



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

NATHALY BRUNA DE OLIVEIRA SILVA

***Klebsiella pneumoniae* PROVENIENTES DE PACIENTES DE
UM HOSPITAL PÚBLICO DE RECIFE-PE ANTES E
DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19: PERFIL DE
RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS, GENES *bla*_{KPC} E
*bla*_{NDM} E FORMAÇÃO DE BIOFILME**

Recife
2023

NATHALY BRUNA DE OLIVEIRA SILVA

***Klebsiella pneumoniae* PROVENIENTES DE
PACIENTES DE UM HOSPITAL PÚBLICO DE RECIFE-PE
ANTES E DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19: PERFIL
DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS, GENES *bla*_{KPC} E
*bla*_{NDM} E FORMAÇÃO DE BIOFILME**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: MSc. Érica Maria de Oliveira.
Co-orientadora: Prof. Dra. Ana Catarina de
Souza Lopes.

Recife
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Oliveira Silva, Nathaly Bruna de.

Klebsiella pneumoniae provenientes de pacientes de um hospital público de Recife-PE antes e durante a pandemia da covid-19: perfil de resistência a antimicrobianos, genes blaKPC e blaNDM e formação de biofilme / Nathaly Bruna de Oliveira Silva. - Recife, 2023.

60 : il., tab.

Orientador(a): Érica Maria Oliveira

Coorientador(a): Ana Catarina de Souza Lopes

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2023.

1. *Klebsiella pneumoniae*. 2. Covid-19. 3. Infecção bacteriana. 4. Virulência. 5. Resistência bacteriana. I. Oliveira, Érica Maria. (Orientação). II. Souza Lopes, Ana Catarina de. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

NATHALY BRUNA DE OLIVEIRA SILVA

***Klebsiella pneumoniae* PROVENIENTES DE PACIENTES DE UM
HOSPITAL PÚBLICO DE RECIFE-PE ANTES E DURANTE A
PANDEMIA DA COVID-19: PERFIL DE RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS, GENES *bla*_{KPC} E *bla*_{NDM} E FORMAÇÃO DE
BIOFILME**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
Graduação em Biomedicina da
Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Aprovada em: 25/04/2023

BANCA EXAMINADORA

Orientador: MSc. Érica Maria de Oliveira.
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, CCM, UFPE

Dr^a Dyana Leal Veras
Instituto Aggeu Magalhães- IAM/FIOCRUZ

MSc. Lamartine Rodrigues Martins.
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, CCM, UFPE

Dedico a minha maior inspiração, minha mãe Alexandra Maria de Oliveira (*in memorian*), que sempre será meu amor, minha vida, meu tesouro e minha paixão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela sua constante presença e cuidado em minha vida, que me fortaleceu para concluir este trabalho, conforme Filipenses 4:13.

Agradeço às minhas orientadoras Érica Maria de Oliveira e a Profa. Dra. Ana Catarina, pelos direcionamentos e suporte prestados durante a elaboração deste trabalho. Agradeço ao CNPq e UFPE pelo aporte financeiro ao projeto via PIBIC/UFPE/CNPq 2022-2023. Aos componentes do LabMol, Izabelly e Lamartine, suas contribuições foram valiosas para o desenvolvimento deste trabalho. Aos professores e funcionários do CCS/CB/CCM - UFPE, que contribuíram na minha formação acadêmica e profissional.

Agradeço imensamente aos meus pais, Alexandra Oliveira (*in memorian*), Adriana Oliveira, Thiago Costa e Cícera Oliveira, pelo infinito amor, cujas orações e constante apoio guiaram meus passos em cada etapa deste caminho.

À minha família, painho, minha vó Ceça, todos os meus tios, tias, e primos, por sempre acreditarem em mim. Vocês são meus maiores incentivadores.

Ao meu namorado Lucas, por todo carinho e suporte. O seu apoio foi essencial para me manter motivada e confiante durante os desafios percorridos.

Agradeço a Maggie, pelo seu amor puro e incondicional, aliviando o estresse e sendo minha companhia durante as longas horas de estudo.

Aos meus amigos do Miau Squad, Clara Cavalcante, Mariana Cavalcanti, João Lucas, Ana Barbára, Lorennny Guedes e Saulo Brivaldo. Com vocês, cada dia na UFPE foi especial e memorável, e sou imensamente grata pelo companheirismo, risadas e apoio ao longo da graduação. Agradeço igualmente aos meus colegas de estágio, Lucas Rodrigues e Henrique Araújo pela amizade e momentos de descontração no Real Hospital Português, tornando os desafios da conclusão do curso mais leve.

À Igreja Universal, em especial o FJU, por ser a presença viva de Cristo em minha vida, onde aprendi a desenvolver a verdadeira fé em Deus.

Agradeço a mim mesma, reconhecendo meu esforço e capacidade de evolução como estudante e como pessoa. E a todos que fizeram parte desta fase importante da minha vida, direta ou indiretamente.

“Tudo no mundo começou com um sim. Uma molécula disse sim a outra molécula e nasceu a vida. Mas antes da pré-história havia a pré-história da pré-história e havia o nunca e havia o sim. Sempre houve.”

– Clarice Lispector.

SILVA, Nathaly Bruna Oliveira. ***Klebsiella pneumoniae* provenientes de pacientes de um hospital público de Recife-PE antes e durante a pandemia da covid-19: perfil de resistência a antimicrobianos, genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* e formação de biofilme**. 2023. 60. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

RESUMO

Klebsiella pneumoniae está entre as principais bactérias envolvidas em Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAs) e colonizando pacientes acometidos pela covid-19. Tratando-se de uma espécie que pode apresentar diversos fatores de virulência e resistência envolvidos na gravidade dessas infecções adicionando um curso grave que pode ser fatal. Concomitante a essa circunstância, durante a pandemia da covid-19, o uso abusivo de antimicrobianos ficou ainda mais evidente, particularmente entre pacientes internados expostos a dispositivos invasivos. Desse modo, o presente estudo tem como objetivo determinar e comparar o perfil de resistência a antimicrobianos, os genes de resistência *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* e a formação de biofilme em isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados antes e durante a pandemia da covid-19 em um hospital público de Recife-PE. Foram analisados 45 isolados de *K. pneumoniae* provenientes de pacientes internados coletados nos anos de 2019, 2021 e 2022, considerando os períodos pré-pandêmico e pandêmico da covid-19. A identificação bioquímica e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizada no hospital de estudo pelo sistema automatizado Phoenix-BD™ M50. A identificação dos genes de resistência *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* foi realizada mediante a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), e a avaliação da produção de biofilme foi executada de acordo com a metodologia descrita por O'Tooler (2011). A análise do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, observou-se que amicacina e colistina foram os antimicrobianos mais eficazes, tanto antes (2019), como durante (2021 e 2022) a pandemia da covid-19. Os isolados de *K. pneumoniae* coletados durante a pandemia (2021 e 2022) apresentaram maior resistência a amicacina quando comparados com os isolados coletados no ano de 2019. Todos os 45 isolados de *K. pneumoniae* apresentaram resistência às cefalosporinas de terceira e quarta geração e as quinolonas independente do período analisado. Todos os isolados analisados foram classificados como produtores de biofilme, entretanto houve um aumento da prevalência de isolados fortemente produtores de biofilme em 2021 (40%), ano de maior número de casos da covid-19. O gene *bla_{NDM}* foi mais prevalente durante a pandemia da covid-19 (73%) em 2021 e 2022, enquanto o gene *bla_{KPC}* apresentou baixa ocorrência nesse mesmo período (17%). Todos os isolados de *K. pneumoniae* com os genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* simultaneamente presentes, foram classificados como produtores moderados de biofilme. O aumento no perfil de resistência a amicacina e a alta detecção do gene *bla_{NDM}* associada ao aumento de isolados fortemente produtores de biofilme nos isolados de *K. pneumoniae* coletados nos anos de 2021 e 2022, apontam para a evolução contínua da espécie e sugere a influência do período pandêmico no perfil de resistência e virulência bacteriana.

Palavras-chave: SARS-CoV-2. *Enterobacteriaceae*. Infecção bacteriana. Virulência. Resistência bacteriana.

SILVA, Nathaly Bruna Oliveira. ***Klebsiella pneumoniae* provenientes de pacientes de um hospital público de Recife-PE antes e durante a pandemia da covid-19: perfil de resistência a antimicrobianos, genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* e formação de biofilme**. 2023. 60. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae is among the main bacteria involved in Healthcare Related Infections (IRAs) and colonizing patients affected by covid-19. Since it is a species that can present several virulence and resistance factors involved in the severity of these infections, adding a serious course that can be fatal. Concomitant to this circumstance, during the covid-19 pandemic, the abusive use of antimicrobials became even more evident, particularly among hospitalized patients exposed to invasive devices. Thus, the present study aims to determine and compare the antimicrobial resistance profile, *bla_{KPC}* and *bla_{NDM}* resistance genes and biofilm formation in clinical isolates of *K. pneumoniae* collected before and during the covid-19 pandemic in a public hospital in Recife-PE. Forty-five *K. pneumoniae* isolates from hospitalized patients collected in the years 2019, 2021 and 2022 were analyzed, considering the pre-pandemic and pandemic periods of covid-19. The biochemical identification and antimicrobial susceptibility profile was performed at the study hospital using the Phoenix-BD™ M50 automated system. The identification of *bla_{KPC}* and *bla_{NDM}* resistance genes was performed using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, and the evaluation of biofilm production was performed according to the methodology described by O'Tooler (2011). The analysis of the susceptibility profile to antimicrobials, it was observed that amikacin and colistin were the most effective antimicrobials, both before (2019) and during (2021 and 2022) the covid-19 pandemic. *K. pneumoniae* isolates collected during the pandemic (2021 and 2022) showed greater resistance to amikacin when compared to isolates collected in 2019. All 45 *K. pneumoniae* isolates showed resistance to third-and fourth-generation cephalosporins and quinolones regardless of the period analyzed. All analyzed isolates were classified as biofilm producers, however there was an increase in the prevalence of strongly biofilm producing isolates in 2021 (40%), the year with the highest number of cases of covid-19. The *bla_{NDM}* gene was more prevalent during the covid-19 pandemic (73%) in 2021 and 2022, while the *bla_{KPC}* gene had a low occurrence in the same period (17%). All *K. pneumoniae* isolates with the *bla_{KPC}* and *bla_{NDM}* genes simultaneously present were classified as moderate biofilm producers. The increase in the amikacin resistance profile and the high detection of the *bla_{NDM}* gene associated with the increase in isolates that are strongly biofilm-producing in the *K. pneumoniae* isolates collected in the years 2021 and 2022, point to the continued evolution of the species and show the influence of the pandemic period on the profile of bacterial resistance and virulence.

Key words: SARS-CoV-2. *Enterobacteriaceae*. Bacterial infection. Virulence. Bacterial resistance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Colônias de <i>K. pneumoniae</i> semeadas em Ágar MacConkey.....	19
Figura 2 – Imagem ilustrativa das principais resistências desenvolvidas pelas bactérias aos antimicrobianos.....	23
Figura 3 – Genes de resistências detectados nos isolados de <i>K. pneumoniae</i> coletados antes da pandemia de covid-19 (2019) e durante a pandemia (2021 e 2022).....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Primers utilizados na PCR para detecção dos genes de resistência *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} nos isolados clínicos de *K. pneumoniae*.....34

Tabela 2 – Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2019.....41

Tabela 3 – Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2021.....43

Tabela 4 – Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2022.....45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMI	Amicacina
AMP	Ampicilina
CFZ	Cefazolina
CIP	Ciprofloxacina
CIP	Ceftazidima
COL	Colistina
CPM	Cefepima
CTX	Ceftriaxona
CTZ	Ceftazidima
DO	Densidade Óptica
EMB	Eosina Azul de Metileno
ERT	Ertapenem
FG6	Fosfomicina com G6P
GEN	Gentamicina
IMI	Imipenem
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
LVX	Levofloxacina
MDR	Multidroga-resistente
MER	Meropenem
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDR	Pandorga-resistente
PIT	Piperacilina-Tazobactam
SAM	Ampicilina/sulbactam
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SIM	Sulfeto, Indol e Motilidade
SXT	Trimetoprim-Sulfametoxazol
TSI	Tríplice açúcar-ferro
UCO	Unidade de Terapia Intensiva Coronariana
UTI NEO	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VAN	Vancomicina
XDR	Extensivamente resistente
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
µmol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2. 1 COVID-19	13
2. 2 INFECÇÕES SECUNDÁRIAS, COINFECÇÕES E COLONIZAÇÃO NA COVID-19	16
2. 3 <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	18
2. 4 ANTIMICROBIANOS	19
2. 5 RESISTÊNCIA BACTERIANA	21
2. 5. 1 Carbapenemases	23
2. 5. 1. 1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase (KPC)	24
2. 5. 1. 2 Nova Deli Metallo-betalactamases (NDM)	26
2. 6 FATOR DE VIRULÊNCIA: BIOFILME	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4 METODOLOGIA	31
4.1 ORIGEM E COLETA DAS AMOSTRAS	31
4.2 ISOLADOS BACTERIANOS	31
4.3 SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA	32
4.4 AVALIAÇÃO DE BIOFILME	32
4.5 EXTRAÇÃO DE DNA TOTAL	33
4.6 CONDIÇÕES DE PCR PARA OS GENES DE RESISTÊNCIA: <i>BLANDM</i> E <i>BLAKPC</i>	33
4.7 ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE	34
4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5. 1 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	35
5. 2 OCORRÊNCIA DOS GENES DE RESISTÊNCIA <i>BLAKPC</i> E <i>BLANDM</i>	36
5. 3 AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME	38
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A covid-19 foi identificada em 2019, e rapidamente se espalhou pela China continental, tornando-se uma ameaça mundial, levando a uma pandemia declarada pela OMS em março de 2020 (VELLANO *et al.*, 2020). Sabe-se que infecções pela covid-19 podem ainda estar associadas a outras infecções de forma concomitante, como por exemplo, pneumonias bacterianas adquiridas na comunidade, ou ainda, desenvolverem infecções secundárias em decorrência de procedimentos invasivos para o tratamento de pacientes acometidos nos casos graves (ALSHAIKH *et al.*, 2022).

