes condições de ciclagem: uma desnaturação inicial (95°C por 1 minuto); seguidos de 30 ciclos de desnaturação (95°C por 1 minuto e 94°C por 1 minuto), anelamento (55°C para KPC e OXA-48, e, 52°C para NDM-1 e OXA-23, por 1 minuto) e uma etapa de extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os produtos amplificados foram analisados em gel de agarose a 1,0% com tampão TBE 1% (a partir do TBE 10X). A eletroforese foi realizada a 190 volts, 80mA por 40 minutos. A aplicação no gel de agarose foi feita com 6 μL da reação, adicionados de 1,8 μL de Fluoróforo (Gelred®). O marcador de peso molecular de 100 pb (pares de base) - Invitrogen, EUA foi aplicado no gel para determinar o tamanho dos fragmentos obtidos em todas as eletroforeses.

Análise Estatística

Os dados foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual e associados por meio dos testes exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson. Todas as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95% no software SPSS v20.0 (2022) para Windows.

Aspectos éticos

As amostras utilizadas na pesquisa já se encontravam armazenadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal do Ceará - UFC *Campus* Sobral, sob a aprovação do CEP/ISGH **Parecer de N° 4.313.543** (ANEXO 02). Foi solicitado ao CEP do ISGH dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), uma vez que já tinha sido assinado anteriormente.

Resultados

Um total de 46 isolados bacterianos obtidos de pacientes internados com COVID-19, foram analisados pelo sistema automatizado VITEK®2. A distribuição dos isolados por espécie bacteriana, gênero, idade, diagnóstico de admissão, setor de hospitalização, sítio de origem e IRAS estão descritas na Tabela 2.

Dentre os Bacilos Gram-negativos (BGN) identificados, destacaram-se *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*, com maior prevalência de *K. pneumoniae* (39,1%). A maioria desses BGN foram encontrados em pacientes do gênero feminino (60,9%). Em relação à idade, houve maior frequência na faixa etária de 61 a 80 anos (39,1%). 95,7% dos pacientes tiveram como diagnóstico de admissão infecção por COVID-19. Quanto à hospitalização, 58,7% se encontravam no setor UTI COVID, seguido do setor Intermediária 3 com 21,7%. De todos os isolados analisados, observou-se que o aspirado traqueal foi o sítio de isolamento mais frequente (47,8%) e metade dos isolados foram caracterizados como agentes de IRAS (50%) (Tabela 2).

Quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana, do total das amostras testadas o antimicrobiano que apresentou maior taxa de resistência, foi o Imipenem (60,9%), seguido da Piperacilina/Tazobactam (54,3%). Entretanto, 58,7% de todos os BGN analisados foram sensíveis ao Aztreonam.

Em relação à especificidade dos microrganismos, todos os isolados de *A. baumannii* apresentaram resistência ao Imipenem (100%), e a maioria apresentou resistência à Piperacilina/tazobactam e à Tigeciclina (91,7%), sendo este último dado estatisticamente significativo ($p = 0,017$). Por outro lado, 91,7% desses foram sensíveis ao Aztreonam ($p = 0,009$). Adicionalmente, entre os isolados de *K. pneumoniae* 77,8% foram resistentes à Ceftazidima apresentando maior taxa, e 66,7% foram sensíveis à Amicacina e 61,1% ao Imipenem. Para *P. aeruginosa*, 75% dos isolados foram resistentes ao Imipenem e à

Piperacilina/tazobactam e a taxa de maior sensibilidade desses foi de 58,3% para o Aztreonam ($p = 0,009$). Por fim, 25% dos isolados de *S. maltophilia* foram resistentes à Tigeciclina ($p = 0,017$), à Levofloxacina e ao Trimetoprima/Sulfametazol. Entretanto, vale ressaltar que alguns espécimes, mais frequentemente *S. maltophilia*, foram classificadas como “NT” (Não Testado) em suas análises, indicando que o isolado não foi testado para o referido antimicrobiano (Tabela 3).

No que diz respeito à análise molecular, dos quatro genes analisados três (*bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-23} e *bla*_{OXA-48}) foram detectados em espécimes de *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *S. maltophilia*, enquanto o gene *bla*_{NDM-1} não foi encontrado em nenhum isolado de *A. baumannii*. Além disso, o gene *bla*_{KPC} foi o mais prevalente, sendo detectado em 31 (67,4%) do total dos espécimes, observando-se maior frequência nos isolados de *K. pneumoniae* 14 (77,7%), seguido do gene *bla*_{OXA-23} encontrado em 56,5% ($n = 26$) dos BGN analisados, dados estatisticamente significantes. Observamos ainda, que o gene *bla*_{OXA-23} foi encontrado em 11 (91,6%) dos 12 isolados de *A. baumannii*, sendo prevalente nesta espécie. Para o gene *bla*_{OXA-48} as maiores taxas de ocorrência foram encontradas em cepas de *K. pneumoniae* (55,5%) (Tabela 4).

Os dados dessa pesquisa revelaram que 78,6% dos isolados de *K. pneumoniae* que albergavam o gene *bla*_{KPC}, eram resistentes à Ceftazidima, 71,4% ao Meropenem e 50% ao Imipenem e Ertapenem. Enquanto que isolados de *P. aeruginosa* que albergavam esse mesmo gene exibiram resistência de 85,7% para o Imipenem e Piperacilina/tazobactam. Nos espécimes de *A. baumannii* em que o gene *bla*_{OXA-23} foi detectado, todos apresentavam resistência ao Imipenem, à Tigeciclina e à Piperacilina/tazobactam (100%) e, 91% à Colistina, e esses dados foram estatisticamente significantes ($p = 0,002$) e, para os espécimes de *P. aeruginosa* 85,7% foram resistentes ao Imipenem, conforme descrito na tabela 5.

Dos 46 isolados analisados, 7 (15,2%) apresentaram de forma simultânea três dos quatro genes estudados, com o *bla*_{KPC} detectado em todas elas e dessas, cinco eram oriundas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI COVID). Além disso, dos 7 isolados, 5 (71,4%) eram *K. pneumoniae*. Adicionalmente, 5 (71,4%) desses BGN apresentaram resistência ao Meropenem, Imipenem e a Colistina (Tabela 6).

Vale ressaltar que neste estudo, 58,7% dos pacientes foram a óbito. Ao fazermos a correlação da infecção com o microrganismo isolado, percebemos uma alta taxa de mortalidade para *A. baumannii* (91,7%), apresentando o pior desfecho clínico e evidenciando um elevado grau de virulência desse microrganismo. Ainda, 50% dos pacientes infectados com *P. aeruginosa* e *S. maltophilia* vinheram a óbito (Tabela 7).

Nesta pesquisa, 78,2% das cepas estudadas eram MDR. Entre essas, destaque para os espécimes de *A. baumannii* que apresentaram fenótipo 100% MDR e taxa de resistência ao Imipenem de 100%.

Discussão

A coinfeção bacteriana desempenha um papel importante na complicação do diagnóstico, tratamento e prognóstico da COVID-19 e até mesmo no aumento da mortalidade (Chen *et al.*, 2020). Segundo Chen *et al.* (2020) em pacientes com COVID-19, a coinfeção primária ou pneumonia bacteriana secundária foi responsável por 11% a 35% dos distúrbios relacionados à doença, além da patogênese do vírus.

Os resultados desta pesquisa mostraram que entre as bactérias gram-negativas multidroga resistentes (MDR) encontradas em pacientes internados com COVID-19, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *S. maltophilia* foram as mais frequentes. Nossos dados estão em conformidade com os achados de Rawson *et al.* (2020). Dentre essas, a prevalência foi de *K. pneumoniae* (39,1%) corroborando com Alhoufie *et al.* (2023) (47%), Khurana *et al.* (2020) (33,3%) e Ramadan *et al.* (28,5%) (2020). Em relação ao gênero, a maior frequência no nosso estudo foi do feminino (60,9%), diferentemente de outro estudo realizado no Alto Egito que apontou uma maioria do gênero masculino 55,4% (Ramadan *et al.*, 2020).

Assim como nos estudos realizados por Lansbury *et al.* (2020), Yang *et al.* (2020) e Aziz *et al.* (2020), neste estudo a UTI foi o setor de internação com maior número de coinfeções por BGN multiresistentes (58,7%), dado preocupante uma vez que a UTI pode servir como reservatório para esses patógenos. Harding *et al.* (2018) afirmam que pacientes internados em UTI colonizados por microrganismo multirresistente têm 24,4% mais chance de virem a óbito durante a hospitalização do que pacientes não colonizados por esses microrganismos.

Dentre os isolados do presente estudo, observou-se que o aspirado traqueal foi o sítio de isolamento mais frequente (47,8%). Esses resultados corroboram com os achados do *Center for Disease Control* (CDC), de que microrganismos como *P. aeruginosa* e *A. baumannii* estão entre os patógenos mais comuns nas unidades críticas e são encontrados principalmente nas secreções traqueais, com perfil de multidroga resistência (Rocha *et al.* 2017).

