

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BÁRBARA DORNELAS SOUZA

PESQUISA DA PRODUÇÃO DE METALO- $\beta$ -LACTAMASES EM *Pseudomonas aeruginosa* PELO TESTE DE ENSAIO MICROBIOLÓGICO EDTA-IMIPENEM  
(EIM)

Uberlândia - MG

Março - 2022

BÁRBARA DORNELAS SOUZA

PESQUISA DA PRODUÇÃO DE METALO- $\beta$ -LACTAMASES EM *Pseudomonas aeruginosa* PELO TESTE DE ENSAIO MICROBIOLÓGICO EDTA-IMIPENEM  
(EIM)

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges (Instituto de Ciências Biomédicas/UFU)

Uberlândia - MG

Março – 2022

BÁRBARA DORNELAS SOUZA

PESQUISA DA PRODUÇÃO DE METALO- $\beta$ -LACTAMASES EM *Pseudomonas aeruginosa* PELO TESTE DE ENSAIO MICROBIOLÓGICO EDTA-IMIPENEM  
(EIM)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em

Área de concentração: Ciências Biológicas

Uberlândia, 16 de março de 2022.

Banca Examinadora:

---

Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

– Doutora em Imunologia e Parasitologia Aplicadas (UFU)

---

Helisângela de Almeida Silva

– Doutora em Imunologia e Parasitologia Aplicadas (UFU)

---

Tamiris Aparecida da Silva Guedes

– Mestre em Genética e Bioquímica (UFU)

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Selma e Adailton.

Ao meu irmão, Otávio.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado força nos momentos difíceis, por ter sido abrigo e por ter guiado os meus passos com saúde e fé.

Ao Espírito Santo por ter me levado de volta ao caminho do Senhor nos momentos em que me sentia perdida, fazendo com que minha fé fosse redobrada.

Aos meus pais por terem me permitido dedicação aos estudos por praticamente toda a graduação. Por encontrar em seus braços o colo e o lar que preciso, e por nunca me deixarem sonhar sozinha.

Ao meu irmão, por ser meu exemplo de dedicação ao que se ama fazer, e por me proporcionar em seu abraço um amor puro e genuíno.

Ao Zezinho, médium de um centro de luz, que zelou por mim em vida, e hoje continua cuidando de mim e me guiando com sua presença angelical.

Ao meu falecido padrasto, Eurides, que me mostrou que o amor paterno também pode ser encontrado em outra pessoa.

A minha orientadora, que me dedicou paciência, amor, cuidado e compreensão. Mesmo nos momentos em que pensei em desistir, por ter segurado a minha mão e caminhado comigo, não me deixando cair. Por ter me proporcionado sabedoria e discernimento em vários âmbitos de minha vida. Além disso, ter me ajudado a realizar um sonho meu e de meus pais.

Ao secretário da coordenação da Biologia, Leandro, por ter me auxiliado nos momentos de dúvidas e por ter me ajudado a concluir a graduação. Por hoje me proporcionar uma amizade com muito amor, respeito e aprendizados.

Aos meus amigos que presenciaram comigo momentos de felicidades, tristezas, angústias e muitos aprendizados.

A minha amiga, Tamiris, por ter acreditado em mim mesmo quando eu mesma não acreditava. Além disso, por ter me ajudado a me tornar uma profissional de quem tenho orgulho, e por ter me auxiliado com paciência, amor e sabedoria.

A minha chefe, Núbia e ao meu atual emprego, por terem me feito colocar em prática todo o meu amor desde a infância por laboratório e pesquisa.

Ao Hospital e Maternidade Odelmo Leão Carneiro, ao laboratório Check Up Medicina Diagnóstica e a seu gerente da microbiologia, João Paulo, por terem cedido as amostras para que meu estudo fosse possível. Além disso, ao João Paulo por ter me incentivado a buscar o meu melhor como pessoa e profissional. Meu sincero agradecimento!

## RESUMO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde trata-se de um grande problema de saúde pública, tornando-se um desafio devido à relação direta com a resistência aos antimicrobianos. As infecções mais frequentes são as do trato respiratório, de corrente sanguínea e do trato urinário e são causadas, em geral, por patógenos Gram negativos. Dentre estes, cabe-se destacar *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria oportunista que, na maioria das vezes, suas cepas apresentam resistência aos antimicrobianos, como aos carbapenêmicos, elevando a taxa de mortalidade. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo investigar a produção de metalo- $\beta$ -lactamases em *Pseudomonas aeruginosa* e sua relação com o perfil de resistência aos antimicrobianos em isolados clínicos de pacientes internados no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia. Para isto, foram analisadas 58 amostras resistentes aos carbapenêmicos, as quais foram submetidas a testes fenotípicos de ensaio microbiológico com imipenem, sulfato de zinco e EDTA. A maioria era proveniente de infecções graves como pneumonias e infecções de corrente sanguínea, em pacientes com idades acima de 60 anos. Grande parte das amostras também demonstraram ser resistentes às fluoroquinolonas, ou seja, a maioria das cepas eram extensivamente resistentes, não havendo distinção entre o ambiente hospitalar em que foram coletadas. Os resultados também demonstraram que os testes fenotípicos não se mostraram mais eficientes quando comparados entre si. O estudo apontou que *P. aeruginosa* é endêmico por todo o hospital e não somente nas UTIs, sendo que a maioria das cepas multissensíveis foram encontradas neste setor, enquanto as amostras panresistentes estavam presentes em outros ambientes do hospital.

**Palavras-chave:** Infecções hospitalares; multirresistência; carbapenêmicos; testes fenotípicos.

## ABSTRACT

Health Care-Related Infections are a major public health problem, becoming a challenge due to the direct relationship with antimicrobial resistance. The most frequent infections are those of the respiratory tract, bloodstream and urinary tract and are usually caused by Gram negative pathogens. Among these, it is worth mentioning *Pseudomonas aeruginosa*, which is an opportunistic bacterium and in most cases, its strains are resistant to antimicrobials, such as carbapenems, increasing the mortality rate. Thus, the present study aimed to investigate the production of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and its relationship with the profile of antimicrobial resistance in clinical isolates from patients admitted to the Hospital and Maternity Hospital of Uberlândia. For this, 58 samples resistant to carbapenems were analyzed, which were submitted to phenotypic tests of microbiological assay with imipenem, zinc sulfate and EDTA. Most were from serious infections such as pneumonia and bloodstream infections, in patients over 60 years of age. In addition, most samples were also shown to be resistant to fluoroquinolones, that is, most strains were extensively resistant, with no distinction between the hospital environment in which they were collected. The results also showed that the phenotypic tests were not more efficient when compared to each other. The study pointed out that *P. aeruginosa* is endemic throughout the hospital and not only in the ICU, with the majority of multisensitive strains being found there, while pan-resistant samples were present in other hospital settings.