No cenário pandêmico, as infecções virais juntamente com as coinfeções e infecções secundárias apresentam um grande problema de saúde global, contribuindo para o agravamento da mortalidade dos pacientes (DUMITRU *et al.*, 2021). O perfil de resistência dos patógenos mudou ao longo do tempo, isso é nítido ao passar das pandemias gripais, onde a coinfeção viral-bacteriana demonstra efeitos cada vez mais nocivos. (LIU *et al.*, 2021). Diante disso, pacientes submetidos a procedimentos invasivos estão predispostos ao desenvolvimento de infecções secundárias e mais vulneráveis à colonização por bactérias multirresistentes (COSTA *et al.*, 2022).

Klebsiella pneumoniae multidroga-resistente (MDR), envolvida em Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), é considerada uma ameaça urgente pela *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) desde 2013, devido ao número de ocorrência de óbitos, necessitando de ações urgentes para o seu controle (CDC, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Durante a pandemia da covid-19, o uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento empírico de coinfeções e infecções secundárias por *K. pneumoniae* ficou ainda mais evidente contribuindo ainda mais para a seleção de isolados resistentes a várias classes de antimicrobianos (DOS SANTOS *et al.*, 2023). A doença de coronavírus 2019 favoreceu o aumento da hospitalização e o provável uso de fármacos de amplo espectro de forma generalizada entre pacientes, aumentando o grau de resistência para as terapias antimicrobianas disponíveis (CHEN *et al.*, 2023).

A *K. pneumoniae* possui mecanismo de resistência aos carbapenêmicos mediado pela produção de carbapenemases, que causam resistência aos antimicrobianos ertapenem, imipenem e meropenem, utilizados no tratamento de infecções por bactérias gram negativas. Dentre as carbapenemases, as de maior

destaque epidemiologicamente são a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) e Nova Delhi metalobetalactamases (NDM), por apresentarem uma disseminação mundial rápida e ampla logo após seus primeiros relatos (RODRÍGUEZ *et al.*, 2023). Isolados produtores de KPC e NDM vem sendo relatado nos últimos anos em Recife-PE, não só em *K. pneumoniae*, mas também em outras espécies de bactérias gram-negativas, incluindo as não fermentadoras (SCAVUZZI *et al.*, 2019; FIRMO *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020; DE OLIVEIRA ALVES *et al.*, 2022).

Além da resistência aos antimicrobianos, *K. pneumoniae* pode apresentar alguns fatores de virulência, dentre eles a capacidade de formação de biofilme, que é considerado um importante mecanismo de defesa e sobrevivência para a espécie, auxiliando na capacidade de evasão do sistema imune, além de se tornarem mais resistentes à ação de antimicrobianos (NIRWATI *et al.*, 2019).

Portanto, considerando o aumento do uso indiscriminado de antimicrobianos durante a pandemia da covid-19 para o tratamento empírico de coinfeções e infecções secundárias em pacientes com covid-19; e que isolados clínicos de *K. pneumoniae* podem apresentar a capacidade de formação de biofilme, esse estudo teve como objetivo determinar e comparar o perfil de resistência a antimicrobianos, a presença dos genes de resistência *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} e a produção de biofilme de isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados antes da pandemia de covid-19 (2019) e durante a pandemia (2021 e 2022), provenientes de pacientes de um hospital público de Recife-PE.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. 1. COVID-19

A covid-19 foi identificada pela primeira vez em Wuhan, China, em dezembro de 2019. A Comissão Municipal de Saúde de Wuhan notificou vários casos de pneumonia desconhecida atreladas ao mercado atacadista de Huanan (SHENG-QUN; HONG-JUAN, 2020). Em um curto período, várias unidades de saúde na China notificaram o surto de pneumonia viral e rapidamente se tornou uma ameaça global. Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou oficialmente a pandemia de covid-19 como uma emergência de saúde pública internacional, com

mais de 100 mil casos distribuídos em 114 países (CAVALCANTE *et al.*, 2020; CRUZ *et al.*, 2020)

Nos 30 dias iniciais da disseminação da covid-19, foram registrados 11.821 casos e 259 óbitos na China (CRUZ *et al.*, 2020). Entre os primeiros pacientes hospitalizados documentados, a maioria dos casos estavam epidemiologicamente relacionados a um mercado de carnes exóticas, localizado no centro de Wuhan, onde também era comercializado frutos do mar e animais vivos, incluindo aves e animais selvagens (SHENG-QUN; HONG-JUAN, 2020; SHIBO *et al.*, 2020).

A covid-19 é causada pelo coronavírus 2, um beta-coronavírus de RNA envelopado, responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), que pertence à família *Coronaviridae*, ao gênero *Betacoronavirus* e ao subgênero *Sarbecovirus*, sendo o SARS-CoV-2 o sétimo coronavírus humano descrito, constituído por RNA de fita simples positiva e contém uma cápsula lipoproteica (KHALIL; KHALIL, 2020). Sua transmissão entre humanos é principalmente por aerossóis virais que podem ser transmitidos a partir da inalação ou contato com gotículas infectadas, através da saliva, espirros, contato entre mãos, e uso de objetos pessoais seguido de contato com o muco nasal (XAVIER *et al.*, 2020). Possui um período de incubação que varia entre 2 a 14 dias (LIU *et al.*, 2020; ROHIT *et al.*, 2020).

A sintomatologia inicial da covid-19 mais relatada é a febre, desconforto torácico, tosse, em casos mais graves pacientes apresentam dispnéia e infiltrado pulmonar bilateral (NA ZHU *et al.*, 2019). Contudo, suas manifestações clínicas são altamente variáveis de indivíduo para indivíduo, podendo apresentar-se assintomática, ou sintomática manifestando pneumonia grave e/ou manifestações sistêmicas, como sepse, falência de múltiplos órgãos e choque séptico (CAO *et al.*, 2020). O sistema de invasão celular do SARS-CoV-2, é mediante ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (CE2), principalmente nos rins, pulmões e no coração, acarretando na liberação acentuada de citocinas e um ambiente celular de hiperinflamação, esse cenário celular é responsável por causar danos a múltiplos órgãos (SHI *et al.*, 2020).

Até o presente momento já foram registrados mais de seiscentos milhões de casos e seis milhões de óbitos em todo o mundo, de acordo com o website do Sistema de Informação da Universidade Johns Hopkins (2023). O Brasil está entre os países mais afetados pela pandemia de covid-19. A primeira onda da pandemia no Brasil começou em fevereiro de 2020, quando o país registrou seu primeiro caso de covid-

19, no estado de São Paulo. No mesmo ano, o país foi classificado como o segundo no mundo em número de casos e mortes relacionados à doença, com mais de 1.000 mortes registradas por dia (ALBUQUERQUE *et al.*, 2023). No início de 2021, o Brasil foi atingido por uma segunda onda de covid-19, que apresentou características distintas da primeira onda. Durante a segunda onda da pandemia, houve uma disseminação intensa e generalizada da covid-19 em várias regiões do Brasil, o que acarretou uma sobrecarga ao sistema de saúde, que já se encontrava em um estado de tensão após um ano de enfrentamento à doença (BASTOS *et al.*, 2021).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (2022), embora o número de casos e mortes tenha diminuído em relação ao pico da segunda onda no início de 2021, ainda há um número significativo de casos e mortes diárias na América Central e do Sul. Além disso, há preocupações com o surgimento de novas variantes do vírus, que podem apresentar maior capacidade de transmissão ou possivelmente contornar parcialmente a proteção conferida pelas vacinas.

A pandemia da covid-19 representa um grande desafio para o Brasil, que tem adotado medidas para conter a propagação do vírus e evitar a sobrecarga do sistema de saúde. No entanto, a capacidade do sistema de saúde é desigual em todo o país, o que pode colocar em risco a vida de pessoas vulneráveis. Estudos mostram que a pandemia tem afetado de forma desproporcional as populações mais pobres e vulneráveis, que muitas vezes dependem do Sistema Único de Saúde (SUS) (WERNECK, 2022). Além disso, a pandemia tem sido associada a um aumento na mortalidade por outras doenças. Por consequência, a infecção por SARS-CoV-2 acentua o quadro inflamatório crônico pré-existente, em pacientes com diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e respiratórias, imunodeficiências, e em pacientes de idade avançada (SHI *et al.*, 2020).

Adicionalmente, a propagação da covid-19 no Brasil tem sido associada a um aumento na incidência de infecções, coinfeções e colonizações bacterianas em pacientes hospitalizados e na comunidade em geral, o que pode piorar o prognóstico da doença. Isso ocorre principalmente em virtude do comprometimento do sistema imunológico dos indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2, o que os torna mais suscetíveis a infecções bacterianas secundárias. Através de estudos têm-se demonstrado um aumento na incidência de infecções por bactérias, dentre os microrganismos de maior destaque estão *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Estafilococos* coagulase negativos, *Escherichia coli*,

bactérias da família dos *Enterococos* e *Pseudomonas aeruginosa* (BAZAID *et al.*, 2022; DE LIMA *et al.*, 2022).

2. 2. INFECÇÕES SECUNDÁRIAS, COINFECÇÕES E COLONIZAÇÃO NA COVID-19

Infecções por patógenos virais levam a uma imunossupressão, tornando o paciente suscetível a novas infecções (SAINI *et al.*, 2021). Usando como exemplo a SARS-CoV 2, tem sido notificado quadros de coinfeções e infecções secundárias, dentre elas, as infecções bacterianas, que são capazes de aumentar expressivamente a taxa de mortalidade dos pacientes infectados pelo vírus (VISWANATH *et al.*, 2022).

Infecção secundária é caracterizada por ser diagnosticada após o período de 48 horas de internamento, onde o paciente adquire o microrganismo no ambiente hospitalar (NAKAGAWARA *et al.*, 2023), a *Acinetobacter sp.* ganha destaque nessa categoria (GARCIA-VIDAL *et al.*, 2021). Já a coinfeção pode ser diagnosticada durante as primeiras 24 horas de internamento, ou seja, proveniente dos microrganismos que já fazem parte da microbiota do indivíduo ou podem ser adquiridas na comunidade (WU *et al.*, 2022). CHEN, Wei-Cheng *et al.* (2020), relata um caso de coinfeção bacteriana em um paciente com covid-19 que faleceu em Taiwan. O agente bacteriano identificado foi a *K. pneumoniae*, que foi isolada do trato respiratório inferior do paciente. O artigo sugere que a coinfeção por bactérias, como a *K. pneumoniae*, pode aumentar a gravidade e mortalidade da covid-19, destacando a importância do monitoramento e tratamento de infecções bacterianas nesses pacientes. Embora outros estudos incluam outras espécies bacterianas causando infecções secundárias e coinfeções em pacientes com covid-19, a *K. pneumoniae* é mencionada como uma das espécies mais comuns (LANGFORD *et al.*, 2020; SREENATH *et al.*, 2021; BAZAID *et al.*, 2022; TOUNY *et al.*, 2023).

Em um estudo nos Estados Unidos foi analisado uma taxa de 21% de detecção de outros patógenos entre pacientes hospitalizados durante a infecção por covid-19, havendo maior proporção de microrganismos de origem hospitalar, culminando em um maior uso de antibioticoterapia e tempo de internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (PUZNIAK *et al.*, 2021). É comum em pacientes críticos a utilização de drogas imunossupressoras com o objetivo de reduzir a resposta imunológica exacerbada caracterizada pela liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias induzida por infecções virais. Contudo, a decorrência da utilização desses

medicamentos, atrelados a intensa atividade imunológica, permite a susceptibilidade do organismo para o desenvolvimento de infecções por outros microrganismos (FERNANDES *et al.*, 2021).

Concomitante a isso, pacientes hospitalizados com covid-19 estão sob risco de infecções associadas aos cuidados em saúde. Visto que a admissão em UTI se relaciona a diversos procedimentos invasivos, como cânulas nasais de alto fluxo, realização de acessos intravenosos, ventilação mecânica invasiva e utilização de cateteres urinários e intravenosos. Esses dispositivos médicos favorecem o organismo a comunicação direta entre o ambiente interno e externo, aumentando o risco de desenvolver infecções secundárias (RAWSON TM *et al.*, 2020).

Em estudo de Li *et al* (2020), foi observado que pacientes submetidos à ventilação mecânica invasiva ou que utilizavam cateter central apresentavam maior predisposição ao desenvolvimento de infecções bacterianas secundárias, sendo a *A. baumannii* e *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, as bactérias mais comumente isoladas nesses pacientes. Nesse mesmo estudo, quase metade dos pacientes que adquiriram infecções secundárias vieram a óbito.

A colonização é um processo em que um microrganismo multidroga-resistente (MDR) pode habitar o corpo humano sem causar nenhum tipo de sintoma ou doença, mas ainda assim permanece no organismo. Esse processo de aderência e multiplicação dos microrganismos pode ocorrer no intestino, nas narinas, na garganta, na pele ou em qualquer parte do corpo (RIBEIRO *et al.*, 2022). A colonização intestinal por bactérias (MDR) ocorre quando esses microrganismos aderem e se multiplicam na mucosa intestinal sem causar uma infecção aguda. Alguns estudos mostram evidências que a colonização intestinal precede a infecção invasiva por *K. pneumoniae* (CORREIA, 2022). Essa colonização pode ocorrer em pacientes hospitalizados que receberam tratamento com antimicrobianos de amplo espectro, o que favorece o surgimento de bactérias resistentes, ou em indivíduos que convivem em ambientes com alta prevalência dessas bactérias.

Acrescentando-se a isso, a colonização intestinal é um fator de risco importante para o desenvolvimento de infecções subsequentes, tanto para o próprio indivíduo colonizado quanto para outros pacientes que compartilham o mesmo ambiente hospitalar. Pacientes com covid-19 têm um risco aumentado de colonização por *K. pneumoniae* devido à sua imunidade comprometida e à exposição prolongada em hospitais. Na Espanha, Cano-Martín (2021) menciona um aumento significativo na

infecção/colonização por bactérias resistentes a carbapenêmicos no hospital estudado, onde comparou-se os dados clínicos de pacientes em 2019 e 2020 positivos para infecção por covid-19. O estudo sugere que a pandemia pode ter contribuído para o aumento da prevalência de bactérias resistentes a antimicrobianos, possivelmente devido ao seu uso excessivo durante o tratamento de pacientes com covid-19 e outras infecções hospitalares.

Diante disso, sabe-se que o aumento da prescrição de antimicrobianos de amplo espectro durante a pandemia de covid-19 teve impacto no aumento da resistência bacteriana, principalmente para as bactérias gram-negativas (MESQUITA, *et al.*, 2022).