Ainda neste estudo, metade dos isolados (50%) foram caracterizados como agentes causadores de IRAS, corroborando com esse achado Grasselli *et al.* (2021) encontraram uma

taxa semelhante (46%). Para Kumar *et al.* (2021) múltiplos fatores ambientais e do hospedeiro determinam o desenvolvimento de IRAS em qualquer paciente hospitalizado. O fluxo de pacientes submetidos a cirurgias, doença de base, uso de cateteres urinários e venosos, estado imunológico, ventilação mecânica, idade, uso de medicações imunossupressoras. Internações prolongadas também são um risco para infecções nosocomiais. No entanto, fatores modificáveis, como protocolos para mitigação de infecções, educação e práticas dos profissionais de saúde e políticas hospitalares para uso de cateteres, também desempenham um papel importante.

Quanto ao perfil de sensibilidade, dados semelhantes ao presente estudo foram encontrados para isolados de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos, como o Meropenem acima de 50% por outros pesquisadores (Baidya *et al.* 2021; Gysin *et al.* 2021; Kumar *et al.* 2021). Nesta pesquisa, as cepas de *A. baumannii* foram as que apresentaram maiores taxas de resistência aos antimicrobianos testados, entre eles o Imipenem, esses dados corroboram os achados de Sathyakamala *et al.* (2022) e Jie Li *et al.* (2020) que encontraram taxas de resistência a esse antimicrobiano semelhantes para *A. baumannii* em suas análises, 81,48% e 91,7%, respectivamente. Nos últimos anos, *A. baumannii* tem sido comumente relatado como resistente a múltiplas drogas, e as taxas de resistência a Imipenem, Meropenem, Ceftazidima, Piperacilina/tazobactam, Ciprofloxacina e Gentamicina na América Latina parecem estar entre as maiores do mundo (Al *et al.* 2016).

Até bem pouco tempo, os carbapenêmicos tinham excelente utilidade clínica para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa* MDR devido à sua potente atividade contra esse microrganismo. No entanto, esse patógeno desenvolveu mecanismos de resistência após exposição implacável a carbapenêmicos e outras classes de agentes antimicrobianos (Labarca *et al.*, 2016; Yang *et al.* 2020). Dos isolados clínicos de *P. aeruginosa* analisados nesta pesquisa, 75% foram resistentes ao Imipenem e 50% ao Meropenem. Além das cefalosporinas Ceftazidima e Cefepime, Levofloxacino, e Colistina, todos com taxa de resistência acima de 50%, reforçando os achados de Alvares *et al.*, (2021). Um estudo de Qu *et al.* (2021) afirma que *P. aeruginosa* pode permanecer como um importante patógeno coinfectante em pacientes gravemente enfermos com COVID-19, com maior capacidade de produzir biofilme e, assim, conferir resistência a antibióticos.

Nesta pesquisa, a maior taxa de resistência às cefalosporinas foi para *K. pneumoniae*, sendo para Ceftazidima (77,8%) e cefepime (66,7%). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022), a resistência às cefalosporinas e carbapenêmicos de terceira geração em *K. pneumoniae* é preocupante em vários países da Região Europeia. Além disso obtivemos

dados parecidos (para o Imipenem e Ertapenem) aos apresentados por Casale *et al.* (2023) que observaram uma porcentagem considerável de pacientes com COVID-19 (30%) com *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos. Em outro estudo realizado na Àsia, Vijay *et al.* (2021) também verificaram altos níveis de resistência aos carbapenêmicos em *K. pneumoniae* (72,8%) dado semelhante ao encontrado em nosso estudo para o Meropenem (61,1%).

Vale ressaltar ainda, que apenas 25% dos espécimes de *S. maltophilia* testados neste estudo, apresentaram sensibilidade à Levofloxacina e Trimetoprima/Sulfametazol, diferentemente dos estudos de Pinheiro (2023) que encontrou uma taxa de sensibilidade aos mesmos antibacterianos de 90% e 70%, respectivamente, dado preocupante, uma vez que Sader *et al.* (2012), afirmam que *S. maltophilia* é um organismo multirresistente e as opções de antibióticos são limitadas, sendo Trimetoprima-sulfametoxazol a combinação antibiótica de escolha devido à sua atividade confiável *in vivo* contra *S. maltophilia*.

Por outro lado, nesta pesquisa o Aztreonam foi o antimicrobiano com maior taxa de sensibilidade, sendo efetivo contra 54,3% dos BGN analisados, com sua melhor eficiência contra cepas de *A. baumannii* (91,7%) e *P. aeruginosa* (58,3%). Diferentemente dos achados de um estudo realizado por Titov *et al.* (2020) onde 79% das amostras de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *A. baumannii* foram susceptíveis ao imipenem e 65% à Piperacilina/tazobactam, mas isso pode estar relacionado com a pressão seletiva em diferentes ambientes hospitalares, reforçando a importância de termos dados epidemiológicos locais.

Neste estudo, o gene *bla*_{KPC} foi prevalente entre todos os isolados estudados, com destaque em *K. pneumoniae*, ratificando dados de uma revisão realizada em diferentes continentes (Mędrzycka-Dąbrowska, 2021) e nos estudos de Casale *et al.* (2023). Por outro lado, o gene *bla*_{NDM-1} foi o menos frequente em nossas análises (15,21%), diferentemente dos estudos realizados por Radaman *et al.* (2020) (55,1%) e Khurana *et al.* (2021) (22,71%).

Kooti *et al.*, (2015) relata que apesar do gene *bla*_{OXA-23} não estar restrito à espécie de *A. baumannii*, o mesmo está presente na grande maioria das cepas dessa espécie, nossos achados confirmam esses relatos, uma vez que esse gene foi detectado em 91,6% dos espécimes de *A. baumannii*. Ressalta-se ainda a alta taxa de mortalidade (91,7%) observada nos pacientes infectados por essa bactéria.

Um estudo multicêntrico italiano relatou um aumento na colonização por *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos de 5,1 por 10.000 pacientes-dia na UTI durante janeiro-abril de 2019 para 26,4 por 10.000 pacientes-dia na UTI durante janeiro-abril de 2020, com predominância de produtores de OXA-23 (Pascale *et al.* 2022). Este aumento maciço na

incidência entre pacientes de UTI coincidiu com as piores fases da pandemia de COVID-19. Além disso, de acordo com um relatório recente (Comini *et al.* 2022) o *bla*_{OXA-23} pode ser considerado o principal mecanismo envolvido na resistência aos carbapenêmicos em cepas de *A. baumannii* isoladas de pacientes com COVID-19 em ambiente hospitalar.

Estudos (Arcari *et al.* 2021; Singh *et al.* 2023) revelaram que o gene *bla*_{OXA-48} foi prevalente em *K. pneumoniae* semelhante aos nossos achados. A disseminação do *bla*_{OXA-48} e suas variantes é atribuída à disseminação bem sucedida de clones globais e à transferência horizontal de genes (Poirel *et al.* 2012; Pitout *et al.* 2019).

Como dito anteriormente, os isolados clínicos que albergavam o gene *bla*_{KPC} dentre os espécimes de *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, apresentaram maior resistência aos Carbapenêmicos e Ceftazidima (em *K. pneumoniae*) e Piperaciclina/tazobactam (em *P. aeruginosa*). Por outro lado, um estudo de Khurana *et al.* (2021) constatou que as amostras analisadas que tinham a carbapenamase NDM-1, que foi a mais prevalente nos achados deles, demonstrou alta taxa de resistência às cefalosporinas de terceira geração e aos carbapenêmicos, observada principalmente entre esses patógenos.

Já entre os espécimes de *A. baumannii* que albergavam o gene *bla*_{OXA-23}, houve resistência de 100% ao Imipenem, à Tigeciclina e à Piperacilina/tazobactam. Carvalho *et al.* (2011) descrevem que a detecção de *bla*_{OXA-23} em isolados *A. baumannii* suscetíveis ao Imipenem fornece evidências de que este pode ser disseminado silenciosamente em um ambiente hospitalar e destacou a ameaça de reservatórios não detectados de genes de carbapenemases.

Adicionalmente neste estudo, sete isolados apresentaram coexistência de três genes de resistência simultaneamente. Alertas epidemiológicos foram emitidos pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) e pela OMS em vista do surgimento e aumento de bactérias clinicamente relevantes resistentes aos carbapenêmicos coproduzindo β -lactamases na América Latina e no Caribe, o que tem sido relacionado ao aumento do uso de antibióticos de amplo espectro em pacientes com COVID-19. Estas preocupações enfatizam a importância do diagnóstico microbiológico adequado e da implantação eficaz e articulada de programas de prevenção e controle de infecções (Beovic *et al.* 2020; OPAS/OMS 2021).

Todavia, 58,7% dos pacientes foram a óbito, com destaque para cepas de *A. baumannii* que apresentaram uma alta taxa de mortalidade (91,7%), representando o pior desfecho entre os microorganismos estudados, o que concorda com achados de Rangel *et al.*, 2021.

Notavelmente, a maioria das cepas isoladas em nossa pesquisa tinha um padrão MDR o que corrobora com outros achados, que descrevem uma incidência de infecções MDR em pacientes gravemente enfermos com COVID-19 variando entre 32% a 50% (Bogossian *et al.*, 2020; Giacobbe *et al.*, 2020; Cultrera *et al.*, 2021; Grasselli *et al.*, 2021; Karruli *et al.*, 2021; Garcia-Vidal *et al.*, 2021).