**Keywords:** Hospital infections; multi-resistance; carbapenems; phenotypic test.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1</b>	<b>LOCAL DE ESTUDO .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2</b>	<b>AMOSTRAS.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3</b>	<b>REATIVAÇÃO DAS AMOSTRAS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4</b>	<b>PREPARO DO INÓCULO TESTE PARA O TESTE DE EIM .....</b>	<b>14</b>
<b>3.5</b>	<b>TESTE DE EIM.....</b>	<b>14</b>
<b>3.6</b>	<b>ENSAIO DE SINERGIA COM EDTA (IPM) .....</b>	<b>14</b>
<b>3.7</b>	<b>ANÁLISE DOS RESULTADOS .....</b>	<b>15</b>
<b>3.8</b>	<b>ÉTICA DO ESTUDO .....</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>
<b>8</b>	<b>ANEXO .....</b>	<b>29</b>
<b>9</b>	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) estão presentes em todos os ambientes que prestam serviços de cuidados à saúde. As IRAS referem-se a toda manifestação clínica desenvolvida que se apresente 72 (setenta e duas) horas após a internação do paciente na unidade de saúde, quando o período de incubação do microrganismo é desconhecido e não houver evidência clínica e/ou dado laboratorial de infecção no momento da admissão. Além disso, pode ser considerada como IRAS aquela manifestada antes de 72 (setenta e duas) horas da internação, desde que esteja relacionada a procedimentos terapêuticos e/ou diagnósticos realizados durante este período e internação em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) (BRITO & NAUE, 2021).

Cerca de 80% das infecções nosocomiais estão associadas à infecção do trato urinário, pneumonia, infecções de corrente sanguínea e de sítio cirúrgico, normalmente, relacionadas a procedimentos invasivos. Além disso, aproximadamente 70% das infecções são causadas por microrganismos resistentes a um ou mais antimicrobianos, e de acordo com uma estimativa realizada pelo *European Center for Disease Prevention and Control* (ECDC), 1 a cada 20 pacientes hospitalizados é acometido por bactérias multirresistentes (COELHO et al., 2021). Além disso, a resistência aos antimicrobianos por bactérias Gram negativas (BGN) tem sido uma questão mais preocupante entre os casos de resistência bacteriana, devido à alta incidência de infecções que ocasionam (RIBEIRO et al., 2020).

As infecções nosocomiais de UTI são ocasionadas, principalmente, pelos seguintes patógenos multirresistentes: *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina; bactérias do grupo CESP (*Citrobacter* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp e *Providencia* spp) produtoras de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL) e do gene AmpC; enterobactérias produtoras de ESBL; *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase; *Enterococcus* resistente à vancomicina; *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos (COELHO et al., 2021).

*P. aeruginosa* trata-se de uma importante bactéria causadora de infecções nosocomiais, pois está relacionada com uma alta taxa de mortalidade em diversos grupos, inclusive, em indivíduos com pneumonia decorrente a procedimentos terapêuticos, fibrose cística ou doença pulmonar obstrutiva crônica, sendo a taxa de mortes por bacteremias de 35% (ABDEL-RHMAN & RIZK, 2021; JURADO-MARTÍN et al., 2021).

*P. aeruginosa* é um patógeno oportunista versátil, capaz de desencadear infecções agudas e crônicas. Sua patogenicidade está relacionada com os diversos fatores de virulência

e genes de resistência a antibióticos, que conferem flexibilidade metabólica e capacidade de adaptação a diferentes condições, incluindo a resposta imunológica do hospedeiro (JURADO-MARTÍN et al., 2021). A produção de um biofilme é um dos fatores determinantes de virulência mais importantes na patogenicidade de *P. aeruginosa*. Este proporciona aderência ao patógeno à várias superfícies, e fornece proteção contra diversas condições ambientais e ao sistema imune do hospedeiro (BEHZADI et al., 2021). Segundo Moreira (2019), *P. aeruginosa* é bastante altamente resistente à desinfecção como, por exemplo, o uso de soluções de amônia e de iodo. E ainda, este patógeno apresenta alta resistência a diversos antimicrobianos, como cefalosporinas de terceira e quarta geração, fluoroquinolonas e carbapenêmicos (BOGIEL et al., 2020).

Os carbapenêmicos possuem um anel  $\beta$ -lactâmico capaz de inativar proteínas inibidoras de penicilina (PBP), que são importantes na formação da parede celular bacteriana. Dentre os  $\beta$ -lactâmicos, os carbapenêmicos são os mais efetivos contra as bactérias Gram positivas e Gram negativas, o tornando um fármaco importante no tratamento de infecções por microrganismos multirresistentes. Além disso, apresentam raros efeitos colaterais, sendo mais seguros do que outras drogas de última escolha, como as polimixinas. Portanto, a resistência aos carbapenêmicos é um importante problema à saúde pública (CUNHA, 2020).

Os  $\beta$ -lactâmicos, como imipenem e meropenem, são constantemente usados como antimicrobianos de último recurso no tratamento de infecções por *P. aeruginosa*. Entretanto, a resistência a estes antibióticos resulta da aquisição de genes produtores de carbapenemases, como a metalo- $\beta$ -lactamase (M $\beta$ L), classificadas como classe B (BOGIEL et al., 2020).

Bush, Jacoby e Medeiros dividiram as  $\beta$ -lactamases em diferentes Grupos (grupos de 1 a 4, com subdivisões), segundo o substrato da enzima e o perfil de inibição por inibidores de  $\beta$ -lactamases (BUSH et al., 1995; BUSH-JACOBY, 2010) e Ambler dividiu as  $\beta$ -lactamases em classes moleculares (A, B, C e D), de acordo com a estrutura molecular da enzima (AMBLER et al., 1980). Baseado nos conceitos apresentados, as principais  $\beta$ -lactamases produzidas por bacilos Gram negativos podem ser agrupadas em: Cefamicinases (AmpCs); Cefalosporinases;  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs) e Carbapenemases, estas incluem as M $\beta$ L (ANDRADE & DARINI, 2017).

As metalo- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ Ls), de classe B, requerem zinco para sua atividade catalítica, e tem potencial para hidrolisar todos os  $\beta$ -lactâmicos, exceto os monobactâmicos (aztreonam). No Brasil, São Paulo Metalo- $\beta$ -lactamase (SPM) é destaque, uma vez que por motivos ainda não muito bem conhecidos, essa enzima é quase restrita ao território brasileiro,

sendo *P. aeruginosa* produtora de SPM, grave problema nos hospitais (ANDRADE & DARINI, 2017).