2. 3. *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

K. pneumoniae é uma bactéria gram-negativa, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, que mede cerca de 0,3 a 1 µm de diâmetro e 0,6 a 6,0 µm de comprimento (ALENCAR *et al.*, 2016). É anaeróbio facultativo, apresentando melhor crescimento em condições aeróbias, não esporulado e imóvel. Foi primeiramente descrita no final do século XIX pelo microbiologista alemão Edwin Klebs (KONEMAN *et al.*, 2015). O gênero *Klebsiella* é composto atualmente por treze espécies e sete subespécies. As subespécies são: *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*, *K. pneumoniae subsp. ozaenae*, *K. pneumoniae subsp. aerogenes*, *K. pneumoniae subsp. planticola*, *K. pneumoniae subsp. fulvum* e *K. pneumoniae subsp. pallescens* (LPSN, 2021).

As características bioquímicas da *K. pneumoniae* auxiliam na sua identificação. Por ser fermentador de lactose, em meios de isolamentos diferenciais, como ágar MacConkey e Eosina Azul de Metileno (EMB) produzem colônias grandes e mucóides, rósea e com aspecto viscoso quando semeada (GOMES, 2018) (Figura 1). Além de serem lactose positiva, produzem urease, citrato positivo, oxidase negativa, são imóveis, podendo apresentar gás ou não.

Figura 1 – Colônias de *K. pneumoniae* semeadas em Ágar MacConkey.



Fonte: MEDICAL LABS, 2023. Acesso em: 11 de abr. 2023.

A espécie *K. pneumoniae* encontra-se livremente no meio ambiente, como em água e nos alimentos, e pode estar naturalmente no intestino humano. É classificada como um patógeno responsável por causar graves infecções e bacteremias. Sendo considerado um microrganismo oportunista, que acomete indivíduos imunossuprimidos e pacientes internalizados (ALI *et al.*, 2022). *K. pneumoniae* é uma bactéria considerada endêmica no Brasil, por causar grande sobrecarga ao SUS, devido a sua alta taxa de mortalidade e prevalência. Pois possui alta capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos (SOARES *et al.*, 2012). A *K. pneumoniae* é conhecida por ser uma importante produtora de betalactamases, algumas cepas apresentam múltiplos genes codificadores dessas enzimas, contribuindo para a resistência a múltiplos antibióticos.

2.4. ANTIMICROBIANOS

Em 1928, o microbiologista britânico Alexander Fleming observou que o crescimento de *Staphylococcus aureus* estava inibido ao redor de uma colônia de fungos em uma placa de Petri. Este fungo foi identificado como *Penicillium notatum*, seu composto ativo foi isolado e chamado de penicilina. Esse achado permitiu a descoberta e o desenvolvimento de outros compostos antimicrobianos entre 1940 e

1960, que levou à descoberta de muitas outras classes de antibióticos atualmente em uso (WALESCH *et al.*, 2023). Os antimicrobianos são utilizados para tratar doenças infecciosas em que as defesas naturais do corpo são incapazes de combater. Eles matam ou inibem o crescimento de microrganismos, sem causar danos ao hospedeiro (COSTANZO *et al.*, 2023).

Os antimicrobianos possuem diferentes mecanismos de ação, que incluem a inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese de proteínas, inibição da síntese de ácidos nucleicos, danos à membrana plasmática e a inibição da síntese de metabólitos essenciais. A penicilina e outros antibióticos agem inibindo a síntese de peptidoglicanos, o que leva a graves alterações ultraestruturais, enfraquecimento da parede celular e lise celular (TORTORA *et al.*, 2016).

Os antibióticos β -lactâmicos são amplamente utilizados na prática clínica devido à sua segurança e baixa toxicidade. Eles agem inibindo a síntese da parede celular bacteriana, afetando a ligação cruzada dos peptidoglicanos, o que resulta na lise e morte da bactéria. Esse mecanismo de ação é específico para a classe dos β -lactâmicos e é uma das razões pelas quais esses medicamentos são tão eficazes contra as bactérias. Além disso, sua baixa toxicidade torna-os uma opção segura para o tratamento de infecções bacterianas (MARANGONI *et al.*, 2022). São pertencentes a esse grupo, penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e os monobactams (MURAI *et al.*, 2022).

Os carbapenêmicos são considerados β -lactâmicos de maior espectro de ação (AURILIO *et al.*, 2022). Sendo constituídos por uma classe de antimicrobianos que possuem um anel piridínico em sua estrutura, contendo uma molécula de nitrogênio. São amplamente utilizados para tratar infecções graves causadas por bactérias MDR (MURAI *et al.*, 2022). Assim como a penicilina e as cefalosporinas, os carbapenêmicos agem como agentes bactericidas, inibindo a síntese da parede celular bacteriana ao se ligarem às PBPs (Proteínas de Ligação à Penicilina), demonstrando menos resistência do que outros antibióticos da mesma classe, devido a sua estabilidade à hidrólise por β -lactamases incluindo as ESBL (Beta-lactamase de espectro estendido) (DE ALMEIDA *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, houve um aumento no uso dos carbapenêmicos para tratar infecções por patógenos nosocomiais gram-negativos multirresistentes (KARAMPATAKIS *et al.*, 2023). Esses antibióticos são considerados a droga de escolha para tratar infecções graves com enterobactérias produtoras de ESBL. Devido

ao seu amplo espectro de atividade, eles são frequentemente usados como terapia empírica para infecções potencialmente letais (AURILIO *et al.*, 2022). Apesar dos carbapenêmicos serem considerados eficazes no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas MDR, como *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL, essas bactérias têm desenvolvido resistência por meio de diversos mecanismos, como a produção de carbapenemases, enzimas capazes de hidrolisar e inativar os carbapenêmicos, tornando-os ineficazes (SEKOWSKA *et al.*, 2023).

A resistência bacteriana é um problema crescente e um desafio global significativo para a descoberta de novos antimicrobianos eficazes. Apesar dos avanços em pesquisas e desenvolvimento, poucas substâncias foram identificadas como possíveis antibióticos eficazes. Além disso, o número de novos antimicrobianos desenvolvidos têm diminuído progressivamente desde a década de 90, e muitos deles são pequenas modificações de drogas já existentes (COSTANZO *et al.*, 2023). A diminuição na descoberta de novos antimicrobianos é um sinal preocupante, uma vez que a resistência bacteriana continua a se disseminar e representa um grande desafio para a saúde pública.

2. 5. RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência bacteriana pode ter várias origens, sendo a mais comum a seleção natural. Isso se deve à capacidade das bactérias de se adaptar ao ambiente e desenvolver mecanismos de resistência para sobreviver a situações adversas, incluindo a exposição a antibióticos. Além disso, a transferência de genes de resistência entre diferentes espécies bacterianas por meio de processos de transferência horizontal também é um fator importante na disseminação da resistência. Com isso, o número de resistência bacteriana evolui mais rapidamente que o processo de descobrimento de novos fármacos antimicrobianos para serem utilizados em terapias de casos mais graves (REZENDE *et al.*, 2022).

Esse cenário está associado à capacidade de muitas cepas realizarem a inativação de fármacos antimicrobianos mediante a produção de enzimas β -lactamases de espectro expandido (ES β L) e carbapenemases. As ES β Ls são capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de espectro expandido e monobactâmicos, enquanto as carbapenemases são capazes de hidrolisar os

carbapenêmicos, além das penicilinas e cefalosporinas. O aumento de bactérias produtoras de ES β L levou a um aumento no uso de carbapenêmicos, resultando em um aumento no número de enzimas com atividade hidrolítica para esses antibióticos (AURILIO *et al.*, 2022).

Além do mecanismo enzimático, existem outras formas pelas quais as bactérias podem desenvolver resistência aos antimicrobianos. Uma dessas formas é através do uso de bombas de efluxo, que são proteínas de transporte presentes na membrana celular que podem expulsar o antibiótico para fora da célula antes que ele possa exercer sua ação. Outra forma é através da alteração na permeabilidade da membrana celular, que pode impedir a entrada do antibiótico na célula bacteriana. A mudança no sítio alvo também pode ser uma forma de resistência, pois a bactéria altera a estrutura do alvo do antibiótico, tornando-o ineficaz. No entanto, é importante destacar que o mecanismo enzimático é o mais comum e é responsável pela maior parte dos casos de resistência aos antimicrobianos (DARBY *et al.*, 2022) (Figura 2).

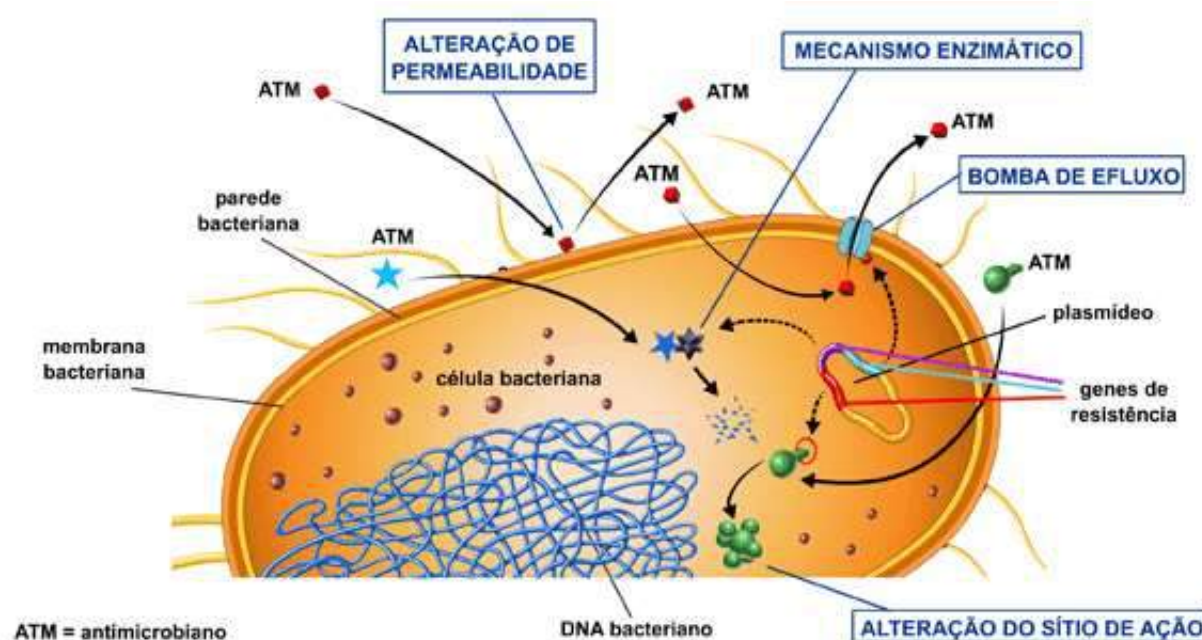
O uso indiscriminado de antibióticos de amplo espectro tem levado a seleção de bactérias cada vez mais resistentes. Por consequência, a resistência a esses medicamentos se tornou um desafio para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma grave preocupação em relação à saúde global (VALENÇA *et al.*, 2022). Mesmo antes da pandemia pela covid-19, a situação já era considerada preocupante em relação à resistência de microrganismos. Estima-se que as infecções bacterianas com resistência aos antimicrobianos causam 700.000 mortes anualmente no mundo todo, e esse número deverá aumentar para 10 milhões por ano até 2050 (ANVISA, 2020) com esses dados torna-se evidente a preocupação mundial acerca do aumento da resistência bacteriana e sua aceleração.

No cenário pandêmico, as infecções virais juntamente com a coinfeção e infecção secundária bacteriana apresentam um grande problema de saúde global, contribuindo para o agravamento da mortalidade dos pacientes (DUMITRU *et al.*, 2021). A prevalência da resistência dos patógenos mudou ao longo do tempo, isso é nítido ao passar das pandemias gripais, onde a coinfeção viral-bacteriana demonstra efeitos cada vez mais nocivos (LIU *et al.*, 2021). Hoje, acredita-se que o uso indiscriminado de antibióticos para o combate da covid-19 acelerou a resistência microbiana, tornando-a mais acentuada para os próximos anos (OMS, 2019).

Ribeiro *et al.* (2022) aborda o impacto da pandemia de covid-19 na ocorrência de resistência bacteriana aos antimicrobianos. A revisão integrativa de estudos

realizados em vários países mostrou que houve um crescimento expressivo na resistência bacteriana, dentre eles a *K. pneumoniae* foi a terceira espécie mais frequentemente correlacionada em pacientes com covid-19. Durante a pandemia, a investigação dessa bactéria tornou-se relevante em virtude do aumento considerável de sua resistência aos antimicrobianos. Além disso, a *K. pneumoniae* é uma das bactérias mais comuns que causa infecções hospitalares, especialmente em pacientes com sistema imunológico comprometido, como os pacientes com covid-19.

Figura 2 - Imagem ilustrativa das principais resistências desenvolvidas pelas bactérias aos antimicrobianos.



Fonte: ANVISA. Acesso em: 11 abr. 2023.

2.5.1 Carbapenemases

A produção de enzimas beta-lactamases é uma das principais estratégias de resistência em bactérias gram-negativas. Essas enzimas conferem resistência aos carbapenêmicos, que são uma classe de antibióticos considerados como uma das últimas opções de tratamento para infecções graves causadas por bactérias gram-negativas. Os carbapenêmicos são uma classe de antibióticos de amplo espectro que têm a capacidade de penetrar na parede celular das bactérias gram-negativas, atuam hidrolisando o anel beta lactâmico atingindo assim o citoplasma bacteriano e interrompendo a síntese da parede celular bacteriana (ABRANTES *et al.*, 2017;

SEKOWSKA *et al.*, 2023).

As carbapenemases são enzimas classificadas em quatro classes (A, B, C e D), de acordo com o sistema de classificação de Ambler. A classe A compreende as serino-beta-lactamases, que possuem um resíduo de serina em sua estrutura e incluem a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) e a Guiana Extended Spectrum (GES). Essas enzimas são capazes de conferir resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, como as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos. A classe B é composta por metalo-beta-lactamases, que utilizam zinco em sua metabolização e incluem a Nova Delhi Metallo-beta-lactamases (NDM), a Imipenemase (IMP), a Veronese Imipenemase (VIM) e a São Paulo Metallo-beta-lactamase (SPM). A classe C é composta por cefalosporinases cromossomais ou Adenosina monofosfato cíclico (AmpC). A classe D é composta por carbapenemases que possuem um resíduo de serina em sua estrutura, incluindo as oxacilinases. Essas enzimas são menos potentes do que as carbapenemases das classes A, B e C, mas sua presença pode contribuir para o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos (SPRENGER *et al.*, 2016; ABRANTES *et al.*, 2017; BONOMO *et al.*, 2018).