Destaca-se por fim, a importância da administração imediata de antibióticos de acordo com os relatórios de sensibilidade aos antimicrobianos no protocolo terapêutico de pacientes com COVID-19 e coinfeções bacterianas.

Conclusão

Os resultados desse estudo sugerem que pacientes com COVID-19 diagnosticados com coinfeções por bactérias multiresistentes durante os períodos de hospitalização podem aumentar significativamente a taxa de morbimortalidade, levando a desfechos desfavoráveis. Dentre essas bactérias, *K. pneumoniae* foi a mais frequentemente isolada entre esses pacientes assistidos no HRN, sendo mais acometidos pacientes do gênero feminino, mais idosos e internados na UTI.

A taxa de resistência antimicrobiana apresentou-se consideravelmente elevada em BGN isolados desses pacientes no hospital analisado, principalmente a antimicrobianos beta-lactâmicos, como os carbapenêmicos Imipenem e Meropenem. Por outro lado, o Aztreonam parece ser o antibiótico de escolha para tratar infecções por *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*. Além disso, o mecanismo de resistência mais frequentemente observado foi a produção de carbapenemases, notadamente do tipo KPC e OXA-23.

Portanto, esses dados poderão ser úteis para a geração de informações importantes no controle da disseminação desses patógenos, implicando diretamente nos eixos de segurança do paciente e melhorando a qualidade da assistência. Contudo, mais estudos se fazem necessários para investigar a incidência, prevalência, distribuição microbiológica e características de coinfeções bacterianas em pacientes com diagnóstico de COVID-19, a fim de identificar futuras oportunidades de prevenção.

Conflito de interesses

Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Referências

- Al Atrouni A, Hamze M, Jisr T. *et al.* Wide spread of OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to clonal complex II in different hospitals in Lebanon. *Int J Infect Dis*. 2016;52:29–36.
- Alhoufie ST, Mumena WA, Alsharif N, *et al.* Epidemiological characteristics and outcome predictors for patients with COVID-19 in an intensive care unit in Al-Madinah, Saudi Arabia. Retrospective cohort study. *Infect drug resistance*. 2023;16:5573-5586. Doi:org/10.2147/IDR.S419724.
- Alvares, Flávia Allegretti *et al.* Pneumonia associated with mechanical ventilation: incidence, microbial etiology and antimicrobial resistance profile. *Journal of Epidemiology and Infection Control*, [s. l.], v. 11, ed. 4, 2021. Doi:org/10.17058/reci.v11i4.16781.
- Arcari G, Raponi G, Sacco F *et al.* *Klebsiella pneumoniae* infections in COVID-19 patients: a 2-month retrospective analysis in an Italian hospital. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 Jan;57(1):106245. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106245.
- Aziz S, Arabi YM, Alhazzani W, *et al.* Managing ICU surge during the COVID-19 crisis: rapid guidelines. *Intensive Medicine*. 2020;46:1303–1325. doi: 10.1007/S00134-020-06092-5.
- Baidya, Sujataet *et al.* Biofilm Formation by Pathogens Causing Ventilator-Associated Pneumonia in Intensive Care Units in a Tertiary Hospital: An Armor for Refuge. *BioMed Research International*, [s. l.], v. 2021, 2021. DOI: [org/10.1155/2021/8817700](https://doi.org/10.1155/2021/8817700).
- Beovic B, Dousak M, Ferreira-Coimbra J, *et al.* 2020. Use of antibiotics in patients with COVID-19: an infectious 'snapshot' research from the International Disease Research Initiative (ID-IRI). *J Antimicrob Chemother* 75:3386–3390.
- BIOMÉRIEUX. VITEK® 2 Disponible Poirel L, Patron A, Nordmann P. 2012. OXA-48-like carbapenemases: the phantom threat. *J. Antimicrobial. Chemotherapy*. 67 : 1597–1606. Doi: [10.1093/jac/dks121](https://doi.org/10.1093/jac/dks121). Himedia® (BHI) Disponible em www.himedialabs.com/us/catalogsearch/result/?categoryids=&q=infus%C3%A3o+de+cerebro+e+cora%C3%A7%C3%A3o+bhi. Acesso em: 04 de Março. 2021.
- Bogossian, E.G.; Taccone, F.S.; Izzi, A.; *et al.* The Acquisition of Multidrug-Resistant Bacteria in Patients Admitted to COVID-19 Intensive Care Units: A Monocentric Retrospective Case Control Study. *Microorganisms* 2020, 8, 1821.
- Brito, E. H. S. *et al.* PCR-AGE, automated and manual methods to identify *Candida* strains from veterinary sources: a comparative approach. *Veterinary microbiology*, v. 139, n. 3-4, p. 318-322, 2009.
- Carvalho, K. R., Carvalho-Assef, A. P. D (2011). Occurrence of blaOXA-23 gene in imipenem-susceptible *Acinetobacter baumannii*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(4), 505–506. Doi:org/10.1590/S0074-02762011000400020.

Casale R, Bianco G, Bastos P *et al.* Prevalence and Impact on Mortality of Colonization and Super-Infection by Carbapenem-Resistant Gram-Negative Organisms in COVID-19 Hospitalized Patients. *Viruses*. 2023 Sep 15;15(9):1934. doi: 10.3390/v15091934.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *Antibiotic Resistance Threats in the United States*, 2019; US Department of Health and Human Services, **CDC**: Atlanta, GA, EUA, 2019.

l em: <http://www.biomerieux.com.br/produto/vitekr-2>. Acesso em: 04 de Março. 2021.

Comini, S. Bianco, G. Boattini, M. *et al.* C. Evaluation of the Amplex eazyplex Super-Bug Acineto test for direct detection of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections in high endemicity settings. *J. Hosp. Infect.* 2021, 117, 179–181.

Cultrera, R.; Barozzi, A.; Libanore, M, *et al.* Co-Infections in Critically Ill Patients with or without COVID-19: A Comparison of Clinical Microbial Culture Findings. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021, 18, 4358.

European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). *Algorithm for managing contacts of probable or confirmed cases of covid-19*. 2020. Accessed: February 25, 2022]. US Department of Health and Human Services, ECDC: Available em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/algorithm-management-contacts-probableor-confirmed-covid-19-cases> (acessado em 22 de janeiro de 2022).

Exner M. *et al.* Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hyg Infect Control*. 2017;12: Doc05.

Founou RC, Founou LL, Essack SY. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoSUm*. 2017; 12.

Garcia-Vidal, C.; Sanjuan, G.; Moreno-Garcia, E, *et al.* Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: A retrospective cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021, 27, 83–88.

Giacobbe, D.R.; Battaglini, D.; Ball, L, *et al.* Bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. *Eur. J. Clin. Investig.* 2020, 50, e13319.

Grasselli, G. *et al.* "Hospital-acquired infections in critically ill patients with COVID-19." *Chest* 160.2 (2021): 454-465. Doi.org/10.1016/j.chest.2021.04.002.

Gysin, Marinaet *et al.* Antimicrobial susceptibility patterns of respiratory Gram-negative bacterial isolates from COVID-19 patients in Switzerland. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, [s. l.], v. 20, n. 64, 2021. DOI <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00468-1>.

Harding, C. M. *et al.* Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat. Rev. Microbiol*, v. 16, n. 2, p. 91-102, 2018.

Jie Li, Wang J, Yang Y, *et al.* Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective

analysis. *Resistant Infected Control Antimicrob.* 2020;9:153. doi.org/10.1186/s13756-020-00819-110.1186/s13756-020-00819.

Karruli, A.; Boccia, F.; Gagliardi, M, *et al.* Multidrug-Resistant Infections and Outcome of Critically Ill Patients with Coronavirus Disease 2019: A Single Center Experience. *Microb. Drug Resist.* 2021.

Khurana S, Singh P, Sharad N. *et al.* Profile of co-infections & secondary infections in COVID-19 patients at a dedicated COVID-19 facility of a tertiary care Indian hospital: Implication on antimicrobial resistance. *Indian J Med Microbiol.* 2021 Apr;39(2):147-153. doi: 10.1016/j.ijmmb.2020.10.014.

Kooti S, Motamedifar M, Sarvari J. Antibiotic Resistance Profile and Distribution of Oxacillinase Genes Among Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* in Shiraz Teaching Hospitals, 2012 - 2013. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8(8):e20215.

Kumar G, Adams A, Herrera M. *et al.* Predictors and outcomes of healthcare-associated infections in COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2021 Mar;104:287-292. doi: 10.1016/j.ijid.2020.11.135.

Labarca, J.A. *et al.* M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(2):276-92.

Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020 Aug;81(2):266-275. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.

Lincopan N, Mcculloch JA, Reinert C *et al.* First isolation of metallo-beta-lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. *J Clin Microbiol.* 2005; 43 (1): 516-519.

Martins, A.F.; Barth, A.L. *Acinetobacter* spp. multidrug resistant—a challenge for public health. *Scientia Medica*, v. 23, n. 1, p. 56-62, 2013.

Mędrzycka-Dąbrowska W, Lange S, Zorena K, *et al.* Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infections in ICU COVID-19 Patients-A Scoping Review. *J Clin Med.* 2021 May 12;10(10):2067. Doi:10.3390/jcm10102067.