No tratamento das infecções ocasionadas por *P. aeruginosa*, são utilizados antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, muitas vezes associados com compostos inibidores de  $\beta$ -lactamase, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e polimixinas (COSTA, 2017). Entretanto, a alta incidência de infecções por este patógeno e o amplo uso de antimicrobianos, resultou em cepas resistentes aos mesmos, o que além de um problema público, também se tornou um desafio para a ciência (EL-MAHDY, 2014).

A prevalência cada vez maior, de cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* aos antimicrobianos como fluoroquinolonas, carbapenêmicos e aminoglicosídeos têm reduzido as opções de tratamento a este patógeno. Isto faz com que, um tratamento inadequado ou atrasos no início da terapia apropriada resulte em aumento da mortalidade. E, é por isso, que selecionar os antimicrobianos corretos para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa*, identificar de forma rápida e precisa este patógeno, incluindo as cepas multirresistentes em amostras clínicas é essencial (NIKURA et al., 2021).

A identificação fenotípica da enzima M $\beta$ L em bactérias de rotina clínica é de grande importância para evitar a disseminação dos genes de resistência e melhorar as opções terapêuticas. Ainda não existe uma padronização para os testes de identificação das M $\beta$ L, mas existem técnicas que podem ser aplicadas na rotina laboratorial (OLIVEIRA, 2022). Como são enzimas dependentes de um metal (geralmente zinco) como cofator para a atividade enzimática, são inibidas *in vitro* por EDTA, que é um quelante do metal (ANDRADE & DARINI, 2017). De acordo com Oliveira (2022), os testes fenotípicos que podem ser realizados são o teste de sinergismo com disco aproximação utilizando EDTA com Imipenem (IMI) e ceftazidima (CAZ), o qual é o mais utilizado, por ser mais prático e de fácil manipulação. Pode-se usar também o ácido 2-mercaptopropiônico com IMI e CAZ, teste do disco combinado de CAZ ou IMI com EDTA, teste de Hódge modificado, ensaio microbiológico com IMI-EDTA, teste fenotípico usando ácido dipicolínico, tiras de Etest M $\beta$ L, microdiluição utilizando EDTA e Fenantrolina com IMI, um inibidor de M $\beta$ L. Além disso, existem também técnicas de biologia molecular que também podem ser utilizadas, como a detecção do gene de resistência.

Como forma de solucionar esta necessidade, vêm surgindo diversas formas de acelerar a identificação de suscetibilidade dos patógenos aos antimicrobianos. Com isso, surgem os testes de suscetibilidade fenotípica universais e testes de detecção de mecanismos de

resistência específicos. Estes últimos são baseados em biologia molecular, imunocromatografia e ensaios de degradação de antibióticos (CUNHA, 2020).

Atualmente, não existe um padrão de teste fenotípico para a detecção das M $\beta$ L entre isolados de *P. aeruginosa*. Portanto, métodos moleculares são necessários para confirmar a presença destas enzimas nos isolados clínicos. A detecção por reação em cadeia de polimerase (PCR) tem alta sensibilidade e confiabilidade para detecção dos genes M $\beta$ L (ANDRADE & DARINI, 2017).

## 2 OBJETIVO GERAL

- Investigar a produção de metalo- $\beta$ -lactamases em *Pseudomonas aeruginosa* e sua relação com o perfil de resistência aos antimicrobianos em isolados clínicos de pacientes internados no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o teste de ensaio microbiológico Imipenem (EIM) nos isolados clínicos para pesquisa de produção de metalo- $\beta$ -lactamases, comparando com outro teste fenotípico.
- Comparar o perfil de resistência aos antimicrobianos por meio da análise do antibiograma.
- Comparar o perfil sociodemográfico dos pacientes com infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em cinco anos de estudo.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCAL DE ESTUDO**

O estudo foi realizado com amostras provenientes do Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro (HMMDOLC), o qual se localiza na cidade de Uberlândia - MG. No momento do estudo, o mesmo era referência em atendimento público hospitalar (SUS), compreendendo uma área de 55 mil metros quadrados. Desta, 20 mil metros de construção são destinados a 236 leitos, dos quais 40 pertencem a UTI adulto e 10 à UTI neonatal. No Hospital Municipal, são oferecidas várias especialidades, como clínicas (cardiologia, hematologia, infectologia, neurologia, nefrologia e nutrologia), cirúrgicas (geral, oncológicas, cardiologia, aparelho digestivo, torácica vascular, urologia, ginecologia/obstetrícia, vascular, ortopedia e traumatologia), pediatria/neonatologia, maternidade e oftalmologia.

#### **3.2 AMOSTRAS**

As amostras de *P. aeruginosa* foram coletadas entre os anos de 2013 e 2017. Estas foram processadas pelo laboratório vinculado ao Hospital Municipal, o qual fez a identificação e o antibiograma das mesmas. Foi fornecido pelo laboratório os dados dos pacientes (idade, sexo e local de internação), o sítio no qual as amostras foram coletadas e o perfil de resistência aos antimicrobianos. As amostras foram classificadas quanto ao perfil de resistência em MDR (resistência a um ou mais agente em três ou mais categorias de antimicrobianos), XDR (resistência a um ou mais agente em todas as categorias de antimicrobianos, exceto em uma ou duas) e PDR (resistência a todos os agentes antimicrobianos), segundo MAGIORAKOS et al. (2012).

As amostras foram conservadas no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia (LABAC), no Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), mantidas a -20°C.

#### **3.3 REATIVAÇÃO DAS AMOSTRAS**

As amostras foram reativadas em Caldo Trypticase Soja, à 37°C, overnight. Em seguida, foram cultivadas em placas de Ágar Trypticase Soja, pelo método de esgotamento por estrias, para obtenção de colônias isoladas.

### 3.4 PREPARO DO INÓCULO TESTE PARA O ENSAIO DE EIM

O inóculo de 3 a 4 colônias foi cultivado em 2,5mL de Caldo Muller-Hinton (CMH), à 37°C, overnight. Em seguida, centrifugado a 5.000rpm por 10 minutos, desprezado o sobrenadante e suspenso o sedimento em 1 mL de Tris-HCl (50 mM, pH 8), posteriormente utilizado no ensaio.

### 3.5 TESTE DE EIM

O ensaio microbiológico com EDTA (EIM – microbiological assay), foi realizado semeando em ágar Mueller-Hinton a amostra de *Escherichia coli* ATCC 25922 como microrganismo indicador na escala 0,5 de McFarland obtida em solução salina a 0,85%, com auxílio de um swab estéril.