2.5.1.1. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)

A enzima KPC foi descrita primeiramente em um isolado de *K. pneumoniae* proveniente da Carolina do Norte, Estados Unidos, em 1996. Logo em seguida tornou-se endêmica nesse local e consecutivamente se disseminou mundialmente (KARAMPATAKIS *et al.*, 2023). É a carbapenemase mais associada a amostras de *K. pneumoniae* nas Américas do Norte e do Sul. Além disso, também há relatos de *K. pneumoniae* produtoras de KPC na Europa, Ásia e África, o que indica que essa enzima está amplamente disseminada em todo o mundo (DA SILVA *et al.*, 2021; HANSEN *et al.*, 2021; FORERO-HURTADO *et al.*, 2023; ELIAS *et al.*, 2023).

A KPC já foi encontrada em várias bactérias gram-negativas, incluindo outras subespécies de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis* e *P. aeruginosa*, entre outras (TAMMA *et al.*, 2021; SADEK *et al.*, 2022). No Brasil, a primeira detecção do gene KPC em isolados clínicos de *K. pneumoniae* foi em 2006. Essas cepas foram encontradas em quatro pacientes internados em uma UTI em Recife (MONTEIRO *et al.*, 2009). Desde então, o gene

KPC vem sendo detectado infectando e colonizando pacientes em hospitais de Recife. Estudos realizados por Scavuzzi *et al.* (2018) reportaram a presença do gene *bla*_{KPC-2} resistente a múltiplas drogas em um paciente no Brasil. Concomitante a isso, Oliveira *et al.* (2020) destaca as altas taxas de ocorrência do gene *bla*_{KPC} em isolados clínicos de *K. pneumoniae* em Recife. A capacidade de resistência a múltiplas drogas torna-se evidente como um desafio no tratamento de infecções bacterianas graves. A rápida disseminação deste gene destaca a importância crucial da implementação de medidas de controle e vigilância para prevenir a disseminação da resistência antimicrobiana.

Outros estudos têm sido publicados mostrando a propagação deste gene em várias espécies bacterianas pelo país. De Araújo Jácome (2012) descreve o primeiro relato de *P. aeruginosa* produtora de KPC no Brasil. A bactéria foi isolada de uma amostra de secreção traqueal de dois pacientes diferentes, na UTI de um hospital terciário localizado em Recife, Pernambuco. O estudo mostrou que a cepa apresentou resistência a vários antibióticos, incluindo carbapenêmicos. Desde então, outros estudos têm sido publicados mostrando a disseminação do gene *bla*_{KPC} em diferentes espécies bacterianas no Brasil. Scavuzzi *et al.* (2019) identificaram a presença do gene *bla*_{KPC-2} em isolados clínicos de *P. aeruginosa* em um hospital no Brasil. Esses achados indicam a disseminação ampla do gene KPC em diferentes espécies bacterianas no país, representando um grande desafio para o tratamento de infecções hospitalares.

Atualmente existem 157 variantes do gene *bla*_{KPC}, de acordo com a Base de Dados Europeia de beta-lactamases (BLDB, acesso em: 13 abr. 2023). No entanto, a sequência de aminoácidos das variantes KPC-1 e KPC-2 apresentam 100% de identidade, indicando que se trata da mesma enzima, sendo assim a designação válida é a KPC-2. As variantes de KPC apresentam diferenças em suas propriedades cinéticas, podendo afetar a eficiência hidrolítica de carbapenêmicos e outros antimicrobianos β -lactâmicos. As variantes KPC-2 e KPC-3 são as mais prevalentes entre os isolados clínicos e frequentemente associadas a surtos epidêmicos (XIONG *et al.*, 2022; MOJICA *et al.*, 2023). KPC-2 é a enzima predominante no mundo, com relatos de epidemia em diferentes países, incluindo Estados Unidos, Europa e China (CHEN *et al.*, 2021; FORERO-HURTADO *et al.*, 2023). Já KPC-3 foi mais frequentemente identificada em regiões como Estados Unidos, Israel e América Latina (VERA-LEIVA *et al.*, 2017; RADA *et al.*, 2020; MARÍ-ALMIRALL *et al.*, 2021; FORERO-HURTADO *et al.*, 2023).

Infecções bacterianas atreladas à produção de KPC estão associadas a altas taxas de mortalidade (VERA-LEIVA *et al.*, 2017; CANO *et al.*, 2022). A KPC pode estar relacionada a qualquer tipo de infecção, tornando sua investigação relevante, com o objetivo de limitar sua disseminação. Oliveira *et al* (2020), relatou que dentre 27 isolados clínicos de *K. pneumoniae*, 24 são produtores de KPC. Cunha *et al* (2022) analisaram que durante o surto da pandemia de covid-19, 21 pacientes foram infectados/colonizados por *K. pneumoniae* MDR em um hospital privado em Salvador, Bahia, apresentando como principal mecanismo de resistência a produção da enzima KPC. De acordo com os resultados, a taxa de mortalidade para os 14 episódios de infecção foi de 71%, resultando em 10 óbitos. Já para os episódios de colonização, a mortalidade foi de 57%, resultando em 7 óbitos. A mortalidade geral foi de 66,7%. Evidencia-se a gravidade das infecções por essas cepas, especialmente em pacientes com fatores de risco adicionais, como aqueles infectados pelo SARS-CoV-2.

Fonseca (2019) observou uma alta frequência de colonização por *K. pneumoniae* produtora de KPC, principalmente em pacientes de UTI em um hospital durante o período de 5 anos (2009-2014). Também foi notado um aumento no número de casos ao longo dos anos. Por outro lado, Dumitri e colaboradores (2021) relataram casos de coinfeção e infecção secundária em 9 pacientes internados em uma UTI com covid-19 que desenvolveram infecções invasivas por *K. pneumoniae* produtora de carbapenemase. Dentre eles, cinco evoluíram para óbito, evidenciando a associação entre coinfeções e mau prognóstico em pacientes com covid-19, sobretudo em populações vulneráveis. Destaca-se a importância da vigilância e controle da disseminação de *K. pneumoniae* MDR, principalmente em ambientes hospitalares como UTIs. Além disso, a coinfeção por essas bactérias em pacientes com covid-19 pode levar a um pior prognóstico e aumentar a mortalidade.

2. 5. 1. 2. Nova Deli Metallo-betalactamases (NDM)

A Nova-Delhi Metallobetalactamase (NDM) é uma enzima Metallo beta-lactamase (MBL), capaz de hidrolisar uma ampla gama de antimicrobianos β -lactâmicos (SOARES, 2020). O primeiro relato de NDM-1 foi em 2009, em uma cepa de *K. pneumoniae* isolada de um paciente sueco hospitalizado anteriormente em Nova Delhi na Índia em 2008. Desde então, o NDM-1 está relacionado a uma alta resistência

e disseminação, podendo ser produzido por diferentes espécies, incluindo *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Morganella* sp., *Proteus* sp., *E. coli* e *Providencia* sp. (CAMARGO, 2022; DONG *et al.*, 2022; TSILIPOUNIDAKI *et al.*, 2023).

Até o momento, 50 variantes de NDM já foram identificadas em todo o mundo (BLDB, acesso em: 13 abr. 2023), exibindo um desafio significativo para o manejo clínico e a saúde pública (ZUCCATO, 2022). Enterobactérias produtoras de NDM foram identificadas pela primeira vez no Brasil em 2014, em um isolado de *Providencia rettgeri* proveniente de swabs de vigilância na região sul do país. Desde então, a detecção de enzimas NDM tem sido crescente em diversas espécies bacterianas (CAMARGO, 2022). A *bla*_{NDM-1} é a variante mais detectada frequentemente produzida por isolados de *K. pneumoniae* (WU *et al.*, 2019; SRIRAM *et al.*, 2022; THAPA *et al.*, 2022; AFRIDI *et al.*, 2023). Podendo estar relacionada a diversos tipos de infecções, como urinária, respiratórias e sanguínea (SCAVUZZI *et al.*, 2019; HUANG *et al.* 2023).

No primeiro relato de *K. pneumoniae* portadora do gene *bla*_{NDM} em Recife-PE, foi identificado que o isolado também apresentou genes relacionados à virulência bacteriana (SCAVUZZI *et al.*, 2019). Estudos realizados por Oliveira *et al.* (2020) obtiveram como resultado que 59,2% dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* analisados apresentavam o gene *bla*_{NDM}, o que demonstra uma preocupante emergência de uma nova carbapenemase capaz de hidrolisar carbapenêmicos, além da KPC já conhecida.

Diversos estudos relataram casos de coinfeção/superinfecção em pacientes com covid-19 envolvendo microrganismos resistentes a antimicrobianos. Um estudo realizado na Itália por Perrotta e colaboradores (2021) descreve um caso que envolveu um paciente de 57 anos diagnosticado com Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) aguda, que adquiriu SARS-CoV-2 e uma cepa de *K. pneumoniae* produtora de NDM enquanto estava internado. O estudo sugere que a infecção por esse microrganismo multirresistente pode ter ocorrido por meio de transferência horizontal durante a permanência do paciente no setor de hematologia, ou pode ter sido uma rara colonização adquirida na comunidade.

Monteiro *et al.* (2023) constatou que a transmissão de cepas de bactérias com o gene NDM em ambientes de saúde está associada a contato próximo, sendo os pacientes hospitalizados os mais susceptíveis à colonização e infecção. Neste trabalho, entre 17 pacientes internados em unidades de covid-19, 12 foram colonizados por *K. pneumoniae* produtora de NDM, evidenciando a transferência

horizontal de NDM entre pacientes. Além disso, foi observado que, embora as mesmas medidas de controle de infecção sejam aplicáveis a qualquer microrganismo resistente a carbapenêmicos, cepas produtoras de NDM e KPC apresentam diferenças epidemiológicas significativas, independentemente dos mecanismos de resistência.

O primeiro registro da associação dos genes *bla*_{NDM-1} e *bla*_{KPC-2} em isolados de *K. pneumoniae* no Brasil foi relatado em 2017 na cidade do Rio de Janeiro, conforme descrito por Aires *et al.* (2017). Entretanto, a presença desses genes em *Enterobacterales* é comum, segundo relatado por Firmo *et al.* (2020), resultando em um aumento na resistência dessas espécies bacterianas. De Oliveira Alves *et al.* (2022) realizou um estudo onde todos os isolados de *K. pneumoniae* avaliados expressaram o fenótipo de MDR, além da associação com os genes *bla*_{NDM} e *bla*_{KPC} em cerca de 89,5% dos casos. Nesse mesmo estudo, foi evidenciado o primeiro relato da variante *bla*_{NDM-7}, em Recife, PE.

2. 6. FATOR DE VIRULÊNCIA: BIOFILME

Além do acúmulo de mecanismos genéticos de resistência aos antimicrobianos em *K. pneumoniae*, tem chamado atenção a presença de fatores de virulência, capazes de promover infecções mais graves, invasivas e metastáticas, o que representa uma preocupação significativa na área da saúde pública (LAN *et al.*, 2022). A *K. pneumoniae* possui diversos fatores de virulência, sendo as principais: adesinas, cápsula, sideróforo e lipopolissacarídeo (LPS). As adesinas, como os pili tipo 1 e tipo 3, são responsáveis por aderir à superfície do hospedeiro e dispositivos médicos, e também por formar biofilme. A cápsula e lipopolissacarídeo são importantes para evasão do sistema imunológico do hospedeiro, enquanto o sideróforo participa na obtenção de ferro, essencial para o crescimento da bactéria. Esses fatores de virulência podem aumentar a capacidade da *K. pneumoniae* em causar infecções graves e persistentes (WANG *et al.*, 2020).

O biofilme é uma estrutura de virulência bacteriana estabelecida por uma matriz densa de proteínas, polissacarídeos e DNA, produzidos pelas próprias bactérias. Sua formação é baseada em três estágios: adesão, colonização e desenvolvimento (WANG *et al.*, 2020). De início, as bactérias se aderem a uma superfície e formam pequenas colônias. Posteriormente, ocorre um processo de comunicação por

autoindução (*quorum sensing*, um sistema de sinais e respostas que controla a expressão dos genes) onde começa o crescimento e a síntese de polissacarídeos. Por fim, há o aumento desse crescimento, produção e maturação do biofilme, onde em seguida as bactérias são liberadas para o meio ambiente ou para outras superfícies dentro do hospedeiro, podendo assim colonizar e causar novas infecções (CLEGG; MURPHY, 2016; TAM *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020).

O biofilme representa uma estratégia frente ao sistema imunológico do hospedeiro e aos antimicrobianos, por propiciar um ambiente de transferência de material genético entre as células bacterianas, sendo um dos mecanismos de virulência da *K. pneumoniae*, viabilizando o estabelecimento de infecções e colonizações no trato respiratório, urinário e gastrointestinal. (KUS *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2020).

Em um estudo na Itália, foi observado que 72,7% dos isolados de *K. pneumoniae* encontrados em dispositivos médicos foram capazes de produzir biofilmes, embora ainda fossem suscetíveis a diferentes classes de antibióticos (FOLLIERO *et al.*, 2021). Os biofilmes são comunidades complexas de microrganismos que se aderem a superfícies abióticas e bióticas usando uma matriz de substâncias exopoliméricas autossuficientes (EPS). De acordo com Monteiro e colaboradores (2023), em um trabalho feito com pacientes com covid-19, cepas de *K. pneumoniae* com genes de adesão podem formar biofilmes, o que resulta em internações hospitalares mais longas, aumentando a dificuldade terapêutica, incluindo a possibilidade de falha no tratamento. Portanto, torna-se relevante a identificação e pesquisa de produção de biofilme em isolados de *K. pneumoniae* frente a indivíduos hospitalizados submetidos a procedimentos invasivos, e seu estudo com relação a pandemia da covid-19.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar e comparar o perfil de resistência a antimicrobianos, os genes de resistência *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} e a formação de biofilme de isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados antes da pandemia de covid-19 (2019) e durante a pandemia (2021 e 2022), provenientes de pacientes de um hospital público de Recife-PE.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil de resistência aos antimicrobianos testados nos isolados de *K. pneumoniae*;
- Avaliar a formação de biofilme dos isolados de *K. pneumoniae*.
- Investigar a presença dos genes de resistência *bla*_{NDM} e *bla*_{KPC} nos isolados de *K. pneumoniae*.
- Comparar o perfil de resistência aos antimicrobianos, formação de biofilme e a presença dos genes *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} dos isolados de *Klebsiella pneumoniae* coletados nos anos de 2019, 2021 e 2022.