Organização Mundial de Saúde. Vigilância da Resistência Antimicrobiana na Europa Dados 2022–2020; Organização Mundial da Saúde (OMS): Genebra, Suíça, 2022.

Organização Pan-Americana da Saúde. 2021. Alerta epidemiológico: emergência e aumento de novas combinações de carbapenemases em Enterobacterales na América Latina e no Caribe, 22 de outubro de 2021. OPAS/OMS, Washington, DC <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-alert-emergência-e-aumento-de-novas-combinações-carbapenemases> .

Pascale, R, Bussini, L, Gaibani, P *et al.* Carbapenem-resistant bacteria in an intensive care unit during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A multicenter before-and-after cross-sectional study. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2022, 43, 461–466.

Pinheiro, C. V. F. **Estudo da diversidade genômica associada à resistência antimicrobiana de bacilos gram-negativos não fermentadores isolados de pacientes internados no hospital Regional Norte em Sobral – Ce.** Dissertação (Mestrado Ciências da Saúde) - Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2023).

Pitout, J. D., Peirano, G., Kock, M. M., Strydom, K. A., & Matsumura, Y. (2019). The global ascendancy of OXA-48-type carbapenemases. *Clinical microbiology reviews*, 33(1), 10-1128..

Poirel L, Potron A, Nordmann P (2012) OXA-48-like carbapenemases: the phantom threat. *J Antimicrob Chemother* 67(7):1597–1606. Doi.org/10.1093/jac/dks121.

Prestinaci F, Pezzotti P, pantosti A. Antimicrobial resistance: a multifaceted global phenomenon. *Pathog Glob Saúde*. 2016; 109 (7):309.

Qu J, Cai Z, Liu Y *et al.* Persistent bacterial co-infection of a "Patient with COVID-19 caused by a genetically adapted *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonizer". *Front Cell Infect Microbiol* 2021;11:641920. Doi.org/10.3389/fcimb.2021.641920.

Ramadan HK, Mahmoud MA, Aburahma MZ *et al.* Predictors of Severity and Co-Infection Resistance Profile in COVID-19 Patients: First Report from Upper Egypt. *Infect Drug Resist.* 2020 Oct 5;13:3409-3422. doi: 10.2147/IDR.S272605.

Rawson, T M, Moore, LSP, Zhu. *et al.* Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clin Infect Dis.* 2020 Dec 3;71(9):2459-2468.

Rocha, F. R. **Análise molecular da prevalência dos genes beta-lactamases blaCTX-M, blaSHV e blaTEM em Klebsiella pneumoniae isoladas de pacientes com diagnóstico de infecção hospitalar na Santa Casa de Misericórdia de Sobral, Ceará.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2015.

Sader HS *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized with pneumonia in US and European hospitals: results from the Antimicrobial Surveillance Program SENTRY, 2009-2012. *Agentes Antimicrobianos Int J.* 2014, 43:328-334. 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.007.

Sathyakamala R, Peace AR, Shanmugam P. A Comparative Study on Bacterial Co-Infections and Prevalence of Multidrug Resistant Organisms among Patients in COVID and Non-COVID Intensive Care Units. *J Prev Med Hyg.* 2022. Apr 26;63(1):E19-E26. doi: 10.15167/2421-4248.

Singh S, Pathak A, Fatima N, Sahu C, Prasad KN. Characterisation of OXA-48-like carbapenemases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from North India. *Biotech.* 2023 May;13(5):134. doi: 10.1007/s13205-023-03537-8.

Titov, I., Wunderink, R. G., Roquilly, A., Rodríguez Gonzalez, D., David-Wang, A., Boucher, H. W., ... & Chen, L. F. (2021). A randomized, double-blind, multicenter trial comparing efficacy and safety of imipenem/cilastatin/relebactam versus

piperacillin/tazobactam in adults with hospital-acquired or ventilator-associated bacterial pneumonia (RESTORE-IMI 2 Study). *Clinical Infectious Diseases*, 73(11), e4539-e4548.
Vijay, S, Bansal, N, Rao, BK *et al.* Secondary infections in hospitalized patients with COVID-19: Indian experience. *Infect Drug Resistance*. 2021 , 14 , 1893–1903.

Yang X, Yu Y, Xu J, *et al.* Clinical evolution and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a retrospective, single-center observational study. *Respir Med Lancet*. 2020;8:475–481. doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5.

Yang, X. *et al.* Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from lower respiratory tract of ICU patients. *Brazilian Journal of Biology*, n. AHEAD, 2020.

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., ... & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England journal of medicine*, 382(8), 727-733.

Tabela 1 - Primers para amplificação dos Genes.

Gene alvo	Sequência de Primers	Amplicon (pb)	Referência
<i>NDM-1</i>	Forward,5'-CAGCGCAGCTTGTCG-3' Reverse,5'-TCGCGAAGCTGAGCA-3'	784	[1]
<i>KPC</i>	Forward,5'-CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG-3', Reverse,5'-CTTGTCATCCTTGTTAGGCG-3'	798	[2]
<i>OXA-23</i>	Forward,5'-GATCGGATTGGAGAACAGA-3' Reverse,5'-ATTTCTGACCGCATTTCCAT-3'	501	[3]
<i>OXA-48</i>	Forward,5'-TTGGTGGCATGGATTATCGG-3' Reverse,5'- GAGCACTTCTTTTGTGATGGC-3'	743	[4]

pb= pares de base.

Fonte: 1 - Peirano *et al.*, 2011; 2 - Poirel *et al.*, 2011; 3 - MA *et al.*, 2015. 4 -Poirel *et al.*, 2012.

Tabela 2 - Frequência de microrganismos e perfil epidemiológico dos pacientes internados com COVID-19 e Coinfecção bacteriana no HRN.

Microorganismos	n=46	100%
<i>K. pneumoniae</i>	18	39,1%
<i>A. Baumannii</i>	12	26,1%
<i>P. aeruginosa</i>	12	26,1%
<i>S. maltophilia</i>	4	8,7%
Gênero		
Feminino	28	60,9%
Masculino	18	39,1%
Idade		
0 a 20	5	10,9%
21 a 40	7	15,2%
41 a 60	12	26,1%
61 a 80	18	39,1%
> 80	4	8,7%
Diagnóstico de admissão		
Infecção COVID	44	95,7%
GECA*	1	2,2%
Pneumonia	1	2,2%
Setor de hospitalização		
UTI COVID	27	58,7%
Hospital Campanha	3	6,5%
Clínica COVID	3	6,5%
Inter 3	10	21,7%
Inter 2	1	2,2%
UTI pediátrica	2	4,3%
Sítio de origem		
Aspirado traqueal	22	47,8%
Sangue	5	10,9%
Hemocultura	8	17,4%
Urina	5	10,9%
Lavado bronquico	4	8,7%
Fragmento de tecido	2	4,3%
IRAS		
Sim	23	50%
Não	23	50%

*GECA: Gastroenterocolite Aguda.

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

Tabela 3 - Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana de isolados de pacientes internados com COVID-19 e Coinfecção bacteriana no HRN.

	<i>K. pneumoniae</i>			<i>A. baumannii</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>S. maltophilia</i>			<i>P-Valor</i>
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	
Amicacina	22,2%	66,7%	11,1%	83,3%	16,7%	-	41,7%	50%	-	-	-	-	
Gentamicina	56,6%	38,9%	-	-	-	-	41,7%	8,3%	8,3%	-	-	-	
Cefto/Tazo	50%	17,7%	-	-	-	-	50%	17,7%	-	-	-	-	0,004
Ceftriaxona	55,6%	22,2%	-	-	-	-	33,3%	16,7%	-	-	-	-	0,002
Ceftazidima	77,8%	16,7%	-	-	-	-	66,7%	16,7%	16,7%	-	-	-	
Cefepime	66,7%	27,8%	-	-	-	-	66,7%	8,3%	25%	-	-	-	
Pipe-Tazo	27,8%	44,4%	5,6%	91,7%	-	-	75%	-	25%	-	-	-	
Imipenem	38,9%	61,1%	-	100%	-	-	75%	-	25%	-	-	-	
Meropenem	61,1%	33,3%	5,6%	8,3%	-	-	50%	33,3%	8,3%	-	-	-	
Ciprofloxacino	61,1%	27,8%	-	-	-	-	50%	8,3%	25%	-	-	-	
Ampicilina	38,9%	27,8%	-	-	-	-	33,3%	8,3%	-	-	-	-	0,008
Aztreonam	16,7%	50%	-	-	91,7%	-	-	58,3%	-	-	-	-	0,009
Colistina	38,9%	50%	-	83,3%	16,7%	-	58,3%	33,3%	-	-	25%	-	0,002
Levofloxacina	55,6%	27,8%	11,1%	-	-	-	58,3%	8,3%	8,3%	25%	25%	-	
Tigeciclina	27,8%	33,3%	5,6%	91,7%	-	-	41,7%	8,3%	-	25%	-	-	0,017
Ertapenem	44,4%	50%	-	41,7%	50%	-	16,7%	41,7%	-	-	-	-	0,002
Tobramicina	55,5%	16,7%	-	83,3%	16,7%	-	33,3%	8,3%	-	-	25%	-	
Trimeto/Sul	50%	33,3%	-	33,3%	16,7%	-	25%	33,3%	-	25%	25%	-	

*Cefto/Tazo= Ceftolozane/Tazobactam; Pipe/Tazo= Piperacilina/Tazobactam; Trimeto/Sul= Trimetoprima/Sulfametazol.