Foi disposto um disco de Imipenem (10µg) no centro da placa, em sua parte superior um disco de papel de filtro contendo 10µl do inóculo teste puro, a esquerda um disco contendo 10µl do inóculo teste com 2µl de ZnSO<sub>4</sub> (0,1 Mm), abaixo um disco com 10µl do inóculo teste com 5µl de EDTA (0,04M/20mM), e a direita um último disco contendo 10µl de tampão Tris-HCl (50 mM e pH 8) como controle negativo do teste. Posteriormente, as placas foram incubadas à 37°C de 18 a 20 horas (Figura 1, Imagem 1 – Apêndice).

A distância entre os discos de centro a centro foi de 15mm. Foi considerado positivo para MβL quando a cepa indicadora não avançou para dentro do halo do imipenem próximo ao quelante (EDTA), e avançou nos discos contendo o inóculo teste com e sem ZnSO<sub>4</sub>.

### 3.6 ENSAIO DE SINERGIA COM EDTA (IPM)

O teste designado de sinergia do EDTA com carbapenêmico (EDTA-imipenem - IPM) foi realizado utilizando um disco de meropenem distante 30mm a outro adicionando 10µL de EDTA 0,1M, dispostos em uma placa de Agar Muller-Hinton semeada com a amostra de *Pseudomonas aeruginosa*, equivalente ao padrão 0.5 da escala de McFarland em salina 0,85% estéril, com auxílio de um swab. A incubação foi a 37°C, de 18 a 20 horas (Figura 1, Imagem 2 – Apêndice).

A interpretação do resultado foi por comparação da espessura do halo do disco de meropenem puro, com diferença maior ou igual a 5mm, sendo o aumento no halo do disco associado ao EDTA positivo para MβL.

### **3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS**

Os dados foram tabulados em EXCEL<sup>®</sup> (Microsoft) e para a análise estatística foi utilizado o teste de Qui-quadrado, Exato de Fischer ou teste Binomial (BioEstat 5.0), para a comparação das frequências, considerando o intervalo de confiança de 95% e o  $P \leq 0,05$ .

### **3.8 ÉTICA DO ESTUDO**

Este estudo faz parte do projeto Epidemiologia de microrganismos multirresistentes no Hospital e Maternidade Municipal Dr. Odelmo Leão Carneiro, na cidade de Uberlândia/MG, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia sob o nº 463.877/13 (Anexo).

#### 4 RESULTADOS

No presente estudo foram recuperadas 58 amostras de *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos, coletadas no Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro, na cidade de Uberlândia-MG. A maioria destas amostras pertencem a UTI (56,9%), sendo que os isolados mais frequentes foram de trato respiratório (51,7%) e corrente sanguínea (27,6%) (Tabela 1). A distribuição foi igual, tanto em pacientes mais graves (UTI) quanto em pacientes internados em outras unidades hospitalares (enfermarias) ( $P > 0,005$ ). Foram coletadas entre os anos de 2013 e 2017, sendo a maior frequência, no último ano do estudo. Além disso, a maioria das amostras eram de pacientes com idades entre 60 e 80 anos.

No total, a maioria das amostras trata-se de cepas extensivamente resistentes (XDR), representando cerca de 55,2% do total, seguido de cepas multirresistentes (MDR), com 25,9%. Além disso, o estudo conta com amostras panresistentes (PDR), as quais são 5,2% do total. Já as multissensíveis (MSS) representaram 13,8% das amostras analisadas. As categorias citadas não representam distinção quanto ao quesito UTI e não UTI, pois a distribuição foi igual entre os pacientes destas unidades, exceto para as amostras multissensíveis que estavam mais presentes na UTI (Tabela 1).

Tabela 1-Variáveis das amostras de *P. aeruginosa* resistentes a um e/ou outro carbapenêmico, do Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro, na cidade de Uberlândia-MG.

Variáveis		Total N= 58 (%)	UTI N= 33 (%)	Não UTI N= 25 (%)	P IC (95%)
	PNM	30 (51,7)	16 (48,5)	14 (56,0)	0,57
	ITU	11 (19,0)	5 (15,1)	6 (24,0)	0,39
Infecção	ISC	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
	ICS	16 (27,6)	12 (36,4)	4 (16,0)	0,08
	Outros	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (4,0)	0,24
Ano	2013	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
	2014	2 (3,4)	1 (3,0)	1 (4,0)	0,84

	2015	5 (8,6)	2 (6,1)	3 (12,0)	0,42
	2016	7 (12,1)	5 (15,2)	2 (8,0)	0,40
	2017	44 (75,9)	25 (75,8)	19 (76,0)	0,98
Sexo	Feminino	27 (46,5)	15 (45,5)	12 (48,0)	0,84
	Masculino	31 (53,4)	17 (51,5)	14 (56,0)	0,73
Idade	0 – 20 anos	1 (1,7)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,37
	21 – 40 anos	5 (8,6)	4 (12,1)	1 (4,0)	0,27
	41 – 60 anos	13 (22,4)	6 (18,2)	7 (28,0)	0,37
	61 – 80 anos	33 (56,9)	18 (54,6)	15 (60,0)	0,67
	≥ 81 anos	6 (10,4)	4(12,1)	2 (8,0)	0,60
MDR		15 (25,9)	8 (24,2)	7 (28,0)	0,74
XDR		32 (55,2)	17 (51,5)	15 (60,0)	0,51
PDR		3 (5,2)	1 (3,1)	2 (8,0)	0,39
MSS		8 (13,8)	7 (21,2)	1 (4,0)	0,05*

IC: intervalo de confiança; ICS: Infecção da Corrente Sanguínea; PNM: Pneumonia; ITU: Infecção do Trato Urinário; ISC: Infecção de Sítio Cirúrgico; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; MDR: multirresistente; XDR: extensivamente resistente; PDR: panresistente; MSS: multissensíveis; \*Estatisticamente significativa.

Comparando o número de ocorrência de PNM e ICS, não houve diferença estatística ( $P>0,05$ ). Contudo, ao verificar os casos em pacientes adultos e idosos, estes últimos foram mais acometidos ( $P<0,0001$ ).

Quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos, as amostras além de serem resistentes aos carbapenêmicos também se mostraram resistentes a outros antimicrobianos, como cefalosporinas de quarta geração (82,8%) e quinolonas (81,0%). Dentre os isolados, três também são resistentes à polimixina B (Tabela 2), dois de infecção de corrente sanguínea e o outro de infecção respiratória, ambos de não UTI.

Tabela 2 – Perfil de resistência das amostras de *P. aeruginosa* resistentes a um e/ou outro carbapenêmico, do Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro, na cidade de Uberlândia-MG.