4 METODOLOGIA

4.1 ORIGEM E COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas em um hospital público, localizado na capital de Pernambuco, Recife. As amostras bacterianas foram transportadas respeitando as normas vigentes de biossegurança, de acordo com a Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012. Após a coleta seguiram diretamente para o Laboratório de Biologia Molecular e Genética Bacteriana (Área de Medicina Tropical, CCM, UFPE).

4.2 ISOLADOS BACTERIANOS

Foram analisados 45 isolados clínicos de *K. pneumoniae* obtidos por demanda espontânea resistente a pelo menos um carbapenêmico (ertapenem, imipenem ou meropenem), sendo 15 isolados coletados no ano de 2019 (período pré-pandêmico) (OLIVEIRA *et al.*, 2019), 15 isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados no ano 2021 (período de maior número de casos da covid-19) (MARTINS, 2023; PIMENTEL, 2023), e 15 isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 (período com menor números de casos) durante a realização desse estudo. A identificação bioquímica e o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foram realizados inicialmente no hospital através do sistema automatizado Phoenix-BD™ M50. Em seguida, no Laboratório de Biologia Molecular e Genética Bacteriana (Labmol), da Área de Medicina Tropical, CCM-UFPE, os isolados *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 foram submetidos à identificação bioquímica convencional (SIM – Sulfeto, Indol e Motilidade; TSI – Tríplice açúcar-ferro; Prova do citrato, Prova da uréia; Prova da lisina e análise do aspecto da colônia em Ágar EMB) (KONEMAN *et al.*, 2008), para confirmação da espécie e da pureza da cultura bacteriana. Os isolados coletados nos anos de 2019 e 2021 estavam sendo mantidos em estoque congelado com glicerol 15% a -20 °C, e fazem parte do estoque de culturas bacterianas do grupo de pesquisa do Laboratório de Biologia Molecular e Genética Bacteriana (Labmol), Área de Medicina Tropical, CCM, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde foram reativados para realização do biofilme.

4.3 SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA

A concentração inibitória mínima (CIM) para os antimicrobianos: Amicacina (AMI); Amoxicilina-ácido clavulânico (AMC); Ampicilina (AMP); Cefazolina (CFZ); Cefepime (CPM); Cefalotina (CFL); Cefotaxima (CTX); Cefoxitina (CFO); Ceftazidima (CAZ); Ceftriaxona (CRO); Cefuroxima (CRX); Ciprofloxacina (CIP); Colistina (COL); Ertapenem (ERT); Gentamicina (GEN); Imipenem (IMI); Levofloxacina (LVX); Meropenem (MER); Piperacilina-tazobactam (PIT); Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), foi determinada através do equipamento automatizado Phoenix-BD™ M50. E o perfil de susceptibilidade foi interpretado de acordo com o BrCast 2021.

4.4 AVALIAÇÃO DE BIOFILME

A avaliação da produção de biofilme dos 45 isolados de *K. pneumoniae* foi realizada conforme metodologia descrita por O'Tooler (2011), juntamente com a metodologia de DA SILVA TRENTIN (2011). Os isolados foram diluídos em solução salina até chegar em 0,5 na escala de McFarland. Foi adicionado 80µL de cada suspensão bacteriana e 120µL de caldo LB (Luria Bertani) em poços previamente identificados da placa de microtitulação. As placas foram incubadas em 37°C por 18 a 24 horas. Posteriormente, as suspensões bacterianas foram removidas através de lavagem com água corrente. Em seguida, foi adicionado 200µL de cristal violeta a 0,4% em cada poço, e a placa foi incubada por 15 minutos, em seguida foi realizada uma nova lavagem em água corrente. A produção de biofilme foi avaliada através da análise das colônias aderidas na parede e/ou no inferior na placa de microtitulação, como grumos. Todo o experimento foi realizado em triplicata, e os poços contendo caldo LB estéril foram usados como controle negativo para produção de biofilme. Como controle positivo, foi utilizado uma cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 (CAIXETA, *et al.*, 2019).

Para quantificação do biofilme, utilizou-se 200µL de solução de ácido acético a 30% em cada poço, promovendo a solubilização do biofilme, caso presente. A leitura da Densidade Óptica (DO) de cada poço foi conduzida através de um leitor de microplacas (Thermo Plate® – China) em 570nm, e a produção de biofilme foi classificada considerando o maior valor da DO para cada isolado e comparando com a DO do controle negativo (DOc), sendo as categorias divididas em: I) não formador

de biofilme ($DO \leq DOc$); II) fraco produtor de biofilme ($DOc < DO \leq 2x DOc$); III) moderado formador de biofilme ($2x DOc < DO \leq 4x DOc$); e IV) forte formador de biofilme ($4x DOc \leq DO$).

4.5 EXTRAÇÃO DE DNA TOTAL

A extração de DNA genômico dos isolados de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 foi realizada através de kit Wizard Genomic DNA purification (promega), seguindo o procedimento de acordo com especificações do fabricante. O DNA foi quantificado utilizando o equipamento NanoDrop e diluído em água Milli Q estéril a 20ng/μL. O DNA extraído foi estocado em freezer -20°C. Os isolados de *K. pneumoniae* coletados nos anos de 2019 e 2021 foram provenientes de outros estudos do grupo de pesquisa, portanto já foram analisados quanto a presença dos genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* (OLIVEIRA *et al.*, 2019; MARTINS, 2023; PIMENTEL, 2023).

4.6 CONDIÇÕES DE PCR PARA OS GENES DE RESISTÊNCIA: *bla_{NDM}* E *bla_{KPC}*

Para amplificação dos genes de resistência *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* dos isolados de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 foram utilizados os iniciadores descritos na tabela 1. As reações de amplificação foram compostas de um volume total de 25 μl por tubo, sendo: 1μl de DNA genômico a 20ng/μl, 1,0U da enzima Taq DNA polimerase (promega), 8 mM de dNTP (Ludwig Biotec), 25 mM de MgCl₂ e 10 μmol dos iniciadores. Em cada partida de amplificação foi acrescentado um controle negativo sem DNA e um positivo, isolado de *K.pneumoniae* K7-R2 (FIRMO *et al.*, 2019) para os dois genes. As amplificações do gene *bla_{KPC}* foram realizadas com ciclos de desnaturação inicialmente a 95°C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos, consistindo cada ciclo de 1 minuto a 95°C para desnaturação, 1 minuto a 63°C para anelamento do primer e 1 minuto a 72°C para extensão. Após estes ciclos foi realizada uma etapa de alongamento final de 10 minutos a 72°C. A amplificação para o gene *bla_{NDM}* foi realizada sob as seguintes condições térmicas de ciclagem: 10 min a 94°C para desnaturação inicial, 36 ciclos de amplificação consistindo em 30s a 94°C, 40s e 52°C, 50s a 72°C e para extensão final 5 min a 72°C.

Tabela 1. Primers utilizados na PCR para detecção dos genes de resistência *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* nos isolados clínicos de *K. pneumoniae*.

Gene	Primer	Sequência (5' - 3')	Tamanho do amplicon (pb)	Referências
<i>bla_{KPC}</i>	KPC-1a	TGTCACGTGTATCGCCGTC	800	Yigit et al. (2001)
	KPC-1b	CTCAGTGCTCTACAGAAAA CC		
<i>bla_{NDM}</i>	NDM-F	TAAAATACCTTGAGCGGGC	439	Nordmann et al. (2011)
	NDM-R	AAATGGAAACTGGCGACC		

4.7 ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

Cinco microlitros dos produtos de amplificação do produto de PCR acrescidos de 1 µl de Blue Green Loading Dye I (LGC biotecnologia) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,0% em tampão TBE (Tris-Borato 0,089M e EDTA 0,002M) e voltagem constante de 100V. Foi utilizado um marcador de 100pb (promega) como padrão de peso molecular. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e fotografados em sistema de fotodocumentação Photocap da Vilber Lourmat.

4.8. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os isolados bacterianos que foram analisados no presente projeto foram provenientes de outro projeto de pesquisa intitulado: “Investigação molecular da variabilidade de genes e plasmídeos de resistência aos carbapenêmicos e polimixinas, e da relação clonal de isolados clínicos de enterobactérias multi-droga resistentes provenientes de um hospital de Recife-PE”, que foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos com o número 4.459.621.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

No presente estudo, todos os isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2019 foram classificados como MDR, sendo a amicacina (93%) e colistina (93%), os antibióticos de melhor atividade contra esses isolados. Em relação aos isolados coletados no ano de 2021, período com um maior número de casos de covid-19, 20% (3/15) dos isolados foram considerados extensivamente resistentes (XDR) aos antibióticos testados, sendo amicacina (80%) e colistina (100%) também os antibióticos de melhor escolha. A maioria dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 foram classificados como MDR, e 20% (3/15) classificados como XDR, sendo a colistina (100%), amicacina (80%) e fosfomicina com G6P (66%) os antimicrobianos de melhor atividade para inibir os isolados de *K. pneumoniae*. Entretanto, é notável uma queda no perfil de suscetibilidade da amicacina, uma vez que a porcentagem de isolados sensíveis diminuiu de 93% em 2019 para 80% em 2021 e 2022.

Em nosso estudo, os isolados de *K. pneumoniae* coletados durante a pandemia (2021 e 2022) apresentaram maior resistência a amicacina (20%) quando comparados com os isolados coletados no ano de 2019 (7%). Visto que os aminoglicosídeos são considerados uma das últimas opções de tratamento para infecções por bactérias gram-negativas, esses dados apontam uma provável influência da pandemia da covid-19 no perfil de resistência aos aminoglicosídeos desses isolados.

Todos os isolados clínicos de *K. pneumoniae* foram resistentes às cefalosporinas de segunda, terceira e quarta geração bem como às quinolonas e fluoroquinolonas, em todos os períodos analisados (2019, 2021 e 2022). De acordo com Jalal *et al.* (2023), estudos realizados durante o período de 2011 a 2021 demonstraram que houve aumento das taxas de resistência aos antibióticos do grupo das cefalosporinas de última geração (85,8%) por isolados de *K. pneumoniae*. Esses achados são consistentes com os resultados obtidos no presente estudo. É importante considerar a possibilidade de que o gene de resistência às fluoroquinolonas e quinolonas possa estar alocado no mesmo plasmídeo que outros genes de resistência a antibióticos, incluindo aqueles que promovem resistência a cefalosporinas de última geração, o que resulta em uma resistência generalizada a múltiplas classes de

antibióticos.

Embora o presente estudo não tenha observado mudanças no perfil de resistência à colistina durante os períodos analisados, algumas pesquisas mostram o surgimento de cepas de *K. pneumoniae* MDR resistentes à colistina no período de 2013 a 2021, no Irã (NARIMISA *et al.*, 2022). Em estudos realizados no Brasil, Conceição-Neto e colaboradores (2022) observaram um aumento na resistência à colistina em isolados de *K. pneumoniae*, onde a resistência foi de 15% em 2010, enquanto em 2016, o percentual aumentou significativamente, chegando a 29,5%. Esses resultados representam uma preocupação para os sistemas de saúde em todo o mundo, uma vez que a colistina também é considerada como uma das últimas alternativas no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas MDR.

No presente estudo, os isolados K1-A6, K14-A6 e K16-A6 provenientes de amostra de swab retal coletados no ano de 2022 foram classificados como XDR (Tabela 4). Esses resultados corroboram com os Tesfa *et al.* (2022), que analisou isolados clínicos de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos e evidenciou que os isolados mais predominantes foram oriundos de colonização. Portanto, é importante considerar que pacientes colonizados são potenciais fontes de infecção por bactérias resistentes, sendo transmitidas e desencadeadas no ambiente hospitalar. Considerando isso, é crucial isolar esses pacientes como medida de prevenção e controle da disseminação de bactérias MDR nos centros de saúde.

K. pneumoniae XDR e MDR têm sido cada vez mais relatadas em todo o mundo, tanto colonizando quanto infectando pacientes, mesmo antes da pandemia da covid-19 (ANVISA, 2020). Em um estudo comparativo no Irã (DAVOUDABADI *et al.*, 2023) entre isolados de *K. pneumoniae* coletados durante 2018 a 2020, 84,6% dos isolados eram MDR; 13,5% XDR; e 1,9% pandroga-resistentes (PDR). Em 2019, Pons e colaboradores (2019), em um hospital público de Minas Gerais, demonstraram que a prevalência de *K. pneumoniae* em diferentes sítios de infecções apresenta resistência à maioria dos antimicrobianos geralmente utilizados em UTIs (60%). Diante disso, considera-se que com o passar dos anos a *K. pneumoniae* vem mostrando um aumento significativo da resistência a antibióticos.

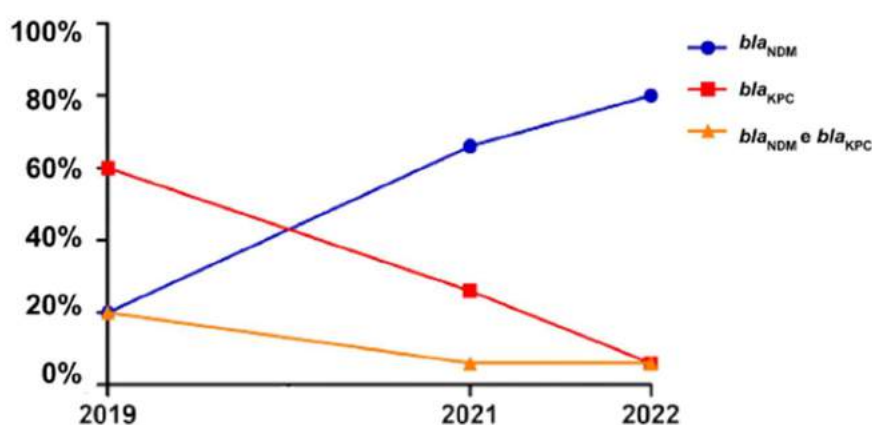
5. 2. OCORRÊNCIA DOS GENES DE RESISTÊNCIA *BLA_{KPC}* E *BLA_{NDM}*

Os resultados da detecção dos genes de resistência mostram uma alta

prevalência do gene *bla*_{NDM} nos isolados coletados nos anos 2021 (66%) e 2022 (80%) quando comparados com os isolados coletados em 2019 (20%) (figura 3). Esses dados corroboram com estudos recentes, nos quais o gene *bla*_{NDM} têm sido identificado em diversas regiões do mundo (AFRIDI *et al.*, 2023; MONTEIRO *et al.*, 2023; KHAN *et al.*, 2023). Em Portugal foi relatado um surto de *K. pneumoniae* associada ao gene *bla*_{NDM} durante a pandemia de covid-19, mesmo enquanto medidas de contenção e prevenção foram admitidas para redução de disseminação de microrganismos. Estudos conduzidos na América do Sul têm reportado um aumento notável do gene *bla*_{NDM} nos últimos anos em isolados de *K. pneumoniae*, como apontado por Quezada-Aguiluz *et al.* (2022). Adicionalmente, trabalhos do nosso grupo de pesquisa tem detectado o gene *bla*_{NDM} em bactérias gram-negativas desde 2019 (SCAVUZZI *et al.*, 2019; FIRMO *et al.*, 2020, OLIVEIRA *et al.*, 2020; BELTRÃO *et al.*, 2021; DE OLIVEIRA ALVES *et al.*, 2022).