Fonte: Dados analisados através do software SPSS v20.0, (2022).

Relatórios gerados pelo sistema de identificação automatizado Bacillus Gram-negativo GN, VITEK® 2 (BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France).

Tabela 4 - Genes de resistência detectados em isolados de pacientes com COVID-19 e Coinfecção bacteriana no HRN.

Microrganismo	TOTAL	<i>bla</i> -KPC		p-valor	<i>bla</i> -NDM 1		p-valor	<i>bla</i> -OXA 23		p-valor	<i>bla</i> -OXA 48		p-valor
		Presente	Ausente		Presente	Ausente		Presente	Ausente		Presente	Ausente	
<i>K. pneumoniae</i>	18 (39,1%)	14 (45,2%)	4 (26,7%)	0,178	3 (42,9%)	15 (38,5%)	0,114	6 (23,1%)	12 (60,0%)	0,018	10 (71,4%)	8 (25,0%)	0,026
<i>A. baumannii</i>	12 (26,1%)	9 (29,0%)	3 (20,0%)		0 (0,0%)	12 (30,8%)		11 (42,3%)	1 (5,0%)		1 (7,1%)	11 (34,4%)	
<i>P. aeruginosa</i>	12 (26,1%)	7 (22,6%)	5 (33,3%)		2 (28,6%)	10 (25,6%)		7 (26,9%)	5 (25,0%)		2 (14,3%)	10 (31,3%)	
<i>S. maltophilia</i>	4 (8,7%)	1 (3,2%)	3 (20,0%)		2 (28,6%)	2 (5,1%)		2 (7,7%)	2 (10,0%)		1 (7,1%)	3 (9,4%)	

Fonte: Dados analisados através do software SPSS v20.0, (2022)

Tabela 5 - Correlação da presença dos genes *bla*_{KPC} e *bla*_{OXA-23} com resistência a antibióticos em isolados clínicos de pacientes internados com COVID-19 no HRN.

Gene	Microrganismos					
	<i>K. pneumoniae</i> n=14	P-valor	<i>A. baumannii</i> n=11	P-valor	<i>P. aeruginosa</i> n=7	P-valor
<i>bla</i> _{KPC}	MER 10 (71,4%) IMI 7 (50%) ERT 7 (50%) CAZ 11 (78,6%)	0,375	–	0,002	IMI; PIP/TAZ 6 (85,7%)	0,125
<i>bla</i> _{OXA-23}	–		COL 10 (91%) IMI; TIG; PIP/TAZ 11 (100%)		IMI 6 (85,7%)	

*MER (Meropenem), IMI (Imipenem), ERT (Ertapenem), CAZ (Ceftazidima), CFP (Cefepima), COL (Colistina), PIP/TAZ (Piperacilina/Tazobactam), TIG (Tigeciclina).

Fonte: Dados analisados através do software SPSS v20.0, (2022).

Tabela 6 - Relação dos isolados dos pacientes internados com COVID-19 no HRN com coexistência de genes de resistência e antimicrobianos.

Amostra	Genes <i>Bla</i> detectados	MER	IMI	COL	Setor
3K	KPC; OXA-23; OXA-48	R	S	S	UTI COVID
4K	KPC; OXA-23; NDM-1	R	R	R	UTI COVID
5K	KPC; OXA-48; NDM-1	R	R	R	UTI COVID
8K	KPC; OXA-23; NDM-1	R	S	R	HOSP CAMP
17K	KPC; OXA-23; OXA-48	R	R	S	UTI COVID
7A	KPC; OXA-23; OXA-48	I	R	R	UTI COVID
5P	KPC; OXA-48; NDM-1	S	R	R	INTER 3

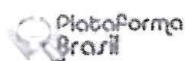
*R= Resistente; S= Sensível; I= Intermediário; MER= Meropenem; IMI= Imipenem; COL= Colistina; HOSP CAMP= Hospital Campanha; INTER 3= Intermediária 3; K=*K. pneumoniae*; A=*A. baumannii*; P=*P. aeruginosa*.

Tabela 7 - Desfecho clínico dos pacientes internados com COVID-19 e coinfeção no HRN por BGN.

Óbito	Total	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>A.</i> <i>baumannii</i>	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i>	<i>S.</i> <i>maltophilia</i>	<i>P-valor</i>
SIM	27 (58,7%)	8 (44,4%)	11 (91,7%)	6 (50%)	2 (50%)	0,061
NÃO	19 (41,3%)	10 (55,6%)	1 (8,3%)	6 (50%)	2 (50%)	
Total	46 (100%)	18 (39,1)	12 (26,1%)	12 (26,1%)	4 (8,7%)	

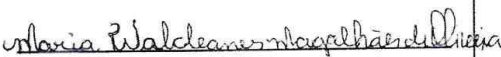

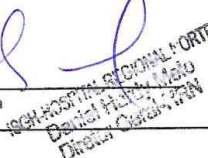
Fonte: Dados analisados através do software SPSS v20.0, (2022).

ANEXO 01



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE PACIENTES COM COVID-19 INTERNADOS NUM HOSPITAL DE ENSINO DA REGIÃO NORTE DO CEARÁ			
2. Número de Participantes da Pesquisa: 100			
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 2. Ciências Biológicas , Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: MARIA WALCLEANES MAGALHAES DE OLIVEIRA			
6. CPF: 820.352.703-59		7. Endereço (Rua, n.º): JOSE CARLITO DE SOUSA CIDADE PEDRO MENDES CARNEIRO SOBRAL CEARA 62030555	
8. Nacionalidade: BRASILEIRO		9. Telefone: (88) 3677-4287	10. Outro Telefone:
		11. Email: valldocinho2@hotmail.com	
<p>Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.</p>			
Data: <u>22 / 11 / 2021</u>		 Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
12. Nome: INSTITUTO DE SAUDE E GESTAO		13. CNPJ: 05.268.526/0007-66	14. Unidade/Orgão: INSTITUTO DE SAUDE E GESTAO HOSPITALAR
15. Telefone: (85) 3216-8332		16. Outro Telefone:	
<p>Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.</p>			
Responsável: <u>Dania Hanoy Maw</u>		CPF: <u>137 985 918-22</u>	
Cargo/Função: <u>Dirctor GEM</u>		 Assinatura	
Data: <u>23 / 11 / 2021</u>			
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			

ANEXO 02



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÔMICA ASSOCIADA À RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM ENTEROBÁCTERIAS E *Pseudomonas* sp. ISOLADAS DE PACIENTES ASSISTIDOS NUM HOSPITAL DE GRANDE PORTE NO NORTE DO CEARÁ

Pesquisador: CARLOS VICTOR FONTENELE PINHEIRO

Área Temática:

Versão: 2

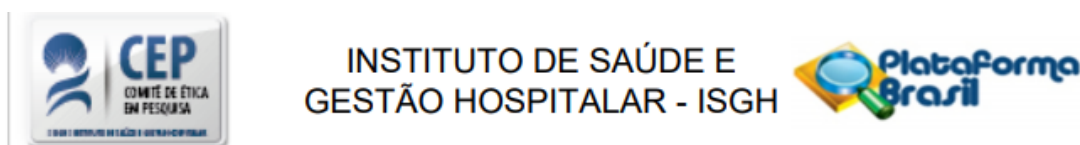
CAAE: 35097420.7.0000.5684

Instituição Proponente: INSTITUTO DE SAUDE E GESTAO HOSPITALAR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.313.543



Continuação do Parecer: 4.313.543

Cronograma	Cronograma.pdf	08:35:57	FONTENELE PINHEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	05/06/2020 08:35:12	CARLOS VICTOR FONTENELE PINHEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 01 de Outubro de 2020

Assinado por:
Jamille Soares Moreira Alves
(Coordenador(a))

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, Iain *et al.* Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 11, n. 4, p. 395-409, 2013.
- ADEGOKE, Anthony A.; STENSTRÖM, Thor A.; OKOH, Anthony I. *Stenotrophomonas maltophilia* as an emerging ubiquitous pathogen: looking beyond contemporary antibiotic therapy. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2276, 2017.
- AGHAPOUR, Zahra *et al.* Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. **Infection and drug resistance**, p. 965-975, 2019.
- ALHAZZANI, Waleed *et al.* Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Intensive care medicine**, v. 46, n. 5, p. 854-887, 2020.
- ALVAREZ, M. *et al.* Epidemiology of conjugative plasmid-mediated AmpC β -lactamases in the United States. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 48, n. 2, p. 533-537, 2004.
- ALVES, Adelaide *et al.* Factors associated with colonization and infection by Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae. 2018.
- ARCARI, Gabriele *et al.* *Klebsiella pneumoniae* infections in COVID-19 patients: a 2-month retrospective analysis in an Italian hospital. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 57, n. 1, p. 106245, 2021.
- AMBLER, R. The structure of β -lactamases Phil. **Trans. R. Soc. Lond**, v. 289, p. 321-331, 1980.
- ANNAVAJHALA, Medini K.; GOMEZ-SIMMONDS, Angela; UHLEMANN, Anne-Catrin. Multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* complex emerging as a global, diversifying threat. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 44, 2019.
- ÅRDAL, Christine *et al.* Antibiotic development—economic, regulatory and societal challenges. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 267-274, 2020.
- ARCANJO, Rafaela; OLIVEIRA, Adriana. Fatores associados à colonização axilar por microrganismo resistente em pacientes na unidade de terapia intensiva. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 15, n. 51, p. 11-17, 2017.
- ARRUDA, Camila Janaina Manguera *et al.* Revisão bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. 2019.
- BACKER, Jantien A.; KLINKENBERG, Don; WALLINGA, Jacco. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 5, p. 2000062, 2020.
- BĂLĂȘOIU, Maria *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* resistance phenotypes and phenotypic

highlighting methods. **Current health sciences journal**, v. 40, n. 2, p. 85, 2014.