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Total N= 58 (%)</b>
Cefepime	48 (82,8)
Ceftazidima	41 (70,7)
Piperacilina + Tazobactam	43 (74,1)
Imipenem	58 (100,0)
Meropenem	55 (94,8)
Aztreonam	45 (77,6)
Amicacina	11 (19,0)
Gentamicina	45 (77,6)
Ciprofloxacina	47 (81,0)
Levofloxacina	47 (81,0)
Polimixina B	3 (5,2)

Para a pesquisa dos testes fenotípicos para a triagem, o teste EIM demonstrou-se positivo para 17,3% do total de amostras e no teste IPM, 13,8% das amostras foram positivas, enquanto os testes EIM e IPM em sinergia foram positivos em apenas 6,9% das amostras (Tabela 3). Comparando o número de exames positivos para o teste de EIM e IPM, não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ). No entanto, a positividade do teste EIM e IPM com os resultados negativos, ou mesmo os positivos para ambos os testes, resultaram em maior ocorrência de testes negativos ( $P < 0,0001$ ).

Tabela 3 – Resultado dos testes fenotípicos das amostras de *P. aeruginosa* resistentes a um e/ou outro carbapenêmico, do Hospital e Maternidade Dr. Odelmo Leão Carneiro, na cidade de Uberlândia-MG.

Teste	Total de positivos N=58 (%)
EIM*	10 (17,3)
IPM#	8 (13,8)
EIM/IPM	4 (6,9)

\*: microbiological assay; #: EDTA-imipenem.

Das 14 amostras positivas para um ou ambos os testes fenotípicos para metalo- $\beta$ -lactamase, 3 (21,4%) apresentaram resistência a carbapenêmico e sensibilidade às cefalosporinas e 5 (35,7%) apresentaram sensibilidade a Aztreonam.

## 5 DISCUSSÃO

As principais IRAS estão relacionadas a pneumonia, osteomielite, septicemia e infecções do trato urinário (MENA & GERBA, 2009). *P. aeruginosa* foi apontada como o patógeno responsável por 10 a 25% das infecções hospitalares em todo o mundo, sendo no Brasil correspondente a 14,6% (HEDFI et al., 2016; SIQUEIRA et al., 2018). No presente estudo, a maioria das amostras analisadas foram coletadas de pacientes com infecções graves (em UTI), como infecções respiratórias e de corrente sanguínea.

*Pseudomonas aeruginosa* é o principal patógeno causador de infecções hospitalares dentre os bacilos Gram negativos, e acomete principalmente pacientes críticos e imunocomprometidos, semelhante aos da AIDS, câncer, queimaduras, fibrose cística e neutropenia (BASSETTI et al., 2018; ALJEBORY, 2018). No hospital em estudo, é o segundo microrganismo mais isolado (dados não mostrados). É um patógeno oportunista e uma das bactérias mais virulentas, a qual está relacionada com seu genoma complexo e com a alta diversidade de fatores de resistência, como a capacidade de formar biofilmes, que além de proteger, facilita a colonização, principalmente em equipamentos cirúrgicos, devido a contribuição para a adesão (SILVA et al., 2021).

A Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é um ambiente hospitalar destinado a pacientes criticamente doentes. Normalmente, esses indivíduos estão mais sujeitos a adquirir infecções hospitalares, devido ao seu estado fragilizado, uso de procedimentos invasivos, altas doses de medicamentos, maior tempo de internação e infecção por diversos microrganismos, inclusive multirresistentes (BASSO et al., 2016; ARAÚJO et al., 2018; MERZOUGUI et al., 2018).

No Brasil, a população idosa é definida como a faixa etária acima dos 60 anos de idade (BIZO et al., 2021). A maior parte das amostras analisadas pertenciam a pacientes com idades de 61 a 80 anos, independente do sexo e do local de internação. Estes indivíduos, passam por modificações fisiológicas, bioquímicas, funcionais, morfológicas e psicológicas, e por isso, constituem um grupo de risco para o desenvolvimento das IRAS, pois estas condições aumentam as chances de desencadeá-las em comparação a indivíduos mais jovens (RÓS et al., 2017; BIZO et al., 2021).

Infecções nosocomiais, normalmente, causam aumento da morbidade e mortalidade em pacientes internados. Isto se deve ao desenvolvimento de bactérias multirresistentes, as quais provocam maiores complicações, já que há uma menor reação terapêutica, ocasionando o prolongamento da doença e aumento dos custos do tratamento (RODRIGUES, 2018).

Portanto, o aumento de cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* é um problema de saúde pública (RAMAN et al., 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), *P. aeruginosa* está enquadrada na categoria “crítica” da lista prioritária de patógenos bacterianos, para que sejam realizadas pesquisas para desenvolver urgentemente novos antimicrobianos contra este patógeno (JURADO-MARTÍN et al., 2021).

A alta prevalência de infecções ocasionadas por *P. aeruginosa* e a ampla utilização de antimicrobianos, tem como resultado a resistência a estes medicamentos, que além de ser um problema público também se tornou um desafio no combate a esta bactéria (EL-MAHDY, 2014). Todas as amostras analisadas neste estudo foram previamente selecionadas resistentes a um ou dois carbapenêmicos, uma vez que objetivou-se experimentar diferentes métodos fenotípicos para pesquisa de metalo- $\beta$ -lactamases. No entanto, foi detectado a partir dos resultados prévios uma resistência também à maioria dos antimicrobianos das classes das quinolonas, além de amostras resistentes à polimixina B.

Um grupo de especialistas de diversos países, juntamente com o EDCD e CDC (*Centre for Disease Control*), criaram uma classificação para descrever o perfil de resistência das bactérias responsáveis pelas IRAS. De acordo com a resistência aos antimicrobianos, as bactérias podem ser classificadas em multidroga-resistente (MDR), extensivamente resistente (XDR) e pandroga-resistente (PDR) (MAGIORAKOS et al., 2012). O estudo apresentou que a maioria das cepas eram classificadas como XDR, além de três amostras de categoria PDR, as mesmas resistentes à polimixina.

De acordo com a World Health Organization, *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos, compostos  $\beta$ -lactâmicos de última geração, é considerada como prioridade e deve ter sua disseminação acompanhada, em decorrência do agravamento nos quadros de infecções e na restrição do uso de antimicrobianos disponíveis nas ações terapêuticas (WHO, 2017). Estáveis à hidrólise por ESBLs e AmpCs, os carbapenêmicos ainda apresentavam o mais potente espectro de atividade antibacteriana entre os  $\beta$ -lactâmicos, agindo contra a maioria das bactérias Gram negativas e Gram positivas e, tem como marcadores de resistência para as M $\beta$ L às penicilinas, cefalosporinas de 1<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup> geração (cefotaxima, ceftazidima, cefepime), cefamicinas (cefotitina, cefotetan) e carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem) (ANDRADE & DARINI, 2017). Neste caso, a opção de tratamento de última linha é a classe das polimixinas (polimixina B e polimixina E-colistina) (VAARA, 2019).

Bactérias produtoras de outras  $\beta$ -lactamases (não carbapenemases) como ESBLs e hiperprodutoras de AmpC, podem apresentar diminuição de sensibilidade ou resistência aos

carbapenêmicos quando ocorrer associação com outros mecanismos, como sistemas de efluxo superexpressos e alteração na permeabilidade da membrana externa (ANDRADE & DARINI, 2017).

Já as carbapenemases M $\beta$ L diferem de outras carbapenemases por apresentarem amplo perfil do substrato, potencial para transferência horizontal e falta de inibição por inibidores de  $\beta$ -lactamases, como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (SACHDEVA et al., 2017). Entretanto, a sua atividade é inibida por ação de agentes quelantes, como o EDTA (RODRIGUES, 2018).

A produção de enzimas  $\beta$ -lactamases é o principal mecanismo de *P. aeruginosa*, pois o efeito dos  $\beta$ -lactâmicos é inibido por estas, uma vez que possuem a capacidade de hidrolisar a ligação amida do anel  $\beta$ -lactâmico durante a passagem destes na membrana (RODRIGUES, 2018). Assim, várias estratégias são necessárias para a detecção de patógenos que carregam essas enzimas, visando seu controle e erradicação (MARCHIARO et al., 2005).

Testes baseados em usos de inibidores de  $\beta$ -lactamases exibem especificidade em seu efeito hidrolítico, permitindo, desta forma, caracterização da enzima em relação à classe das carbapenemases. A detecção de cepas produtoras de M $\beta$ L, através de testes de sinergia ou potencialização no formato do disco difusão ou diluição em caldo tem como base o uso de compostos como EDTA, tiol e ácido dipicolínico (DPA) associado a um composto  $\beta$ -lactâmico, normalmente na forma de uma oximino-cefalosporina ou de um carbapenêmico.

No teste de EIM o crescimento da amostra indicadora de *E. coli* ao redor do extrato bacteriano com e sem ZnSO<sub>4</sub> indica a presença de atividade de carbapenemase. Além disso, as M $\beta$ Ls podem ser diferenciadas das não metaloenzimas quando utiliza-se EDTA, um verdadeiro inibidor das M $\beta$ L (MARCHIARO et al., 2005). Todos esses métodos baseiam-se na capacidade de quelantes de metais, como o EDTA e compostos à base de tiol, para inibir a atividade de M $\beta$ Ls (SACHDEVA et al., 2017).

Para os testes baseados em EDTA, ocorre a inibição do  $\beta$ -lactâmico, pesquisando a dependência metaloenzimática dos íons de zinco. Com o intuito de otimizar a eficácia, diferentes métodos têm sido propostos alternando em relação à quantidade de inibidor utilizado, distanciamento entre os discos e substrato  $\beta$ -lactâmico fornecido. Portanto, segundo Cury (2021), um teste de sinergia de duplo disco, ou seja, um disco de imipenem ou meropenem combinado com e sem a adição de EDTA 0,1 M, os resultados demonstraram alta sensibilidade e especificidade. Portanto, a partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se constatar que os testes de EIM e sinergia EDTA apresentam maior especificidade e sensibilidade quando são comparados de maneira isolada. Entretanto, quando estes testes

fenotípicos são comparados entre si, conclui-se que ambos apresentam baixa sensibilidade e especificidade, pois a positividade entre eles foi de apenas 6,9%.

Segundo Marchiaro et al. (2005), o teste de EIM é um procedimento conveniente para a detecção de amostras produtoras de M $\beta$ L entre bactérias Gram negativas não fermentadoras de origem clínica, com especificidade e sensibilidade maiores ou idênticos aos dos procedimentos fenotípicos em uso e comparáveis aos de ensaios genotípicos ou enzimáticos considerados como padrões-ouro. Mas neste estudo, não se comprovou os resultados com testes genotípicos, não obtendo resultados que pode-se afirmar um bom desempenho dos testes fenotípicos.

Segundo Andrade e Darini (2017), a resistência aos carbapenêmicos (ertapenem, imipenem, meropenem e doripenem) pode ocorrer devido a diferentes mecanismos ou combinações de mecanismos, incluindo ou não a produção de carbapenemase.

Portanto, apesar dos testes fenotípicos apresentarem menores custos para a sua realização, o tempo de execução é maior. Além disso, podem demonstrar não serem tão específicos e sensíveis quanto aos testes de biologia molecular. Estes possuem menor tempo de execução, e muitas vezes, melhores resultados. Entretanto, os testes baseados em DNA apresentam custos elevados para a sua realização, além de demandarem uma mão de obra treinada e experiente para a realização dos mesmos, uma vez que, sua sensibilidade é alta e qualquer contaminação poderia ser detectada como resultado positivo, sendo apesar disso, considerado o padrão-ouro atualmente.

## 6 CONCLUSÃO

As infecções por *P. aeruginosa* mais frequentes foram as do trato respiratório, acometendo principalmente indivíduos maiores de 60 anos e internados em UTIs.

As amostras analisadas, além de serem resistentes a um ou dois carbapenêmicos, a maioria também apresentou resistência aos antimicrobianos das classes das quinolonas e algumas à polimixina B. As amostras submetidas aos testes fenotípicos de EIM não demonstraram ser mais eficientes do que o teste de sinergia com EDTA.