O aumento significativo na prevalência do gene *bla*_{NDM} em 2021 e 2022 comparado ao período pré-pandêmico em 2019, é preocupante visto que estudos mostram que a enzima NDM tem um maior poder de hidrólise aos antimicrobianos quando comparadas a outras carbapenemases (MENDES *et al.*, 2022).

Figura 3 – Genes de resistências detectados nos isolados de *K. pneumoniae* coletados em um hospital público de Recife-PE, antes da pandemia de covid-19 (2019) e durante a pandemia (2021 e 2022).



Considerando que o gene *bla*_{KPC} foi por muito tempo o principal determinante de resistência aos carbapenêmicos em bactérias gram-negativas, em nosso estudo, foi observado maior prevalência (60%) do gene *bla*_{KPC} apenas nos isolados de *K. pneumoniae* coletados em 2019. Nos isolados coletados nos anos de 2021 e 2022

(período de pandemia da covid-19), a ocorrência do gene *bla_{KPC}* diminuiu para 26% (4/15) e 7% (1/15), respectivamente. Em contraste com esses achados, Do Valle Barroso e colaboradores (2023), em São Paulo, observaram um aumento exponencial na ocorrência de resistência aos carbapenêmicos, sendo o gene *bla_{KPC}* sendo o mais detectado entre as *K. pneumoniae* MDR. É importante ressaltar a necessidade contínua de monitoramento da resistência bacteriana e estudos mais abrangentes para elucidar as diferenças regionais e temporais na disseminação desse gene de resistência.

No período de 2019, antes da pandemia, foi observado maior prevalência da detecção simultânea dos genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* (20%) em um mesmo isolado bacteriano, quando comparado ao período pandêmico (2021 e 2022), onde a detecção simultânea dos genes foi observado em apenas um isolado em cada ano.

5. 3. AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME

Através do método qualitativo de formação de biofilme em microplacas, todos os isolados de *K. pneumoniae* analisados durante os diferentes períodos da pandemia da covid-19 (2019, 2021, 2022) foram capazes de produzir biofilme. Dentre os isolados provenientes do ano de 2019, cinco foram classificados como fortemente aderentes a microplaca de titulação (33%) e nove foram moderadamente aderentes (60%) (Tabela 2). Nesses isolados fortemente e moderadamente aderentes houve prevalência de amostras de sítios de infecções (secreção traqueal, secreção de ferida e sangue), possivelmente associadas à utilização de dispositivos invasivos nas unidades hospitalares. Analisando esses isolados produtores de biofilme, 57% (8/14) foram portadores do gene *bla_{KPC}*, enquanto 21% (3/14) foram portadores do gene *bla_{NDM}*. Observou-se que 21% (3/14) desses isolados apresentaram a coexistência dos genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}*. Em uma pesquisa realizada no Bangladesh, 100% dos isolados de *K. pneumoniae* coletados em 2019 foram capazes de produzir biofilme, com prevalência do gene *bla_{KPC}* (55,2%) (MAHMUD *et al.*, 2022), corroborando com os resultados deste trabalho.

Com relação aos isolados de *K. pneumoniae* obtidos durante o período com maior número de casos de covid-19 em 2021, seis (40%) foram classificados como fortemente produtores de biofilme, e nove (60%) foram produtores moderados (Tabela 3). Nesse período, 13% (2/15) dos isolados de *K. pneumoniae* foram obtidos a partir

de amostras de colonização, enquanto 80% das amostras foram de origem de infecções. Segundo os resultados da pesquisa realizada por Karimi *et al.* (2021), altas porcentagens (74,5%) de isolados de *K. pneumoniae* oriundos do tubo traqueal foram capazes de formar biofilme no período de 2021 enquanto nesta pesquisa, os isolados provenientes de amostras de sangue foram os maiores produtores de biofilme.

Entre os isolados de *K. pneumoniae* coletados em 2022, onze (73%) foram classificados como produtores moderados de biofilme, sendo grande parte (8/11) provenientes de amostras de colonização (73%). Dentre esses, sete (88%) foram portadores do gene *bla_{NDM}*, ressaltando a importância de culturas de vigilância para reduzir o risco de transmissão entre pacientes e, dessa forma, diminuir os casos de IRAS, não apenas durante surtos, mas também como uma medida de prevenção e controle em ambientes endêmicos.

Neste trabalho foi evidenciado que dentre os 15 isolados clínicos de *K. pneumoniae* coletados no ano de 2022 capazes de produzir biofilme, 80% (12/15) apresentavam o gene *bla_{NDM}*. Em um estudo realizado no Reino Unido em 2022 por Al-Bayati (2022), notou-se que uma cepa de *K. pneumoniae* portadora do gene *bla_{NDM}* produzia uma maior quantidade de biofilme quando comparada a uma não portadora do gene, corroborando com os resultados deste estudo. Pode-se sugerir que os genes de resistência presentes na *K. pneumoniae* podem ter um papel significativo na formação de biofilme. Estudos sugerem que genes de resistência presentes em plasmídeos especiais podem regular esse processo (AL-BAYATI *et al.*, 2022). Essa descoberta enfatiza a importância de entender a relação entre os genes de resistência e a formação de biofilme para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle de infecções associadas a esses microrganismos.

É importante destacar que todos os isolados de *K. pneumoniae* com os genes *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}* simultaneamente presentes, foram classificados como produtores moderados de biofilme, evidenciando o acúmulo de mecanismos de resistência e virulência em um mesmo isolado bacteriano. Tal fenômeno é preocupante, uma vez que a combinação desses fatores pode levar a infecções mais graves e resistentes a tratamentos antimicrobianos convencionais, conforme observado por Elias *et al.* (2023).

Foi observado que o período de maior incidência de isolados de *K. pneumoniae* fortemente produtores de biofilme coincide com o período de maior número de casos da pandemia pela covid-19, em 2021. Ghanizadeh *et al.* (2021) investigou a

capacidade de formação de biofilme por *K. pneumoniae* isoladas de pacientes com covid-19 e pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), e os resultados obtidos indicaram que parte dos isolados (42,8%) apresentaram capacidade de formação de biofilme, o que pode agravar a condição respiratória dos pacientes internados.

Tabela 2. Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2019.

Isolado	Data de Coleta	Setor	Origem da amostra	Concentração Mínima Inibitória (CMI)	Genes de Resistência	Biofilme	DO
K1-A4	07/03/2019	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	153
K2-A4	12/03/2019	UTI	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i> ; <i>bla_{NDM}</i>	Moderado	167
K4-A4	29/03/2019	UTI	Secreção Traqueal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Forte	194
K5-A4	30/03/2019	UCO2	Secreção Traqueal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	161
K7-A4	10/05/2019	CARDIOLOGIA	Secreção de Ferida	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Forte	200
K9-A4	01/04/2019	CARDIOLOGIA	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	156
K10-A4	01/04/2019	UCO2	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	147
K12-A4	23/04/2019	UTI	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8);	<i>bla_{KPC}</i> ; <i>bla_{NDM}</i>	Moderado	136

				LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).			
K15-A4	09/04/2019	EMERGÊNCIA GERAL	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{KPC}</i>	Fraco	85
K18-A4	11/04/2019	CARDIOLOGIA	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	185
K25-A4	25/06/2019	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); COL (>4); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i> ; <i>bla_{NDM}</i>	Moderado	155
K36-A4	07/10/2019	EMERGÊNCIA GERAL	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Forte	209
K40-A4	09/10/2019	EMERGÊNCIA GERAL	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	163
K42-A4	19/10/2019	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	186
K43-A4	20/10/2019	UTI	Líquido Pleural	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CFO (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	140

K– *K. pneumoniae*; DO - Densidade Óptica; UTI - Unidade de Terapia Intensiva; AMI – amicacina; AMP – ampicilina; SAM- ampicilina/sulbactam; CFZ – cefazolina; CPM – cefepima; CTZ - Ceftazidima, CIP– ceftazidima; CTX– ceftriaxona; CIP – ciprofloxacina; COL – colistina; ERT –ertapenem; FG6- Fosfomicina com G6P; GEN – gentamicina, IMI– imipenem; LVX – levofloxacina; MER – meropenem; PIT- Piperacilina-Tazobactam; SXT- Trimetoprim-Sulfametoxazol; VAN-Vancomicina.

Tabela 3. Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2021.

Isolado	Data de Coleta	Setor	Origem da amostra	Concentração Mínima Inibitória (CMI)	Genes de Resistência	Biofilme	DO
K2-A5	18/05/21	UTI SRAG 2	Swab Retal	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	110
K3-A5	29/05/21	UTI SRAG	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	140
K4-A5	02/06/21	UTI SRAG	Ponta de Cateter	AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	129
K5-A5	03/06/21	UTI SRAG 1	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	126
K6-A5	30/04/21	UTI GERAL SRAG 1	Sangue	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	149
K7-A5	18/05/21	UTI GERAL SRAG 1	Sangue	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>2); MER (>8); PIT (>64/4).	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	214
K10-A5	05/05/21	UTI GERAL SRAG 2	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>16); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Forte	174
K12-A5	22/06/21	UTI GERAL 3 SRAG 1	Ponta de Cateter	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER	<i>bla_{NDM}</i>	Forte	194

				(>16); PIT (>64/4).			
K13-A5	27/05/21	UTI GERAL 3 SRAG 11	Ponta de Cateter	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>16); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{KPC}</i>	Forte	156
K23-A5	13/08/21	UTI GERAL 3 SRAG 1	Traqueal	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	127
K32-A5	28/08/21	UTI	Traqueal	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i> ; <i>bla_{KPC}</i>	Moderado	89
K36-A5	23/09/21	UTI GERAL3 SRAG1	Secreção traqueal	AMI (>16); AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	110
K43-A5	09/10/21	UTI GERAL 3 SRAG 1	Traqueal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>65); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla_{KPC}</i>	Moderado	131
K45-A5	08/10/21	UTI GERAL 3 SRAG 1	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	105
K47-A5	16/10/21	UTI GERAL 3 SRAG 1	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla_{NDM}</i>	Moderado	105

K– *Klebsiella pneumoniae*; DO - Densidade Óptica; UTI - Unidade de Terapia Intensiva; UTI GERAL SRAG: Unidade de Terapia Intensiva Geral de Síndrome Respiratória Aguda Grave; UTI SRAG: Unidade de Terapia Intensiva de Síndrome Respiratória Aguda Grave; AMI – amicacina; AMP – ampicilina; SAM- ampicilina/sulbactam; CFZ – cefazolina; CPM – cefepima; CTZ - Ceftazidima, CIP– ceftazidima; CTX– ceftriaxona; CIP – ciprofloxacina; COL – colistina; ERT –ertapenem; FG6- Fosfomicina com G6P; GEN – gentamicina, IMI– imipenem; LVX – levofloxacina; MER – meropenem; PIT- Piperacilina-Tazobactam; SXT- Trimetoprim-Sulfametoxazol; VAN-Vancomicina.

Tabela 4. Identificação do isolado, data de coleta, setor hospitalar, origem da amostra, concentração mínima inibitória, genes de resistência, produção de biofilme e densidade óptica dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital público de Recife-PE, coletados antes da pandemia da covid-19 no ano de 2022.

Isolado	Data de Coleta	Setor hospitalar	Origem da amostra	Concentração Mínima Inibitória (CMI)	Genes de Resistência	Produção de biofilme	DO
K1-A6	17/10/22	UCO2	Swab Retal	AMI (>32); AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	128
K2-A6	18/10/22	EMERGÊNCIA AMARELA	Urina	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTX (>4); CTZ (>16); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	209
K3-A6	19/10/22	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	156
K4-A6	20/10/22	UTI	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	146
K5-A6	21/10/22	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	146
K7-A6	24/10/22	EMERGÊNCIA COVID	Urina	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	177
K8-A6	07/11/22	UTI NEO	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); LVX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4);	<i>bla</i> _{NDM}	Fraco	122

K9-A6	08/11/22	UTI NEO	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); LVX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); CIP (>2); MER (>32); PIT (>64/4).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	126
K12-A6	09/11/22	UTI	Sangue	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>1); ERT (>1); IMI (>8); LVX; MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Fraco	97
K13-A6	10/11/22	UTI	Secreção de Ferida	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); TIG (>2); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{KPC} ; <i>bla</i> _{NDM}	Moderado	157
K14-A6	15/11/22	UTI	Swab Retal	AMI (>32); AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	ND	Moderado	153
K15-A6	25/12/22	MATERNIDADE	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>2); MER (>16); PIT (>64/4); VAN (>16).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	140
K16-A6	09/12/22	UTI	Swab Retal	AMI (>32); AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>32); PIT (>64/4); SXT (>2/38); VAN (>16)	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	153
K17-A6	29/12/22	UTI	Urina	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); FG6 (>64); IMI (>8); LVX (>4); MER (>16); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{KPC}	Fraco	105
K18-A6	26/12/22	UCO	Swab Retal	AMP (>16); SAM (>16/8); CFZ (>8); CPM (>16); CTZ (>16); CTX (>4); CIP (>2); ERT (>1); GEN (>8); IMI (>8); LVX (>4); MER (>16); PIT (>64/4); SXT (>2/38).	<i>bla</i> _{NDM}	Moderado	174

K– *K. pneumoniae*; DO - Densidade Óptica; UTI - Unidade de Terapia Intensiva; UCO - Unidade de Terapia Intensiva Coronariana; UCO2 - Segunda Unidade de Terapia Intensiva Coronariana; UTI NEO- Unidade de Terapia Intensiva Neonatal; AMI – amicacina; AMP – ampicilina; SAM- ampicilina/sulbactam; CFZ – cefazolina; CPM – cefepima; CTZ - Ceftazidima, CIP– ceftazidima; CTX– ceftriaxona; CIP – ciprofloxacina; COL – colistina; ERT –ertapenem; FG6- Fosfomicina com G6P; GEN – gentamicina, IMI– imipenem; LVX – levofloxacina; MER – meropenem; PIT- Piperacilina-Tazobactam; SXT- Trimetoprim-Sulfametoxazol; VAN-Vancomicina; ND - não detectado.