BASSETTI, Matteo et al. Treatment of infections due to MDR Gram-negative bacteria. **Frontiers in medicine**, v. 6, p. 74, 2019.

BIOMÉRIEUX. **VITEK[®] 2** Disponível em: <http://www.biomerieux.com.br/produto/vitek-2>. Acesso em: 04 de janeiro. 2021.

BOO, T. W.; WALSH, Fiona; CROWLEY, B. First report of OXA-23 carbapenemase in clinical isolates of *Acinetobacter species* in the Irish Republic. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 1101-1102, 2006.

BOOLCHANDANI, Manish; D'SOUZA, Alaric W.; DANTAS, Gautam. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance. **Nature Reviews Genetics**, v. 20, n. 6, p. 356-370, 2019.

BONOMO, Robert A. *et al.* Carbapenemase-producing organisms: a global scourge. **Clinical infectious diseases**, v. 66, n. 8, p. 1290-1297, 2018.

BRAGA, J. M.; Prevalência e sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* e *klebsiella pneumoniae* isoladas de infecções nosocomiais no hospital regional norte em sobral/ce e detecção genética de blatem, blashv blactx-m e blages em espécimes produtores de betalactamase de espectro estendido (esbl). 2016. 101f. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)** – *Campus* de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2016.

BRASIL, Anvisa. **Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 20**: Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência microbiana do ano de 2018. ANVISA, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 2616, **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de maio de 1998. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html> Acesso em set. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coronavírus Brasil [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2020 [citado 2020 jun 22]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>

BRITO, I. L. P.; Diversidade genômica de isolados nosocomiais de *Actinetobacter baumannii* multirresistentes produtores de carbapenemases em hospitais de ensino do Ceará. 2018. 97 F. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)** - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2018.

BROOKE, Joanna S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 1, p. 2-41, 2012.

BROOKS, G.F. *et al.* **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. McGraw Hill Brasil, 2012.

BROWN, Susan; AMYES, Sebastian. OXA β -lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 1-3, 2006.

- BUSH, Karen. Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. **Clinical microbiology reviews**, v. 1, n. 1, p. 109-123, 1988.
- BUSH, KAREN. Excitement in the β -lactamase arena. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 24, n. 6, p. 831-836, 1989.
- BUSH, Karen; JACOBY, George A.; MEDEIROS, Antone A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 39, n. 6, p. 1211-1233, 1995.
- BUSH, Karen; ELIOPOULOS, George M. New β -lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 7, p. 1085-1089, 2001.
- BUSH, Karen. Bench-to-bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. **Critical Care**, v. 14, n. 3, p. 1-8, 2010.
- BUSH, Karen; JACOBY, George A. Updated functional classification of β -lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969-976, 2010.
- CABASSI, CS *et al.*, S. Activity of AMP2041 against human and animal multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. **Ana Clin. Microbiol. Antimicrobiano**. 2017, 16, 17.
- CARMO JUNIOR, Nelson Vieira do *et al.* First report of a NDM-producing *Providencia rettgeri* strain in the state of São Paulo. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, p. 675-676, 2015.
- CARMODY, Lisa A.; SPILKER, Theodore; LIPUMA, John J. Reassessment of *Stenotrophomonas maltophilia* phenotype. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 3, p. 1101-1103, 2011.
- CARVALHO-ASSEF, Ana Paula D.'Alincourt *et al.* Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 12, p. 2956-2957, 2013.
- CASELLI, Emilia *et al.* Energetic, structural, and antimicrobial analyses of β -lactam side chain recognition by β -lactamases. **Chemistry & biology**, v. 8, n. 1, p. 17-31, 2001.
- CASTANHEIRA, Mariana; SIMNER, Patricia J.; BRADFORD, Patricia A. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. **JAC-antimicrobial resistance**, v. 3, n. 3, p. dlab092, 2021.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *Antibiotic Resistance Threats in the United States*, 2019; US Department of Health and Human Services, CDC: Atlanta, GA, EUA, 2019.
- CHAMBERS, H.F. Beta-lactam antibiotics and other antibiotics active on the cell wall and cell membrane. In: KATZUNG (Ed.). **Farmacologia Básica e Clínica**. 10. ed. São Paulo: Amgh, 2010. 654-670 p.

CHEN, Chien-Yuan *et al.* Clinical and microbiological characteristics of bloodstream infections among patients with haematological malignancies with and without neutropenia at a medical centre in northern Taiwan, 2008–2013. **International journal of antimicrobial agents**, v. 49, n. 3, p. 272-281, 2017.

CHEN, Nanshan *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507-513, 2020.

CHU, Daniel KW *et al.* Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia. **Clinical chemistry**, v. 66, n. 4, p. 549-555, 2020.

CIOTTI, Marco *et al.* The COVID-19 pandemic. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 57, n. 6, p. 365-388, 2020.

COENYE, Tom *et al.* *Stenotrophomonas africana* Drancourt *et al.* 1997 is a later synonym of *Stenotrophomonas maltophilia* (Hugh 1981) Palleroni and Bradbury 1993. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 54, n. 4, p. 1235-1237, 2004.

CORMAN, Victor M. *et al.* Hosts and sources of endemic human coronaviruses. **Advances in virus research**, v. 100, p. 163-188, 2018.

CORNAGLIA, Giuseppe; GIAMARELLOU, Helen; ROSSOLINI, Gian Maria. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? **The Lancet infectious diseases**, v. 11, n. 5, p. 381-393, 2011.

CRISTINA, Maria L. *et al.* Epidemiology, management, and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in hospitals within the same endemic metropolitan area. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 2, p. 171-177, 2018.

CRONE, Stephanie *et al.* The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. **Apmis**, v. 128, n. 3, p. 220-231, 2020.

CZEKAJ, Tomasz *et al.* *Klebsiella pneumoniae* NDM–new emerging superbacteria. **Medycyna Rodzinna**, 2015.

DENTON, Miles; KERR, Kevin G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 1, p. 57-80, 1998.

DROPA, Milena *et al.* Extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae isolated in a public hospital in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 51, p. 203-209, 2009.

DU, Rong-Hui *et al.* Hospitalization and critical care of 109 decedents with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 17, n. 7, p. 839-846, 2020.

ECKBURG, Paul B. *et al.* Safety, tolerability, pharmacokinetics, and drug interaction potential of SPR741, an intravenous potentiator, after single and multiple ascending doses and when combined with β -lactam antibiotics in healthy subjects. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 9, p. 10.1128/aac. 00892-19, 2019.

ELLINGTON, Matthew J. *et al.* Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 321-322, 2007.

EUROPEAN CENTER FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). *Algorithm for managing contacts of probable or confirmed cases of covid-19*. 2020. Acesso: 25 de fevereiro de 2022]. Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, **ECDC**: Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/algorithm-management-contacts-probableor-confirmed-covid-19-cases> (acessado em 22 de janeiro de 2022).

EUROPEAN CENTER FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). *Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals*. Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, **ECDC**: Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-PPS.pdf> (acessado em 22 de janeiro de 2022).

EXNER, Martin *et al.* Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria?. **GMS hygiene and infection control**, v. 12, 2017.

FARIA, de R. *et al.* Antimicrobial resistance profile of the Beta-lactams and Aminoglycosides class in *Escherichia coli* strains isolated between January 2015 and December 2018 Brazilian **Journal of Development**, v. 8, no. 7, p. 51673-51691, 2022.

FOUNOU, Raspail Carrel; FOUNOU, Luria Leslie; ESSACK, Sabiha Yusuf. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e0189621, 2017.

FRANCO, Maria Renata Gomes *et al.* Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. **Clinics**, v. 65, n. 9, p. 825-829, 2010.

FUNKE, Guido *et al.* Evaluation of the VITEK2 system for rapid identification of medically relevant gram-negative rods. **Journal of clinical microbiology**, v. 36, n. 7, p. 1948-1952, 1998.

GARCIA-VIDAL, Carolina *et al.* Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 1, p. 83-88, 2021.

GELLATLY, Shaan L.; HANCOCK, Robert EW. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. **Pathogens and disease**, v. 67, n. 3, p. 159-173, 2013.

GIL-GIL, Teresa; MARTÍNEZ, José Luis; BLANCO, Paula. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge. **Expert Review**

of **Anti-infective Therapy**, v. 18, n. 4, p. 335-347, 2020.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica, tradução da 10ª edição original, Carla de Mello Vorsatz et al. **Rio de Janeiro: McGraw-Hill**, 2005.