O trabalho também demonstrou que as amostras foram aumentando de número ao longo do estudo, o que indica que existe uma disseminação crescente desse microrganismo. Além disso, todas as cepas foram encontradas tanto em UTIs quanto em outros ambientes hospitalares, o que demonstra que a bactéria está disseminada por todo o hospital, independente do seu grau de resistência, sendo observado cepas PDR encontradas fora da UTI.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RHMAN, S. H.; RIZK, D. E. Comparative Assessment of Different PCR-Based Typing Methods of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 1019-1035, mar, 2021. DOI: <https://dx.doi.org/10.2147%2FIDR.S298838>
- ALJEBORY, I. A. PCR detection of some virulence genes of *Pseudomonas aeruginosa* in Kirkuk city, Iraq. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 5, p. 1068-1071, may, 2018.
- AMBLER, R. P., The structure of beta-lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 289, n. 1036, p. 321-331, may, 1980.
- ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla bla bla é esse?. **Journal of Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 16-25, jan/mar, 2017.
- ARAÚJO, P. L.; MENDONÇA, A. E. O.; MEDEIROS, R. A.; NETO, V. L. S.; NOBRE, T. T. X.; COSTA, I. K. F. Prevalencia de la infección relacionada con la asistencia a la salud en pacientes hospitalizados en unidad de cuidados intensivos. **Enfermería Global**, v.17, n.52, p. 278-315, oct, 2018.
- AYRES, M.; JR AYRES, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. Bio Estat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências Biomédicas. Versão 5.0. Belém: McGraw-Hill, 2007.
- BASSETI, M.; VENA, A.; CROXATTO, A.; RIHI, E.; GUERY, B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Drugs in Context**, v. 7, p. 1-18, may, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.7573%2Fdic.212527>
- BASSO, M. E.; PULCINELI, R. S. R.; AQUINO, A. R. C.; SANTOS, K. F. Prevalência de infecções bacterianas em pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva (UTI). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 4, p. 383-388, fev, 2016.
- BEHZADI, P.; BARÁTH, Z.; GAJDÁCS, M. It's Not Easy Being Green: A Narrative Review on the Microbiology, Virulence and Therapeutic Prospects of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 42, jan, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10010042>
- BIZO, M.; CÁSSIA, R.; RIBEIRO, H. M.; RUIZ, P. B. O.; ALBERTINI, S. M.; POLETTI, N. A. A.; WERNECK, A. L.; RIBEIRO, R. M.; GOUVEIA, J. L. Recorrência da internação por infecção do trato urinário em idosos. **Enfermagem em Foco**, v. 12, n. 4, p. 767-772, mai, 2021.
- BOGIEL, T.; PRAŻYŃSKA, M.; KWIECIŃSKA-PIRÓG, J.; MIKUCKA, A.; GOSPODAREK-KOMKOWSKA, E. Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains-Distribution of the Essential Enzymatic Virulence Factors Genes. **Antibióticos**, v. 10, n. 1, p. 8, dez, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10010008>
- BRITO, M. P. S.; NAUE, C. R. Demand for microbiological cultures and prevalence of microorganisms in a University Hospital from the Pernambuco State. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental**, v. 13, n. 1, p. 17-26, jan/dez, 2021.

BUSH K., JACOBY G.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, jun, 1995. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969-976, mar, 2010.

COELHO, T. L. F.; JERICÓ, R. C.; PEREIRA, T. J.; SILVA, C. F.; NAUE, C. R. Perfil bacteriano das infecções hospitalares de pacientes cirúrgicos em um hospital terciário. **HU Revista**, v. 47, p. 1–7, jun, 2021. DOI: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/hurevista/article/view/33652>. Acesso em: 21 fev. 2022.

COSTA, F. J. M. D. **Resistência à polimixina B em bactéria Gram-negativas carbapenemos resistentes isoladas em hospitais do Rio Grande do Norte**. 2017. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

CUNHA, R. S. R. **Impacto da resistência bacteriana sobre o tempo de liberação de laudo**. 2020. 15 f. Dissertação (Especialização em Microbiologia clínica)-Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

CURY, A. P. **Avaliação de método molecular para detecção de colonização por carbapenemases comparado com a cultura de vigilância diretamente do swab retal**. 2021. 191 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Experimental)-Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

HEDFI M.; KHOUNI H.; MASSOUDI Y.; ABDELHEDI C.; SASSI, K.; CHOUCHEM A. Epidemiology of nosocomial infections: About 70 cases. **La Tunisie Medicale**, v. 94, n. 7, p. 401-406, jul, 2016.

JURADO-MARTÍN, I.; SAINZ-MEJÍAS, M.; MCCLEAN, S. *Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 3128, mar, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22063128>

EL-MAHDY, T. S. The extended-spectrum AmpC genotype of *Pseudomonas aeruginosa* strains from Egypt: an underlying threat to anti-pseudomonal treatment options. **Journal of Chemotherapy**, v. 26, n. 3, p. 187-189, dec, 2014.

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D.L.; RIC, L.B.; STELLING, J.; STRUELENS, M.J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L.; Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, n.3, p. 268-281, jul, 2012.

MARCHIARO, P.; MUSSI, M. A.; BALLERINI, V.; PASTERAN, F.; VIALE, A. M.; VILA, A. J.; LIMANSKY, A. S. Sensitive EDTA-based microbiological assays for detection of

metallo- $\beta$ -lactamases in nonfermentative Gram-negative bacteria. **Journal of clinical microbiology**, v.43, n.11, p. 5648–5652, nov, 2005.

MENA, K. D., GERBA, C. P. Risk assesment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 201, p. 71-115, may, 2009.

MERZOUGUI, L.; BARHOUMI, T.; GUIZANI, T.; BARHOUMI, H.; HANNACHI, H.; TURKI, E.; MAJDOUB, W. Nosocomial infections in the Intensive Care Unit: annual incidence rate and clinical aspects. **The Pan African Medical Journal**, v. 30, n. 143, p. 1-9, jun, 2018.

MOREIRA, T. S.; SOUZA, J. B. B.; STELLA A. E.; PAULA, E. M. N. Complexidade do controle de infecções nosocomiais veterinárias por *Pseudomonas aeruginosa*. In: IV Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar, II Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar, set, 2019, Goiás. **Anais IV Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar, II Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**. Goiás: UNIFIMES, 2019. p. 1-4.

NIKURA, M.; ATOBE, S.; TAKAHASHI, A.; KADO, Y.; SUGIMOTO, T.; TSUJI, H.; SHIMIZU, K.; OGURA, H.; ASAHARA, T. Development of a rapid and sensitive analytical system for *Pseudomonas aeruginosa* based on reverse transcription quantitative PCR targeting of rRNA molecules. **Emerging microbes & infections**, v. 10, n. 1, p. 677-686, apr, 2021.

OLIVEIRA, P. C. S. **Importância da enzima metalo  $\beta$  lactamase**. Academia de Ciências e Tecnologia de São José do Rio Preto, 2013. Disponível em: [https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/microbiologia/avaliacoes\\_especificas/12-Importancia-da-enzima-metalobetalactamase.pdf](https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/microbiologia/avaliacoes_especificas/12-Importancia-da-enzima-metalobetalactamase.pdf). Acesso em: 09 de março de 2022.

RAMAN, G.; AVENDANO, E.E.; CHAN, J. MERCHANT, S.; PUZNIAK, L. Risk factors for hospitalized patients with resistant or multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 1-14, jul, 2018.

RIBEIRO, E. A.; OLIVEIRA, R. A.; MELO, J. D. G.; SILVA, G. T. P.; CARNEIRO, J. L. S.; SILVA, I. K. L. Detecção fenotípica de bactérias Gram negativas produtoras de carbapenemases em efluente hospitalar na Amazônia, no estado do Pará, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, v. 47, n. 1. p. 1-11, dez, 2020. DOI: <http://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/7939>. Acesso em 28 fev. 2021.

RODRIGUES, C. M.O. C. **Prevalência e Perfil de Suscetibilidade de Isolados Clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* no Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra**. 2018. 91f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, set, 2018.

RÓS, A. C. R.; OLIVEIRA, D. R.; DEBON, R.; SCARATTI, M. Terapia intravenosa em idosos hospitalizados: avaliação de cuidados. **Cogitare Enfermagem**, v. 22, n. 2, p. 1-7, mai, 2017.

SACHDEVA, R.; SHARMA, B.; SHARMA, R. Evaluation of different phenotypic tests for detection of metallo- $\beta$ -lactamases in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of laboratory physicians**, v.9, n.4, p. 249–253, out-dec, 2017.

SILVA, T. M. de M.; MAGALHÃES, C. B. T.; OLIVEIRA, V. L. C. D.; FRANCO, V. M. D. F. Formação de biofilme em infecções pulmonares por *Pseudomonas aeruginosa*: Uma revisão literária. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 2, p. 37-37, jun, 2021.

SIQUEIRA, C. C. M.; GUIMARÃES, A. C.; MATA, T. F. D.; SANTOS, R. P.; RAYMUNDO, N. L. S.; DIAS, C. F.; MORAES, R. Prevalência de microrganismos e perfil de suscetibilidade antimicrobiana em um hospital universitário de Vitória (ES), Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 54, n. 2, p. 76-82, abr, 2018.

VAARA, M. Polymyxin derivatives that sensitize Gram-negative bacteria to other antibiotics. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 249, jan, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities**. Geneva: World Health Organization, 2017. 76p.

## 8 ANEXO



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** EPIDEMIOLOGIA DE MICRORGANISMOS MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL E MATERNIDADE MUNICIPAL DR. ODELMO LEÃO CARNEIRO, NA CIDADE DE UBERLÂNDIA, MG

**Pesquisador:** Lizandra Ferreira de Almeida e Borges

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 16186213.8.0000.5152

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências Biomédicas

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 463.877

**Data da Relatoria:** 22/11/2013

**Apresentação do Projeto:**

Segundo apresenta o protocolo: "A emergência e a disseminação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos tem se tornado um problema comum de saúde pública em instituições de saúde. Além disso, o surgimento alarmante de bactérias multirresistentes pode conduzir a casos clínicos não tratáveis e ao aumento os custos, devido a necessidade de hospitalização prolongada e de uso de drogas mais caras. A epidemiologia auxilia a vigilância destes microrganismos no ambiente hospitalar, contribuindo para a determinação das fontes de contaminação, rastreamento das amostras pertencentes ao mesmo perfil fenotípico, genotípico e evolução das síndromes infecciosas, viabilizando assim a determinação de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos epidêmicos ou endêmicos nos hospitais. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de microrganismos multirresistentes, bem como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, na etiopatogenia das infecções nas diferentes unidades de um hospital municipal na cidade de Uberlândia, MG.

Este estudo será realizado a partir das culturas bacterianas positivas e perfil de suscetibilidade e resistência aos antimicrobianos, além de pesquisa dos mecanismos de resistência das amostras de *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus spp.*; *Klebsiella pneumoniae* e outras *Enterobactérias*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Com este estudo espera-se propor

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

## 9 APÊNDICE

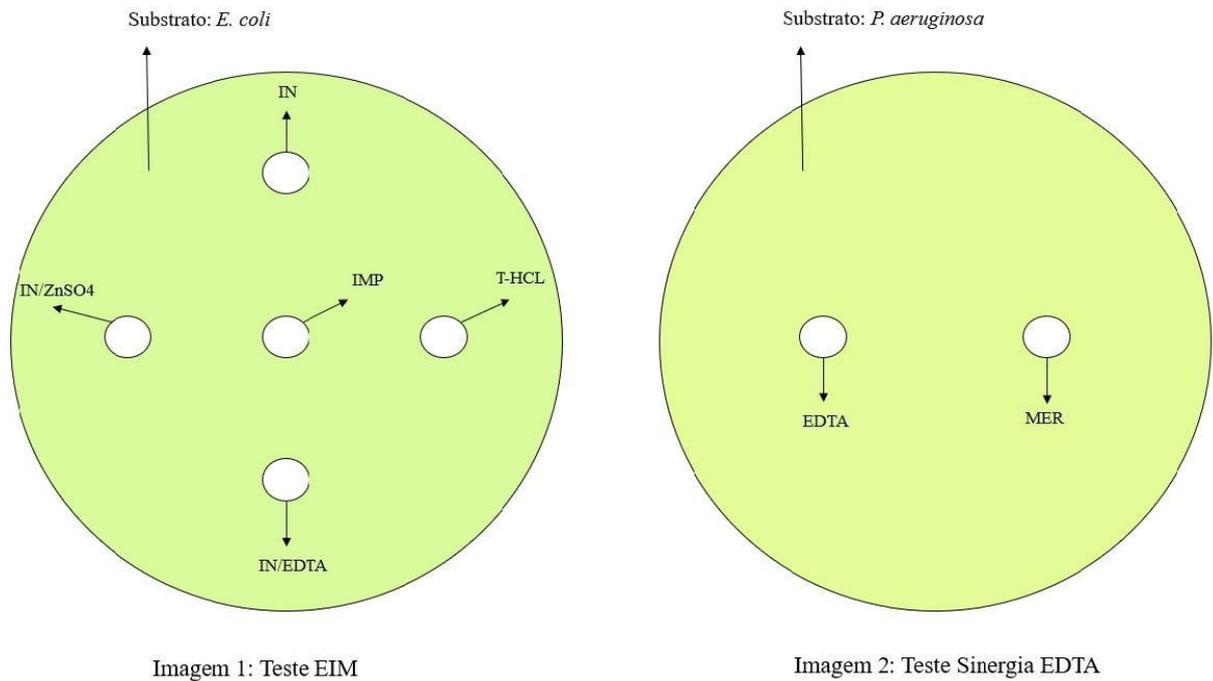


Figura 1 – Representação dos Ensaios de EIM e IPM.

Imagem 1: IN – disco contendo inóculo teste; IMP – disco de imipenem; T-HCL – disco contendo tampão Tris-HCl; IN/EDTA – disco contendo inóculo teste com EDTA; IN/ZnSO4 – disco contendo inóculo teste com sulfato de zinco.

Imagem 2: EDTA – disco contendo EDTA; MER – disco de meropenem.