6 CONCLUSÃO

- Amicacina e colistina foram os antimicrobianos de melhor atividade para inibir os isolados clínicos *K. pneumoniae*, tanto no período antes da pandemia da covid-19 (2019), como durante (2021 e 2022).
- Os isolados de *K. pneumoniae* coletados durante a pandemia (2021 e 2022) apresentaram maior resistência a amicacina quando comparados com os isolados coletados no ano de 2019.
- Os isolados de *K. pneumoniae* apresentaram resistência às cefalosporinas de 4º geração e quinolonas em todos os períodos analisados.
- Todos os isolados de *K. pneumoniae* analisados foram produtores de biofilme, sendo a maioria classificado como moderadamente aderente.
- Em 2021, ano de maior número de casos da covid-19, houve aumento da prevalência de isolados clínicos de *K. pneumoniae* fortemente produtores de biofilme em relação aos anos de 2019 e 2022.
- Os isolados clínicos de *K. pneumoniae* considerados moderadamente e fortemente produtores de biofilme, foram em sua maioria provenientes de cultura de vigilância (swab retal).
- O gene *bla_{NDM}* teve maior ocorrência no período durante a pandemia da covid-19 (2021 e 2022).
- O gene *bla_{KPC}* apresentou uma baixa prevalência nos anos de 2021 e 2022 quando comparado ao período antes da pandemia do coronavírus (2019).

REFERÊNCIAS

ABRANTES, J. A; NOGUEIRA, J. M. R. Utilização de testes fenotípicos para a pesquisa de carbapenamases em enterobactérias: uma ferramenta para orientação clínica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 240-244, 2017.

AFRIDI, Faisal Iqbal *et al.* Increasing Frequency of New Delhi Metallo-beta-Lactamase and Klebsiella pneumoniae Carbapenemase Resistant Genes in a Set of Population of Karachi. **Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP**, v. 33, n. 1, p. 59-65, 2023.

AIRES, Caio Augusto Martins *et al.* Multiclonal expansion of Klebsiella pneumoniae isolates producing NDM-1 in Rio de Janeiro, Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 4, p. e01048-16, 2017.

AL-BAYATI, Majid; SAMARASINGHE, Shivanthi. Biofilm and gene expression characteristics of the carbapenem-resistant enterobacterales, Escherichia coli IMP, and Klebsiella pneumoniae NDM-1 associated with common bacterial infections. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 8, p. 4788, 2022.

ALBUQUERQUE, Diogo de Azevedo Resende de *et al.* Internações hospitalares e taxas de mortalidade por doenças respiratórias não COVID-19 no sistema público de saúde do Brasil durante a pandemia de COVID-19: um estudo observacional nacional. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 49, 2023.

ALENCAR, M. P. I. *et al.* Klebsiella pneumoniae: uma revisão bibliográfica. Mostra Científica em Biomedicina, **Centro Universitário Católica de Quixadá**, n. 1, v. 1, Jun. 2016.

ALI, Sabeeha *et al.* Potenciais alvos terapêuticos da Klebsiella pneumoniae: uma perspectiva de revisão multiômica. **Briefings em genômica funcional**, v. 21, n. 2, pág. 63-77, 2022.

ALSHAIKH, Faisal Salman *et al.* Prevalence of bacterial coinfection and patterns of antibiotics prescribing in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 17, n. 8, p. e0272375, 2022

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resistência microbiana: saiba como é e como evitar**. 23 de novembro de 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/resistenciamicrobiana-saiba-o-que-e-e-como-evitar>> Acesso em: maio de 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 11 abr. 2023.

ANVISA. **Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana**. Brasília: ANVISA, 2013. 29 p. Disponível em:< <https://medvep.com.br/wp->

<content/uploads/2020/09/Mecanismos-de-a%C3%A7%C3%A3o-de-antimicrobianos-e-resist%C3%A2ncia-bacteriana.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

AURILIO, Caterina *et al.* Mechanisms of action of carbapenem resistance. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, p. 421, 2022

BAI, Jing *et al.* Antibiotic resistance and virulence characteristics of four carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains coharbouring blaKPC and blaNDM based on whole genome sequences from a tertiary general teaching hospital in central China between 2019 and 2021. **Microbial Pathogenesis**, p. 105969, 2023.

BASTOS, Leonardo SL *et al.* COVID-19 hospital admissions: Brazil's first and second waves compared. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 8, p. e82-e83, 2021.

BAZAID, Abdulrahman S. *et al.* Bacterial coinfection and antibiotic resistance profiles among hospitalised COVID-19 patients. **Microorganisms**, v. 10, n. 3, p. 495, 2022.

Beta-Lactamase DataBase (BLDB): Structure and Function. Biblioteca Nacional da República Tcheca. Catálogo online. Disponível em:<<http://www.bldb.eu/BLDB.php?prot=A>>. Acesso em: 13 abr. 2023.

BONOMO, R. A. *et al.* Carbapenemase-Producing *OrPseudomonas aeruginosa* organisms: A Global Scourge. **Clinical Infections Diseases**, v. 66, n. 8, p. 1290-1297, abri, 2018.

CAIXETA, Marcos Antônio *et al.* Estudo da formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.

CAMARGO, Carlos Henrique. Current status of NDM-producing Enterobacterales in Brazil: a narrative review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 1339-1344, 2022.

CANO, Ángela *et al.* Association between rectal colonisation by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing K. pneumoniae and mortality: a prospective, observational study. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 29, p. 476-482, 2022.

CANO-MARTÍN, Estefanía *et al.* A study in a regional hospital of a mid-sized Spanish city indicates a major increase in infection/colonization by carbapenem-resistant bacteria, coinciding with the covid-19 pandemic. **Antibiotics**, v. 10, n. 9, p. 1127, 2021.

CAO, B.; WANG, Y.; WEN, D.; *et al.* A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. **The new England Journal of medicine**. v. 382, p. 1787–1799, 2020.

CAVALCANTE, J. R. *et al.* COVID-19 no Brasil: evolução da epidemia até a semana epidemiológica 20 de 2020. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, Brasília, v. 29, n. 4 e. 2020376, 2020.

CHEN, Hsin-Yu *et al.* Carbapenem-resistant enterobacterales in long-term care facilities: a global and narrative review. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 601968, 2021.

CHEN, Qi *et al.* Molecular basis of *Klebsiella pneumoniae* colonization in host. **Microbial Pathogenesis**, p. 106026, 2023.

CHEN, Wei-Cheng *et al.* First COVID-19 mortality case in Taiwan with bacterial co-infection by national surveillance of critically ill patients with influenza-negative pneumonia. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 4, p. 652-656, 2020.

CONCEIÇÃO-NETO, Orlando C. *et al.* Polymyxin resistance in clinical isolates of *K. pneumoniae* in Brazil: Update on molecular mechanisms, clonal dissemination and relationship with KPC-producing strains. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, p. 1012, 2022.

CORREIA, Arielly Maria Ferreira de Moura *et al.* **Prevalência de colonização e infecção por *Klebsiella Pneumoniae* em unidades de terapia intensiva de um hospital escola do Recife-Pernambuco.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem) - Faculdade Pernambucana de Saúde, Recife, 2022.

COSTA, Mizia Karla de Carvalho Martins *et al.* ANÁLISE DA COLONIZAÇÃO POR MICRORGANISMOS MULTIRRESISTENTES ATRAVÉS DE CULTURAS DE VIGILÂNCIA DE PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAIS TERCIÁRIOS DE RECIFE-PE. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 102228, 2022.

COSTANZO, Vincenzo; ROVIELLO, Giovanni N. The Potential Role of Vaccines in Preventing Antimicrobial Resistance (AMR): An Update and Future Perspectives. **Vaccines**, v. 11, n. 2, p. 333, 2023.

CRUZ, R. M. *et al.* COVID-19: Emergência e Impactos na Saúde e no Trabalho. **Revista Psicologia: Organizações & Trabalho (rPOT)**. v. 20, n. 2, abri-jun, 2020.

CUNHA, Anna Karenine Brauna *et al.* Surto de *klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos em unidade de terapia intensiva (uti) adulto destinado a internação de pacientes com covid-19 em hospital privado em salvador (ba). **Revista Brasileira de Infectologia**, v. 26, p. 101955, 2022.

CUSUMANO, Jaclyn A. *et al.* *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients infected with COVID-19: a case series. In: **Open forum infectious diseases**. US: Oxford University Press, 2020. p. of 518.

DA SILVA, Teresa Victória Costa; QUEIROZ, Ana Júlia De Aquino; DA SILVA, Maria Cecília Santos. ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM A PACIENTES COLONIZADOS POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEMASE (KPC). **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 4, p. 06-06, 2021.

DARBY, Elizabeth M. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1-16, 2022.

DE ALMEIDA, Keila de Cássia Ferreira *et al.* Carbapenem resistance in non-carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains: the role importance of OprD and AmpC. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e287111335164-e287111335164, 2022.

DE LIMA, Expedito Duarte *et al.* Principais etiologias e o aumento da resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antimicrobianos frente a COVID-19: uma revisão integrativa: Main etiologies and the increase in bacterial resistance by the indiscriminate use of antimicrobials against COVID-19: an integrative review. **Brazilian Journal of Development**, p. 59436-59456, 2022.

DE OLIVEIRA ALVES, Weverton *et al.* Occurrence of bla NDM-7 and association with bla KPC-2, bla CTX-M15, aac, aph, mph (A), catB3 and virulence genes in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* with different plasmids in Brazil. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 8, p. 459, 2022.

DE SANTIS, Vincenzo *et al.* Bacterial infections in critically ill patients with SARS-2-COVID-19 infection: results of a prospective observational multicenter study. **Infection**, p. 1-10, 2021.

DONG, Huiyue *et al.* Genomic epidemiology insights on NDM-producing pathogens revealed the pivotal role of plasmids on bla NDM transmission. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e02156-21, 2022.

DOS SANTOS, Mirian Lima *et al.* Aumento do consumo de antibióticos no ambiente hospitalar durante a pandemia de Covid-19. **Revista Brasileira de Saúde**, v. 6, não. 1, p. 2341-2350, 2023.

DO VALLE BARROSO, Marlon *et al.* Characterization of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* and affected patients of a pediatric hospital in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, p. 115932, 2023

DUMITRU, Irina Magdalena *et al.* Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* associated with COVID-19. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 561, 2021.

ELIAS, Rita *et al.* Emergence of KPC-3-and OXA-181-producing ST13 and ST17 *Klebsiella pneumoniae* in Portugal: genomic insights on national and international dissemination. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkad093, 2023.

FERNANDES, Tiago Picolo *et al.* Infecções secundárias em pacientes internados por COVID-19: consequências e particularidades associadas. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, v. 34, p. e8687-e8687, 2021.

FIRMO, Elza Ferreira *et al.* Association of blaNDM-1 with blaKPC-2 and aminoglycoside-modifying enzyme genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Serratia marcescens* clinical isolates in Brazil. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 21, p. 255-261, 2020.

FOLLIERO, Veronica *et al.* Evaluation of antibiotic resistance and biofilm production among clinical strain isolated from medical devices. **International Journal of Microbiology**, v. 2021, 2021.

FONSECA, Juliane De Mello. Caracterização microbiológica de *Klebsiella pneumoniae* produtora de enzima KPC isoladas em pacientes de um hospital de alta complexidade durante o período de cinco anos (2009–2014). 2019.

FORERO-HURTADO, Daniela *et al.* Worldwide Dissemination of bla KPC Gene by Novel Mobilization Platforms in *Pseudomonas aeruginosa*: A Systematic Review. **Antibiotics**, v. 12, n. 4, p. 658, 2023.

FREIRES, Marinete Sousa; JUNIOR, Omero Martins Rodrigues. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e31611125035-e31611125035, 2022.

FROTA, Oleci Pereira *et al.* Colheita de aspirado traqueal: segurança e concordância microbiológica entre duas técnicas. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 48, p. 618-624, 2014.

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

GHANIZADEH, Asma *et al.* Genetic diversity, antimicrobial resistance pattern, and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) and ventilator-associated pneumonia. **BioMed research international**, v. 2021, 2021.

GOMES, D. R. M, CASALINI, C. C. Características microbiológicas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas no meio ambiente hospitalar: uma revisão. **Revista Saúde Integrada**, v.1, n. 22, p. 71-84, 2018.

HANSEN, Glen T. Continuous evolution: perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among Enterobacterales and other Gram-negative bacteria. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 10, p. 75-92, 2021.

HUANG, Y. *et al.* Detection of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST11-K64 co-producing NDM-1 and KPC-2 in a tertiary hospital in Wuhan. **Journal of Hospital Infection**, v. 131, p. 70-80, 2023.

JÁCOME, PAULA REGINA LUNA DE ARAÚJO ; ALVES, LÍLIAN RODRIGUES ; CABRAL, Adriane Borges ; LOPES, Ana Catarina Souza ; MACIEL, Maria Amélia Vieira . Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** (Impresso), v. 45, p. 707-712, 2012.

JALAL, Naif A. *et al.* Prevalence and Antibigram Pattern of *Klebsiella pneumoniae* in a Tertiary Care Hospital in Makkah, Saudi Arabia: An 11-Year Experience. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 164, 2023.

JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. **Systems Institute - Johns Hopkins University**. Disponível em:<<https://systems.jhu.edu/>>. Acesso em: 11 mar. 2023.

KARAMPATAKIS, Theodoros; TSENGOULI, Katerina; BEHZADI, Payam. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 234, 2023.

KARIMI, Kiana *et al.* Investigation of antibiotic resistance and biofilm formation in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Microbiology**, v. 2021, 2021.

KHALIL, O. A. K.; KHALIL, S. DA S. SARS-CoV-2: taxonomia, origem e constituição. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 473–479, 2020.

KHAN, Junaid Musarrat *et al.* Prevalence Of New Delhi Metallo-Beta Lactamase Gene (Ndm-1) From Different Clinical Samples In A Tertiary Care Hospital. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, p. 2265-2268, 2023.