GILLIGAN, Peter H. *et al.* *Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea, and Acidovorax*. In: **Manual of clinical microbiology**. ASM press, 2003. p. 729-748.

GUILLON, Antoine *et al.* Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm present in endotracheal tubes by poly-L-lysine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 11, p. 10.1128/aac.00564-18, 2018.

GUO, Yan-Rong *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. **Military medical research**, v. 7, p. 1-10, 2020.

HAEGGMAN, S. *et al.* Diversity and evolution of the class A chromosomal beta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 48, n. 7, p. 2400-2408, 2004.

HAENNI, Marisa *et al.* Population structure and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* from animal infections in France. **BMC veterinary research**, v. 11, n. 1, p. 1-5, 2015.

HAN, Qingmei *et al.* Uncertainties about the transmission routes of 2019 novel coronavirus. **Influenza and Other Respiratory Viruses**, v. 14, n. 4, p. 470, 2020.

HASHIMOTO, Takehiro *et al.* Risk factors for 30-day mortality among patients with *Stenotrophomonas maltophilia* bacteraemia. **Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. 440-442, 2020.

IBARAKI, Hisako *et al.* The effects of surface properties of liposomes on their activity against *Pseudomonas aeruginosa* PAO-1 biofilm. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 57, p. 101754, 2020.

HONG, Duck Jin *et al.* Epidemiology and characteristics of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. **Infection & chemotherapy**, v. 47, n. 2, p. 81-97, 2015.

HUANG, Chanyan *et al.* Clinical characteristics, treatment, and outcomes of critically ill patients with COVID-19: a scoping review. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier, 2021. p. 183-202.

HUI, David SC; ZUMLA, Alimuddin. Severe acute respiratory syndrome: historical, epidemiologic, and clinical features. **Infectious Disease Clinics**, v. 33, n. 4, p. 869-889, 2019.

IBM. **Statistical Package for the Social Sciences**. Disponível em <<https://www.ibm.com/br-pt/products/spss-statistics/pricing>>. Acesso 15 janeiro 2021.

IBRAHIM, Mutasim E. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* in Saudi Arabia: risk factors, antimicrobial resistance patterns and mechanisms of carbapenem resistance. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 18, n. 1, p. 1, 2019.

INFEZIONE E COLONIZZAZIONE DE PATOGENI MULTI-RESISTENTI NELL'ANZIANO IN RESIDENZE SANITARIE ASSISTENZIALI: Il Progetto **PAMURSA**. Disponível online: https://www.ars.toscana.it/images/eventi/2018/ATB_resistenze_6-7giu2018/3_Pamursa_Romano_Mattei_07_06_2018.pdf (acessado em 7 de agosto de 2020).

JIA, Xiaojiong *et al.* Retrospective analysis of hospital-acquired linezolid-nonsusceptible enterococci infection in Chongqing, China, 2011-2014. **American journal of infection control**, v. 43, n. 12, p. e101-e106, 2015.

JOHNSON, Alan P.; WOODFORD, Neil. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 4, p. 499-513, 2013.

KARAGEORGOPOULOS, Drosos E.; FALAGAS, Matthew E. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. **The Lancet infectious diseases**, v. 8, n. 12, p. 751-762, 2008.

KLEIN, Eili Y. *et al.* The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 10, n. 5, p. 394-403, 2020.

KOCH AM, *et al.* Mortality related to nosocomial infections in a tertiary hospital; cross-sectional studies repeated between 2004–2011. **Controle de infecções de resistência antimicrobiana**. 2015; **4** : 57

KOTB, Sara *et al.* Epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Egyptian intensive care units using National Healthcare-associated Infections Surveillance Data, 2011–2017. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2020.

KRITSOTAKIS, Evangelos I. *et al.* Prevalence, incidence burden, and clinical impact of healthcare-associated infections and antimicrobial resistance: a national prevalent cohort study in acute care hospitals in Greece. **Infection and drug resistance**, p. 317-328, 2017.

KUWAHARA, Masaatsu *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia associated with severe COVID-19: Successful treatment with appropriate antimicrobial therapy. **Cureus**, v. 14, n. 1, 2022.

KWA, Andrea *et al.* Independent predictors for mortality in patients with cultures positive for *Stenotrophomonas maltophilia*. **Ann Acad Med Singapura**. 2013, 37:826-830.

LAI, Chih-Cheng *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 3, p. 105924, 2020.

- LANSBURY, Louise *et al.* Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of infection**, v. 81, n. 2, p. 266-275, 2020.
- LAUER, Stephen A. *et al.* The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. **Annals of internal medicine**, v. 172, n. 9, p. 577-582, 2020.
- LEE, Chang-Ro *et al.* Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 7, p. 55, 2017.
- LEHMANN, Christopher J. *et al.* Community-acquired coinfection in coronavirus disease 2019: a retrospective observational experience. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 8, p. 1450-1452, 2021.
- LEUNG, Nancy HL *et al.* Respiratory Virus Shedding in Exhaled Breath and Efficacy of Face Masks (preprint). 2020.
- LEVY, C. E. Módulo V - Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Levy CE. **Manual de Microbiologia Clínica para o controle de infecção de serviços de saúde**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, p. 1-93, 2004.
- LI, Bei *et al.* Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. **Future microbiology**, v. 9, n. 9, p. 1071-1081, 2014.
- LIMA, Lidia Moreira *et al.* β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. **European journal of medicinal chemistry**, v. 208, p. 112829, 2020.
- LIN, Ming-Feng; LAN, Chung-Yu. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. **World Journal of Clinical Cases: WJCC**, v. 2, n. 12, p. 787, 2014.
- LINCOPAN, Nilton *et al.* First isolation of metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 516-519, 2005.
- LIVERMORE, David M. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 8, n. 4, p. 557-584, 1995.
- LOONEY, W. J. Role of *Stenotrophomonas maltophilia* in hospital-acquired infection. **British journal of biomedical science**, v. 62, n. 3, p. 145-154, 2005.
- MA, Z. *et al.* Investigations on the genomic diversity of OXA from isolated *Acinetobacter baumannii*. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 14711-14716, 2015.
- MALTEZOU, Helen C. Metallo- β -lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? **International journal of antimicrobial agents**, v. 33, n. 5, p. 405.e1-405. e7, 2009.
- MARTÍN-ASPAS, Andrés *et al.* Differential characteristics of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: risk factors, clinical picture, and mortality. **Infection and drug**

resistance, p. 861-872, 2018.

MARTIN, Rebekah M.; BACHMAN, Michael A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, p. 4, 2018.

MARTINS, Andreza Francisco; BARTH, Afonso Luís. Multidrug-resistant *Acinetobacter*—a challenge for public health [Abstract in English]. **Scientia Medica**, v. 23, n. 1, p. 56-62, 2013.

MATHERS, Amy J.; PEIRANO, Gisele; PITOUT, Johann DD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 565-591, 2015.

MONTEIRO, Jussimara *et al.* First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333, 2009.

MORENS, David M.; DASZAK, Peter; TAUBENBERGER, Jeffery K. Escaping Pandora's box—another novel coronavirus. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 14, p. 1293-1295, 2020.

MWANGI, James *et al.* The antimicrobial peptide ZY4 combats multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 52, p. 26516-26522, 2019.

NAIDU, Keshni *et al.* A descriptive study of nosocomial infections in an adult intensive care unit in Fiji: 2011-12. **Journal of tropical medicine**, v. 2014, 2014.

NETEA, Mihai G. *et al.* Trained immunity: a tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. **Cell**, v. 181, n. 5, p. 969-977, 2020.

NORDMANN, Patrice; POIREL, Laurent. Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in gram-negative bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. Supplement_7, p. S521-S528, 2019.

OELSCHLAEGER, Peter. β -Lactamases: Sequence, structure, function, and inhibition. **Biomolecules**, v. 11, n. 7, p. 986, 2021.

OLIVEIRA, D.V. ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS AMBIENTAIS DA FAMÍLIA Enterobacteriaceae QUANTO À PRESENÇA DE GENES DE RESISTÊNCIA A β -LACTÂMICOS. **Dissertação de Doutorado**. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2011. **Relatório sobre o fardo das infecções endêmicas associadas aos cuidados de saúde em todo o mundo**. OMS, Geneva 2011. Disponível:http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80135/9789241501507_eng.pdf?sequence=1 Acesso em: 17/06/2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2018. **Relatório sobre vigilância do consumo**

de antibióticos. OMS. Disponível <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/surveillance-system-manual/en/>. Acesso 10 janeiro 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019. **A detecção e notificação de resistência à colistina. OMS.** [s.l.], v. WHO/WSI/AM, p. 1–17, 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2020. **Doença por coronavírus 2019 (Covid-19): relatório de situação 51. OMS.** Geneva: 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331475/nCoVsitrep11Mar2020-eng.pdf>. Acesso 27/12/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2021. **Relatório sobre vigilância do consumo de antibióticos. OMS.** <https://www.who.int/publications/surveillance-system-manual/en/>. Acesso 15.03.2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2022. **Manejo clínico da COVID-19: orientação viva. OMS.** Geneva (2021).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2023. **Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS).** Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2023-oms-declara-fim-da-emergencia-saude-publica-importancia-internacional-referente>

PAEZ, JI Garcia; COSTA, S. F. Risk factors associated with mortality of infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review. **Journal of Hospital Infection**, v. 70, n. 2, p. 101-108, 2008.

PALMER, Gregory C.; WHITELEY, Marvin. Metabolism and pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* infections in the lungs of individuals with cystic fibrosis. **Metabolism and Bacterial Pathogenesis**, p. 185-213, 2015.

PALLERONI, Norberto J. The pseudomonas story. **Environmental microbiology**, v. 12, n. 6, p. 1377-1383, 2010.

PARKINS, Michael D.; SOMAYAJI, Ranjani; WATERS, Valerie J. Epidemiology, biology, and impact of clonal *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, p. 10.1128/cmr.00019-18, 2018.

PATERSON, David L. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. **American journal of infection control**, v. 34, n. 5, p. S20-S28, 2006.

PATERSON, David L.; BONOMO, Robert A. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. **Clinical microbiology reviews**, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.

PEIRANO, Gisele *et al.* Carbapenem-hydrolysing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 265-268, 2009.

PEIRANO, Gisele *et al.* New Delhi metallo- β -lactamase from traveler returning to Canada. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 2, p. 242, 2011.

PELEG, Anton Y.; SEIFERT, Harald; PATERSON, David L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. **Clinical microbiology reviews**, v. 21, n. 3, p. 538-582, 2008.

PEREZ, Stephen *et al.* Increase in hospital-acquired carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection and colonization in an acute care hospital during a surge in COVID-19 admissions—New Jersey, February–July 2020. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 48, p. 1827, 2020.

PERILLI, Mariagrazia *et al.* Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from an Italian nationwide survey. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 611-614, 2002.

PETRI, W. A. Penicillins, cephalosporins, and other β -lactam antibiotics. **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11st ed. USA: Mc Graw Hill, p. 1127-52, 2006.

PETERS, Brian M. *et al.* Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 1, p. 193-213, 2012.

PODSCHUN, Rainer; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 4, p. 589-603, 1998.

POIREL, L. *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing strain of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient in France. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 43, n. 1, p. 157-158, 1999.

POIREL, Laurent *et al.* Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 70, n. 1, p. 119-123, 2011.

POIREL, Laurent; POTRON, Anaïs; NORDMANN, Patrice. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 7, p. 1597-1606, 2012.

POIREL, Laurent; NAAS, Thierry; NORDMANN, Patrice. Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 1, p. 24-38, 2010.

POIREL, Laurent; NORDMANN, P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, n. 9, p. 826-836, 2006.

PRESTINACI, Francesca; PEZZOTTI, Patrizio; PANTOSTI, Annalisa. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. **Pathogens and global health**, v. 109, n. 7, p. 309-318, 2015.

QUEENAN, Anne Marie; BUSH, Karen. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 3, p. 440-458, 2007.

RAJKUMARI, Nonika *et al.* Epidemiology and outcomes of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* infections among trauma patients of India: a five year experience. **Journal of Infection Prevention**, v. 16, n. 3, p. 103-110, 2015.

RANGEL, Karyne; CHAGAS, Thiago Pavoni Gomes; DE-SIMONE, Salvatore Giovanni. *Acinetobacter baumannii* infections in times of COVID-19 pandemic. **Pathogens**, v. 10, n. 8, p. 1006, 2021.

RAMADAN, Haidi Karam-Allah *et al.* Predictors of severity and co-infection resistance profile in COVID-19 patients: First report from upper Egypt. **Infection and drug resistance**, p. 3409-3422, 2020.

RAOULT, Didier *et al.* Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological features and hypotheses. **Cell stress**, v. 4, n. 4, p. 66, 2020.

RAWSON, Timothy M. *et al.* COVID-19 and the potential long-term impact on antimicrobial resistance. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 75, n. 7, p. 1681-1684, 2020.

RAWSON, Timothy M. *et al.* Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. **Clinical infectious diseases**, v. 71, n. 9, p. 2459-2468, 2020.

RIVERA-IZQUIERDO, Mario *et al.* OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacterales in Spanish hospitals: an updated comprehensive review on a rising antimicrobial resistance. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 89, 2021.

ROCHA, F. R. Análise molecular da prevalência dos genes beta-lactamases blaCTX-M, blaSHV e blaTEM em *Klebsiella pneumoniae* isoladas de pacientes com diagnóstico de infecção hospitalar na Santa Casa de Misericórdia de Sobral, Ceará. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)** - Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2015.

ROLAIN, J. M.; PAROLA, P.; CORNAGLIA, G. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemia?. **Clinical microbiology and infection**, v. 16, n. 12, p. 1699-1701, 2010.

RUSSO, Alessandro *et al.* Efficacy of a fosfomicin-containing regimen for treatment of severe pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a prospective, observational study. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 10, p. 187-200, 2021.

RUSSO, Alessandro *et al.* Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit. **Infection**, p. 1-10, 2022.

SADER, Helio S. *et al.* Dissemination and diversity of metallo- β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 1, p. 57-61, 2005.

SANTOS, A.V. *et al.* Perfil das infecções hospitalares nas unidades de terapia intensiva de um hospital de urgência. **Journal of Nursing UFPE/Revista de Enfermagem UFPE**, 2016.

SERAFIM, Rodrigo B. *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with COVID-19 infection: a systematic review. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 1, p. 47-54, 2021.

SILVA, Ketrin Cristina da; LINCOPAN, Nilton. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in Brazil: clinical impact and implications for agribusiness. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, p. 91-99, 2012.

SHEN, Zijie *et al.* Genomic diversity of severe acute respiratory syndrome–coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. **Clinical infectious diseases**, v. 71, n. 15, p. 713-720, 2020.

SHLAES, David M.; BRADFORD, Patricia A. Antibiotics—from there to where?: how the antibiotic miracle is threatened by resistance and a broken market and what we can do about it. **Pathogens & immunity**, v. 3, n. 1, p. 19, 2018.

SHRESTHA, Poojan *et al.* Enumerating the economic cost of antimicrobial resistance per antibiotic consumed to inform the evaluation of interventions affecting their use. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, p. 1-9, 2018.

SILVA, Ketrin Cristina da; LINCOPAN, Nilton. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in Brazil: clinical impact and implications for agribusiness. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, p. 91-99, 2012.

SOHRABI, Catrin *et al.* World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). **International journal of surgery**, v. 76, p. 71-76, 2020.

SOUSA, Ana Beatriz Alves; RAMALHO, Fernanda Lobato; CAMARGO, Beatriz. Prevalence of nosocomial infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC) in hospitalized individuals. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, no. 2, p. 1915-1932, 2020.

SPAGNOLO, Anna Maria *et al.* An overview of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and control measures. **Reviews and Research in Medical Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 7-14, 2014.

STEVEN Nigro, RUTH M. Hall. Structure and context of Acinetobacter transposons carrying the oxa23 carbapenemase gene. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 5, p. 1135–1147, 2016.

SUAREZ, Cristina; GUDIOL, Francesc. Beta-lactam antibiotics. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 27, n. 2, p. 116-129, 2009.

TAVARES, Walter. Handbook of anti-infective antibiotics and chemotherapy, **Bacterial Resistance** 3^a ed. Atheneu, São Paulo. p. 79, 2001.

THOMSON, Kenneth S. Extended-spectrum- β -lactamase, AmpC, and carbapenemase issues. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1019-1025, 2010.

TÄNGDÉN, Thomas; GISKE, C. G. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. **Journal of internal medicine**, v. 277, n. 5, p. 501-512, 2015.

VATANSEVER, Cansel et al. Co-existence of OXA-48 and NDM-1 in colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 152-154, 2020.

VIEIRA, Priscila Braga; PICOLI, Simone Ulrich. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: clinical and epidemiological aspects. **R bras ci Saúde**, v. 19, no. 2, p. 151-156, 2015.

VILLEGAS, Maria Virginia et al. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 4, p. 1553-1555, 2007.

WANG, Chen et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 470-473, 2020.

WANG, Ming et al. Clinical diagnosis of 8274 samples with 2019-novel coronavirus in Wuhan. **MedRxiv**, p. 2020.02.12.20022327, 2020.

WANG, Zhongliang et al. Clinical features of 69 cases with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. **Clinical infectious diseases**, v. 71, n. 15, p. 769-777, 2020.

WILLIAMS, J. D. β -lactamases and β -lactamase inhibitors. **International journal of antimicrobial agents**, v. 12, p. S3-S7, 1999.

WONG, Darren et al. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. **Clinical microbiology reviews**, v. 30, n. 1, p. 409-447, 2017.

WU, Chaomin et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. **JAMA internal medicine**, v. 180, n. 7, p. 934-943, 2020.

WU, F. et al. A new coronavirus related to human respiratory illness in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, 2020.

YI, Ye et al. COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. **International journal of biological sciences**, v. 16, n. 10, p. 1753, 2020.

YIGIT, Hesna et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1151-1161, 2001.

YONG, Dongeun et al. Characterization of a new metallo- β -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.

ZHOU, Hua *et al.* Risk factors for acquisition and mortality of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: A retrospective study from a Chinese hospital. **Medicine**, v. 98, n. 13, 2019.

ZHU, Na *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020.