KONEMAN, Elmer W.; ALLEN, Estevão. **Koneman. Diagnóstico microbiológico/diagnóstico microbiológico: Texto e Atlas Colorido/Texto e Atlas Colorido**. Pan American Medical Ed., 2008.

KONEMAN, Elmer W. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e atlas**. 7o ed, Ed. Guanabara Koogan LTDA, 2015.

LAN, You *et al.* Preliminary investigation of iron acquisition in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* mediated by outer membrane vesicles. **Infection and Drug Resistance**, p. 311-320, 2022.

LANSBURY, L. *et al.* Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Infection**, v. 81, p. 266–275, 2020.

LI, J.; *et al.* Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2020.

LIMA, Giselle Jucá de *et al.* Identification of plasmid IncQ1 and NTE KPC-IIId harboring bla KPC-2 in isolates from *Klebsiella pneumoniae* infections in patients from Recife-PE, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020.

List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Disponível em: <<http://www.bacterio.net/>>. Acesso em: 11 mar. 2023.

LIU, Weiyong *et al.* Detection of Covid-19 in children in early January 2020 in Wuhan, China. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 14, p. 1370-1371, 2020.

LIU, Yingzhi *et al.* Outcomes of respiratory viral-bacterial co-infection in adult hospitalized patients. **EClinicalMedicine**, v. 37, p. 100955, 2021.

LIU, Zhe *et al.* Identification of common deletions in the spike protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. **Journal of virology**, v. 94, n. 17, p. e00790-20, 2020.

MAHMUD, Zahid Hayat *et al.* Healthcare Facilities as Potential Reservoirs of Antimicrobial Resistant *Klebsiella pneumoniae*: An Emerging Concern to Public Health in Bangladesh. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 9, p. 1116, 2022

MARANGONI, Caroline Guimarães Pançardes da Silva *et al.* **Antimicrobial Stewardship: uma contribuição baseada na espectroscopia Raman amplificada por superfície-SERS**. 2022. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2022.

MARÍ-ALMIRALL, Marta *et al.* Clonal spread and intra-and inter-species plasmid dissemination associated with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacterales during a hospital outbreak in Barcelona, Spain. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 781127, 2021.

MARTINS, Lamartine Rodrigues. **Caracterização de genes de resistência, relação clonal e tipagem molecular de Enterobacterales provenientes de colonização e infecção em pacientes COVID-19 com pneumonia e septicemia de hospital público de Recife-PE**. Submetido à publicação. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

MEDICAL LABS. Gram-Negative Bacilli of *Klebsiella pneumoniae*. [S.l.]: MEDICAL LABS, 2023. Disponível em: <http://www.medical-labs.net/gram-negative-bacilli-of-klebsiella-pneumoniae-621/>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MENDES, Gabriel *et al.* First outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 in a Portuguese Hospital Centre during the COVID-19 pandemic. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 251, 2022.

MENEZES, E. A; *et al.* .Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na unidade de terapia intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** V.43, N. 3, P. 149-155, Rio de Janeiro, 2007.

MESQUITA, Rafael Ferreira *et al.* Uso racional de antimicrobianos e impacto no perfil de resistência microbiológica em tempos de pandemia pela Covid-19. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e58211125382-e58211125382, 2022.

MOJICA, María Fernanda *et al.* Molecular Mechanisms of Resistance to Ceftazidime/Avibactam in Clinical Isolates of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* in Latin American Hospitals. **Msphere**, p. e00651-22, 2023.

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.

MONTEIRO, Jussimara *et al.* NDM-producing Enterobacterales prevalence associated to Covid-19 in a tertiary hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 27, p. 102735, 2023.

MURAI, Amanda Yuki *et al.* Tratamento de infecções hospitalares causadas pela *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) com antibióticos da classe das cefalosporinas. **Revista Brasileira de Ciências Biomédicas**, v. 3, n. 1, p. E0652022-12, 2022.

NAKAGAWARA, Kensuke et al. Diagnostic significance of secondary bacteremia in patients with COVID-19. **Journal of Infection and Chemotherapy**, 2023.

NARIMISA, Negar; GOODARZI, Forough; BAVARI, Shirin. Prevalence of colistin resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolates in Iran: A systematic review and meta-analysis. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2022

NA ZHU, P. H. D.; *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **The new england journal of medicine**. v. 382(8):727-733, 2020.

NIRWATI, Hera *et al.* Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. In: **BMC proceedings**. BioMed Central, 2019. p. 1-8.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791, 2011.

OLEKSY-WAWRZYNIAK, Monika *et al.* The in vitro ability of *Klebsiella pneumoniae* to form biofilm and the potential of various compounds to eradicate it from urinary catheters. **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 42, 2022.

OLIVEIRA, Érica Maria de. **Investigação de genes para carbapenemases, grupos de incompatibilidade plasmidial e relação clonal de isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos provenientes de colonização e infecção em um hospital de Recife-PE**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

O'NEILL, Jim. **Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations**. 2016.

Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde. **Resistência antimicrobiana**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>. Acesso em: 23 mar. 2023.

O'TOOLE, George A. Microtiter dish biofilm formation assay. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 47, p. e2437, 2011.

PERROTTA, Francesco; PERRINI, Marco Paolo. Successful treatment of *Klebsiella pneumoniae* NDM sepsis and intestinal decolonization with ceftazidime/avibactam plus aztreonam combination in a patient with TTP complicated by SARS-CoV-2 nosocomial infection. **Medicina**, v. 57, n. 5, p. 424, 2021.

PIMENTEL, M. I. S. **Investigação do perfil de virulência e de resistência aos carbapenêmicos e relação clonal de isolados de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de infecções em pacientes com COVID-19 em um hospital público de Recife-PE**. Submetido à publicação. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

PONS, Maria J.; RUIZ, Joaquim. Current trends in epidemiology and antimicrobial resistance in intensive care units. **World War II**, v. 7, p. 20, 2019.

PUZNIAK, Laura *et al.* A multicenter analysis of the clinical microbiology and antimicrobial usage in hospitalized patients in the US with or without COVID-19. **BMC infectious diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2021.

QUEZADA-AGUILUZ, Mario *et al.* Novel Megaplasmid Driving NDM-1-Mediated Carbapenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* ST1588 in South America. **Antibiotics**, v. 11, n. 9, p. 1207, 2022.

RADA, Ana M. *et al.* Dynamics of bla KPC-2 dissemination from non-CG258 *Klebsiella pneumoniae* to other Enterobacterales via IncN plasmids in an area of high endemicity. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 64, n. 12, p. e01743-20, 2020.

RAWSON, Timothy M. *et al.* Antimicrobial use, drug-resistant infections and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 8, p. 409-410, 2020.

REZENDE, Rubens Barbosa; DO NASCIMENTO NOGUEIRA, Isadora Moreira Costa. Prevalência e perfil de sensibilidade dos gêneros *Klebsiella* spp. e *Staphylococcus* spp. isolados da urocultura de pacientes de um laboratório privado de análises clínicas no município de Conselheiro Lafaiete-MG/Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e32811124855-e32811124855, 2022.

RIBEIRO, Ane Caroline *et al.* Colonização por MRSA em profissionais de saúde: uma Revisão Sistemática. **Rev Bras Cien Med Saúde**, p. 00-00, 2022.

RIBEIRO, Edlainny Araujo *et al.* Impacto da pandemia de COVID-19 na ocorrência de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos-revisão integrativa: Impact of the COVID-19 pandemic on the occurrence of bacterial resistance to antimicrobials-integrative review. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 7, p. 54080-54099, 2022.

RODRÍGUEZ, Luis Enrique Cabrera *et al.* Variación de la susceptibilidad a antimicrobianos en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* de pacientes hospitalizados. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 74, n. 3, 2023.

ROHITH, G.; DEVIKA, K. B. Dynamics and control of COVID-19 pandemic with nonlinear incidence rates. **Nonlinear Dynamics**, v. 101, n. 3, p. 2013-2026, 2020.

SADEK, Mustafa *et al.* Evaluation of novel immunological rapid test (KNIVO Detection K-Set) for rapid detection of carbapenemase producers in multidrug-resistant gram negatives. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 104, n. 4, p. 115761, 2022.

SAINI, V. *et al.* Paradigm Shift in Antimicrobial Resistance Pattern of Bacterial Isolates during the COVID-19 Pandemic. **Antibiotics**, v. 10, n. 954, 2021.

SAMROT, Antony V. *et al.* Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds—A review. **Medicina**, v. 57, n. 8, p. 839, 2021.

SCAVUZZI, Alexsandra Maria Lima *et al.* Corrigendum: Occurrence of qnrB1 and qnrB12 genes, mutation in gyrA and ramR, and expression of efflux pumps in isolates of *Klebsiella pneumoniae* carriers of bla KPC-2. **Journal of medical microbiology**, v. 67, n. 1, p. 144, 2018.

SCAVUZZI, Aleksandra Maria Lima *et al.* Emergence of blaVIM-2, blaNDM-1, blaIMP-7 and blaGES-1 in blaKPC-2-harboursing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Brazil. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 19, p. 181-182, 2019.

SCAVUZZI, Aleksandra Maria Lima *et al.* Emergence of bla NDM-1 associated with the aac (6')-Ib-cr, acrB, cps, and mrkD genes in a clinical isolate of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* from Recife-PE, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, 2019.

SHADKAM, Shadi *et al.* Correlation between antimicrobial resistance and biofilm formation capability among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in Iran. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 20, p. 1-7, 2021.

SEKOWSKA, Alicja; GRABOWSKA, Marta; BOGIEL, Tomasz. Satisfactory In Vitro Activity of Ceftolozane–Tazobactam against Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* But Not against *Klebsiella pneumoniae* Isolates. **Medicina**, v. 59, n. 3, p. 518, 2023.

SHENG-QUN, D. AND HONG-JUAN, P. Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. **Journal of clinical medicine**. v. 9(2), p. 1-10, 2020.

SHI, YingWu *et al.* *Klebsiella*. **Beneficial Microbes in Agro-Ecology**, p. 233-257, 2020.

SHIBO, J. A.B.; *et al.* An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. **Emerging microbes infections**. v.9(1);, p. 275-277, 2020.

SILVA, D. L. *et al.* Fungal and bacterial coinfections increase mortality of severely ill COVID-19 patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 113, p. 145-154, 2021.

SINGHAI, Monil *et al.* A study on device-related infections with special reference to biofilm production and antibiotic resistance. **Journal of global infectious diseases**, v. 4, n. 4, p. 193, 2012.

SOARES, Cynthia Regina Pedrosa; OLIVEIRA-JÚNIOR, Jorge Belém; FIRMO, Elza Ferreira. Primeiro relato de um gene bla NDM-resistente em um isolado clínico de *Klebsiella aerogenes* do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, 2020.

SOARES, V. M. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing (KPC) in a tertiary hospital. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 4, p. 251-253, ago., 2012.

SPRENGER M, FUKUGA K. New mechanisms, new worries. **Science**, v. 351, n. 6279, p. 1263-1264, 2016.

SREENATH, K. *et al.* Coinfections with other respiratory pathogens among patients with COVID-19. **Microbiology spectrum**, v. 9, n. 1, p. e00163-21, 2021.

SRIRAM, K. K. *et al.* High diversity of blaNDM-1-encoding plasmids in Klebsiella pneumoniae isolated from neonates in a Vietnamese hospital. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 59, n. 2, p. 106496, 2022.

TAMMA, Pranita D. *et al.* Prevalence of bla CTX-M genes in Gram-negative bloodstream isolates across 66 hospitals in the United States. **Journal of clinical microbiology**, v. 59, n. 6, p. e00127-21, 2021.

TESFA, Tewodros *et al.* Prevalence and incidence of carbapenem-resistant K. pneumoniae colonization: systematic review and meta-analysis. **Systematic Reviews**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2022.

THAPA, Anisha *et al.* Detection of NDM Variants (bla NDM-1, bla NDM-2, bla NDM-3) from Carbapenem-Resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: First Report from Nepal. **Infection and Drug Resistance**, p. 4419-4434, 2022.

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016

TOUNY, Aiman *et al.* Incidence of Co-infection and its Impact on COVID-19 Patients admitted in the Intensive Care Unit. **Egyptian Journal of Anaesthesia**, v. 39, n. 1, p. 141-148, 2023.

TSILIPOUNIDAKI, Katerina *et al.* Diversity of bacterial clones and plasmids of NDM-1 producing Escherichia coli clinical isolates in Central Greece. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 516, 2023.

TUMBARELLO, Mario *et al.* Predictors of mortality in bloodstream infections caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae: importance of combination therapy. **Clinical infectious diseases**, v. 55, n. 7, p. 943-950, 2012.

VALENÇA, Camilla *et al.* RESISTÊNCIA MICROBIANA ASSOCIADA AO COVID-19. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 7, n. 3, p. 11-11, 2022.

VELLANO, Patrícia Oliveira; DE PAIVA, MaykonJhuly Martins. O uso de antimicrobiano na COVID-19 e as infecções: o que sabemos. **Research, Society andDevelopment**, v. 9, n. 9, p. e841997245-e841997245, 2020.

VERA-LEIVA, Alejandra *et al.* KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. **Revista chilena de infectologia**, v. 34, n. 5, pág. 476-484, 2017.

VISWANATH, Gannabathula Akash. **Infecções secundárias em pacientes com Covid-19: uma revisão de literatura**. 2021. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2022.

WALESCH, Sebastian *et al.* Fighting antibiotic resistance—strategies and (pre) clinical developments to find new antibacterials. **EMBO reports**, v. 24, n. 1, p. e56033, 2023.

WANG, Guoying *et al.* The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 17, p. 6278, 2020

WERNECK, Guilherme Loureiro. A pandemia de Covid-19: desafios na avaliação do impacto de problemas complexos e multidimensionais na saúde das populações. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis. **Joint News Release**, v. 29, 2019.

WU, Huan-Yi *et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19) associated bacterial coinfection: Incidence, diagnosis and treatment. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, 2022.

WU, Wenjing *et al.* NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 2, p. e00115-18, 2019.

XAVIER, A. R. *et al.* COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 56, p. 1-9, 2020.

XIONG, Luying *et al.* Molecular mechanisms underlying bacterial resistance to ceftazidime/avibactam. **WIREs Mechanisms of Disease**, v. 14, n. 6, p. e1571, 2022.

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.

ZUCCATO, Francesco Gabriel. **Estudios de los Caminos Evolutivos de la Carbapenemasa NDM**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso.