



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Jéssica de Oliveira Abreu

***Stenotrophomonas maltophilia* de origem clínica: caracterização fenotípica e molecular da resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos**

Rio de Janeiro

2021

Jéssica de Oliveira Abreu

***Stenotrophomonas maltophilia* de origem clínica: caracterização fenotípica e molecular da resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Elizabeth de Andrade Marques

Coorientador: Prof. Dr. Robson de Souza Leão

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A162 Abreu, Jéssica de Oliveira.

Stenotrophomonas maltophilia de origem clínica: caracterização fenotípica e molecular da resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos / Jéssica de Oliveira Abreu – 2021.

70 f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Elizabeth de Andrade Marques

Coorientador: Prof. Dr. Robson de Souza Leão

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Microbiologia.

1. *Stenotrophomonas maltophilia*. 2. Resistência a trimetoprima. 3. Sulfametoxazol. 4. Fibrose cística – Teses. I. Marques, Elizabeth de Andrade. II. Leão, Robson de Souza. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 576.8

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Jéssica de Oliveira Abreu

***Stenotrophomonas maltophilia* de origem clínica: caracterização fenotípica e molecular da resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Microbiologia Médica Humana.

Aprovada em 31 de agosto de 2021.

Orientadora: Prof.^a Dra. Elizabeth de Andrade Marques
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Robson de Souza Leão
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora: _____
Prof.^a Dra. Ângela Correa de Freitas Almeida
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Dra. Bianca de Oliveira Fonseca
Hospital Federal da Lagoa

Prof.^a Dra. Mila Muraro de Almeida
Universidade Veiga de Almeida

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento a Deus, sempre em primeiro lugar. Só Ele sabe quantas barreiras eu tive que ultrapassar para chegar aqui. Barreiras criadas por mim e pelas circunstâncias da vida. Agradeço aos meus pais, por todo investimento e zelo. Por todas as vezes em que negaram suas próprias vontades e necessidades pelo meu irmão e por mim.

Ao meu irmão, por ser tão determinado e um grande amigo.

Aos amigos que acreditam em mim, que me impulsionam, e estão sempre dispostos a me aconselhar e ouvir. Em especial, agradeço ao Rafael, por ser meu irmão de alma, e à sua esposa Thamyres, que se tornou uma das minhas melhores amigas. Grato encontro! À Ana (sempre prestativa) e ao Vinícius, minhas joias da graduação! Ao Wesley, por sua calma e brandura que sempre me levam a águas mais tranquilas. Ao André, sempre pronto para tudo. À Patrícia e Amanda, amigas da vida toda.

Agradeço à UERJ, onde cresci, mudei, aprendi e amadureci.

Ao laboratório 2, braço dessa mãe, por me acolher e gerar senso de pertencimento em mim. Obrigada a todos os que foram/são dessa família, da qual faço parte há sete anos. Às técnicas Márcia e Elisa, por serem tão pacientes e prestativas. Obrigada, Ingrid, por ser uma ótima parceira e amiga de turma, laboratório e rolês (porque ninguém é de ferro!). Obrigada, Nicoli, por tantas risadas na viagem de Arraial e por todas as cantorias. Ao Felipe, por tantos meios vertidos e por ter feito eu me sentir tão feliz quando passou no mestrado. Agradeço ao Edgard, por me acalmar quando tive COVID-19 e pelos momentos partilhados. Karol, obrigada pelo doce de pessoa que você é!

Gratidão à Mila. Sua amizade é um presente que quero levar por toda a vida. Obrigada por me ajudar todas as vezes em que precisei, por ser tão gentil, acolhedora, paciente e, principalmente, por ter um coração bom. Você foi essencial nessa jornada!

Agradeço ao professor Robson, pelas broncas, ensinamentos e por seu cuidado com os alunos. Cuidado que, como aconteceu comigo, pode ser sentido em uma simples frase, como “tudo passa”, dita num momento ruim.

À professora Elizabeth, por ser fundamental em minha vida. Sou grata desde o “sim” dado, quando fui buscar vaga de iniciação científica, e nunca deixarei de ser. Obrigada por ter acreditado em mim, por todo apoio, por lutar pelos seus alunos e dividir tanto conosco. A senhora é alguém em quem eu posso, declaradamente, me inspirar e admirar. Obrigada, obrigada e obrigada!

Agradeço à professora Ana Paula e aos integrantes de seu laboratório na FIOCRUZ, por toda a prestatividade.

Agradeço aos amigos dos demais laboratórios do Departamento de Microbiologia e Imunologia, por terem me mostrado que é possível trabalhar em grupo, com harmonia e amizade de verdade, sem disputa de egos. Obrigada Yuri, Pâmella, Guilherme, Felipe, Bianca, Manu (principalmente quando precisava saber algo sobre PCR) e aos demais, pelas tardes em que comemos pipoca e bebemos café na copa, pelas risadas, histórias e tantos momentos eternizados na memória. Vocês são maravilhosos!

Agradeço também a todos os professores da pós graduação, por serem tão bons no que fazem. Obrigada à Carla, por ser tão gentil e doce.

Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo auxílio financeiro, sem o qual este trabalho não seria possível.

Em tempos de pandemia, de negacionismo e banalização da ciência, concluir este trabalho foi uma grande honra.

A todos, de coração, meus sinceros agradecimentos! Amo vocês.

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.

Marthin Luther King

RESUMO

ABREU, Jéssica de Oliveira. ***Stenotrophomonas maltophilia* de origem clínica: caracterização fenotípica e molecular da resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos**. 2021. 70 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Stenotrophomonas maltophilia é um microrganismo oportunista e frequentemente associado a infecções em pacientes imunocomprometidos, hospitalizados em unidades críticas, estando associado à exacerbação e perda da função pulmonar naqueles com Fibrose Cística (FC), colaborando para a elevação das taxas de morbi-mortalidade. A resistência a múltiplos antimicrobianos é um desafio do ponto de vista clínico. O objetivo do trabalho foi avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos mais utilizados no tratamento das infecções por *S. maltophilia* e investigar genes associados à resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos. Foram analisadas 155 amostras de *S. maltophilia*, coletadas de janeiro de 2010 a abril de 2021, de espécimes clínicos variados. Destas, 112 (72,3%) eram de pacientes sem FC (NFC) e 43 (27,7%) de pacientes com FC. No grupo NFC, a maioria foi obtida de secreções respiratórias (95, 84,8%) seguidas por amostras de sangue (10, 8,9%), enquanto no grupo FC, todas foram de espécimes respiratórios. Esses dados corroboram a maior prevalência de *S. maltophilia* em infecções respiratórias. O encontro exclusivo desse microrganismo em amostras sanguíneas em NFC era esperado já que casos de bacteremias não são usuais em FC, cujo seguimento clínico é predominantemente ambulatorial. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos das 155 amostras de *S. maltophilia* foi feito, pelo método de disco-difusão, para: trimetoprima-sulfametoxazol (SXT), levofloxacina (LEV) e minociclina (MIN). A quase totalidade das amostras foi sensível aos três antimicrobianos testados, independente do grupo de pacientes, incluindo as amostras (n=9) obtidas de pacientes NFC com diagnóstico de COVID-19. Apenas uma amostra do grupo NFC, foi resistente a SXT e LEV, e apenas uma do grupo FC foi resistente a LEV. Foram selecionadas 32 (20,6%) amostras, isoladas entre 2014 e 2019, para a determinação das concentrações inibitórias mínimas de SXT, LEV, MIN e ceftazidima (CAZ), pelo método de fita gradiente. Cinco (15,6%) tiveram resultado intermediário para CAZ enquanto 17 (53,1%) amostras foram resistentes. Destas, 43,7% apresentaram níveis elevados de resistência ($\geq 256 \mu\text{g/mL}$). Todas as amostras foram sensíveis aos demais antimicrobianos. Apesar da resistência intrínseca de *S. maltophilia* aos carbapenêmicos, investigamos a presença dos genes codificadores de carbapenemases *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM} e *bla*_{OXA-48like}, por *Polymerase Chain Reaction* (PCR), a fim de verificar um possível papel dessa bactéria como reservatório desses genes. PCR para o gene *sulI*, associado a resistência ao SXT, também foi realizado. Todas as amostras foram negativas para os genes pesquisados. Embora a ocorrência de *S. maltophilia* não sensíveis aos antimicrobianos, em nosso estudo, tenha sido incomum, não invalida o monitoramento contínuo dos perfis de resistência em nossa unidade hospitalar, incluindo não apenas as de origem clínica, como as ambientais. A vigilância microbiológica, incluindo o perfil de resistência, permite a introdução, quando necessária, de medidas de controle de surtos em casos específicos.

Palavras-chave: *Stenotrophomonas maltophilia*; resistência a antimicrobianos; fibrose cística.

ABSTRACT

ABREU, Jéssica de Oliveira. ***Stenotrophomonas maltophilia* of clinical origin: phenotypic and molecular characterization of resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole and carbapenems.** 2021. 70 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Stenotrophomonas maltophilia is an opportunistic microorganism and often associated with infections in immunocompromised patients hospitalized in critical units, related to exacerbation and loss of lung function in Cystic Fibrosis (CF) patients, contributing to morbidity-mortality rates. Multidrug resistant strains is a clinical challenge. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial resistance profile to the most antibiotics commonly used in *S. maltophilia* infection and investigate genes associated with resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole and carbapenems. We analyzed 155 *S. maltophilia* isolates recovered from many clinical specimens, during January 2010 to April 2021. 112 (72.3%) and 43 (27.7%) isolates were obtained from patients without CF (NFC) and CF patients, respectively. In NFC group, most of all were obtained from respiratory secretions (95; 84.8%) followed by blood samples (10; 8.9%), while in CF group, all of them were from respiratory specimens. These data corroborate the higher prevalence of *S. maltophilia* in respiratory infections. The exclusive isolation in blood samples from NFC was expected since cases of bacteremias are unusual in CF, whose clinical follow-up is predominantly ambulatory. Using disk diffusion test, 155 *S. maltophilia* isolates was analyzed for trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), levofloxacin (LEV) and minocycline (MIN). Most of all were susceptible to antimicrobials tested, in both patients group, including isolates (n=9) from NFC patients with COVID-19. Just a single isolate from NFC group was resistant to SXT and LEV, and only one of the FC group was resistant to LEV. Minimal inhibitory concentration was performed using gradient diffusion test to SXT, LEV, MIN and ceftazidime (CAZ) for 32 (20.6%) isolates, obtained between 2014 to 2019. Five (15.6%) and 17 (53.1%) isolates showed an intermediate and resistance categories to CAZ, respectively. Among the resistance isolates, 43.7% presented high levels resistance ($\geq 256 \mu\text{g/mL}$). All isolates were susceptible to other antimicrobials. Despite the intrinsic resistance of *S. maltophilia* to carbapenems, we investigated the presence of genes encoding carbapenemases such as *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* and *bla_{OXA-48like}*, by PCR, in order to verify a possible role of this microorganism as reservoir of these genes. PCR for *sulI* gene, associated with SXT resistance, was also performed. All isolates were negative. The majority isolates showed high susceptible rates to all antimicrobial tested in our study. Despite that, it does not excluded the continuous monitoring of resistance profiles in our hospital, including clinical and environmental origins. Microbiological surveillance, including the resistance profile, allows development of an action plan for an outbreak control measures.

Keywords: *Stenotrophomonas maltophilia*; antimicrobial resistance; cystic fibrosis.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Distribuição do número e percentual de amostras e pacientes incluídos no estudo.....	39
Gráfico 2 –	Concentração inibitória mínima para trimetoprima/sulfametoxazol de pacientes sem fibrose cística	48
Gráfico 3 –	Concentração inibitória mínima para trimetoprima/sulfametoxazol de pacientes com fibrose cística	48
Gráfico 4 –	Concentração inibitória mínima para levofloxacina de pacientes sem fibrose cística	49
Gráfico 5 –	Concentração inibitória mínima para levofloxacina de pacientes com fibrose cística	50
Gráfico 6 –	Concentração inibitória mínima para minociclina de pacientes sem fibrose cística	51
Gráfico 7 –	Concentração inibitória mínima para minociclina de pacientes com fibrose cística	51
Gráfico 8 –	Concentração inibitória mínima para ceftazidima de pacientes sem fibrose cística	52
Gráfico 9 –	Concentração inibitória mínima para ceftazidima de pacientes com fibrose cística	53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios de interpretação para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco-difusão	34
Quadro 2 – Critérios de interpretação para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de fita gradiente	35
Quadro 3 – Condições metodológicas para detecção de genes <i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{NDM}</i> e <i>bla_{OXA-48like}</i> por meio de PCR <i>multiplex</i>	37
Quadro 4 – Condições metodológicas para detecção do gene <i>sul1</i> por meio de PCR simples.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição das 155 amostras de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> obtidas de 126 pacientes	40
Tabela 2 –	Espécimes clínicos das 155 amostras de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> isoladas de pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística	41
Tabela 3 –	Distribuição dos espécimes clínicos de pacientes sem fibrose cística	42
Tabela 4 –	Distribuição das amostras de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> em pacientes com diagnóstico de COVID-19	42
Tabela 5 –	Distribuição dos espécimes clínicos de pacientes com fibrose cística.....	43
Tabela 6 –	Análise temporal do isolamento das amostras de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> considerando o ano de coleta e o grupo de pacientes	43
Tabela 7 –	Distribuição das 38 amostras de pacientes sem fibrose cística do ano de 2011, de acordo com os espécimes clínicos e da clínica de origem	44
Tabela 8 –	Análise temporal do perfil de sensibilidade das 155 amostras de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	46
Tabela 9 –	Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de 32 amostras de pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística pelo método de fita gradiente.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BAL	<i>Bronchoalveolar Lavage</i>
BGNF	Bacilo Gram Negativo não Fermentador da Glicose
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CAB	<i>Columbia Agar Base</i>
CAZ	Ceftazidima
CBc	Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>
CCBH	Coleção de Culturas de Bactérias de Origem Hospitalar
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane-conductance Regulator</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLED	<i>Cystine Lactose Electrolyte Deficient</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
COVID-19	<i>Coronavirus Disease - 2019</i>
CTI	Centro de Terapia Intensiva
DD	Disco-Difusão
DIMI	Disciplina de Microbiologia e Imunologia
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i>
DNase	<i>Deoxyribonuclease</i>
EPC	Enterobactéria Produtora de Carbapenemase
EUA	Estados Unidos da América
FC	Fibrose Cística
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HCl	Ácido Clorídrico
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
I	Intermediário
IFF	Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira
IPCS	Infecção Primária da Corrente Sanguínea
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

ISCR	<i>Insertion Sequence Common Region</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i>
LABACT	Laboratório de Bacteriologia
LabMiFC	Laboratório de Microbiologia da Fibrose Cística
LAPIH	Laboratório de Infecção Hospitalar
LEV	Levofloxacina
MBL	Metalobetalactamase
MDR	Multidroga-resistente
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
MIN	Minociclina
NDM	<i>New Delhi Metallo-beta-lactamase</i>
NFC	Sem Fibrose Cística
OF	Oxidação-fermentação
OXA	<i>Oxacillinase</i>
PAV	<i>Proportional Assist Ventilation</i>
PB	Pares de bases
PBP	<i>Penicillin-Binding Protein</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPC	Policlínica Piquet Carneiro
R	Resistente
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
S	Sensível
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus 2</i>
SXT	Trimetoprima/sulfametoxazol
TBE	<i>Tris-Borate-EDTA</i>
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
UCIPG	Unidade de Cuidados Intermediários do Plantão Geral
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
×	Multiplicação
+	Positivo
-	Negativo
≤	Menor ou igual a
≥	Maior ou igual a
<	Menor que
>	Maior que
=	Igual a
rpm	Rotações por minuto
°C	Graus Celsius
kb	Quilobyte
mA	MiliAmper
mL	Mililitro
mg	Miligrama
μg	Micrograma
μL	Microlitros
®	Marca registrada

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	OBJETIVOS	29
1.1	Geral	29
1.2	Específicos	29
2	METODOLOGIA	30
2.1	Seleção das amostras	30
2.2	CrITÉRIOS de seleção das amostras	30
2.3	Reativação das amostras e caracterização fenotípica	31
2.3.1	<u>Identificação fenotípica</u>	31
2.3.1.1	Base de oxidação/fermentação	31
2.3.1.2	Descarboxilação do aminoácido lisina	32
2.3.1.3	Produção de DNase	33
2.4	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA)	33
2.4.1	<u>Teste de disco-difusão</u>	33
2.4.2	<u>Método de fita gradiente</u>	34
2.5	Reação em Cadeia da Polimerase	35
2.5.1	<u>Deteção dos genes codificadores de carbapenemases e do gene <i>sulI</i></u>	35
2.5.1.1	Obtenção do DNA	35
2.5.1.2	Preparo da mistura da reação	36
2.5.1.3	Amplificação dos genes codificadores das carbapenemases	37
2.5.1.4	Amplificação do gene <i>sulI</i>	37
2.5.1.5	Eletroforese	38
3	RESULTADOS	39
3.1	Caracterização fenotípica de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	39
3.2	Características da amostragem	39
3.3	Características das amostras dos pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística	40
3.3.1	<u>Em relação ao espécime clínico</u>	40
3.4	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	46
3.4.1	<u>Teste de disco-difusão</u>	46

3.4.2	<u>Método de fita gradiente</u>	46
3.5	Caracterização dos genes de resistência	53
3.5.1	<u>Deteccção molecular de genes de resistência a carbapenêmicos e a trimetoprima/sulfametoxazol</u>	53
4	DISCUSSÃO	54
	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	70

INTRODUÇÃO

Stenotrophomonas maltophilia: histórico e características gerais

Stenotrophomonas maltophilia é um bacilo Gram-negativo não fermentador da glicose (BGNNF) frequente em infecções respiratórias, especialmente em pacientes imunocomprometidos e/ou assistidos em centros de terapia intensiva (CTI), além de se destacar como patógeno em pacientes com fibrose cística (FC) (ADEGOKE, STENSTRÖM, OKOH, 2017; CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; RODRIGUES, GIOIA, ROSSI, 2011; WANG et al., 2020).

Antes de ser adotada a classificação taxonômica atual, esta espécie foi incluída em diversos gêneros. Ao ser isolada de líquido pleural no ano de 1943, sua primeira classificação foi estabelecida: *Bacterium bookeri*. Em 1961, foi incluída no gênero *Pseudomonas*, recebendo o nome de *Pseudomonas maltophilia*, por ter sido isolada de amostras animais, alimentares e humanas (HUGH & RYSCHENKOW, 1961).

Essa classificação durou até 1983, quando passou a fazer parte do gênero *Xantomonas* por similaridades genéticas, passando a se chamar *Xantomonas maltophilia* (SWINGS et al., 1983 apud PALLERONI & BRADBURY 1993). A criação do gênero *Stenotrophomonas* foi proposta em 1993, devido a diferenças fenotípicas com o gênero anterior, sendo categorizada como *S. maltophilia* (PALLERONI & BRADBURY, 1993).

O nome *Stenotrophomonas* provém etimologicamente do grego ‘*stenos*’, que significa "limitado", ‘*trophus*’, cujo significado é "o que se alimenta" e ‘*monas*’, que denota unidade, dando a ideia geral de unidade que se alimenta de poucos substratos (PALLERONI & BRADBURY, 1993). O nome *maltophilia*, por sua vez, origina-se da capacidade de microrganismos desta espécie serem capazes de produzir ácido tendo a maltose como substrato (SAID, TIRTHANI, LESHU, 2021).

Atualmente, o gênero *Stenotrophomonas* abriga 20 espécies² com vasta diversidade genética (CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; MERCIER-DARTY et al., 2020).

²List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Endereço eletrônico: <<https://lpsn.dsmz.de/genus/stenotrophomonas>>.

***Stenotrophomonas maltophilia*: habitat e infecções**

S. maltophilia é uma espécie amplamente distribuída geograficamente, sendo encontrada até mesmo em ambientes extremos. Já foi isolada a partir de solo, ambientes aquáticos (poços, rios, esgoto, água engarrafada etc.), fezes de frangos e porcos, alimentos (leite cru, peixe congelado, ovos) e da rizosfera de diversos vegetais (milho, beterraba, banana, entre outros). Amostras de origem hospitalar de *S. maltophilia* já foram isoladas a partir de cateteres, respiradores, pias, torneiras, água de torneira, máquinas de gelo, equipamentos e águas de diálise, curativos de algodão e mãos de profissionais da saúde (AN & BERG, 2018; FRASER et al., 2019; SAID, TIRTHANI, LESHIO, 2021).

Caracterizado como microrganismo ambiental, não pertencente à microbiota, *S. maltophilia* sofreu adaptações e se destacou como patógeno oportunista (HAMDI et al., 2020; MERCIER-DARTY et al., 2020). Essa bactéria é responsável, principalmente, por pneumonias, especialmente associadas à ventilação mecânica (*Proportional Assist Ventilation* - PAV), e infecções de corrente sanguínea associadas a cateter. Outros fatores de risco para colonização/infecção incluem o uso de terapias antimicrobianas de amplo espectro, procedimentos invasivos, longa permanência no hospital, neutropenia e doença respiratória prévia (ADEGOKE, STENSTRÖM, OKOH, 2017; BROOKE, 2012; FRASER et al., 2019).

S. maltophilia também pode desencadear, em menor escala, sinusites, endoftalmites, conjuntivites, endocardites, meningites, infecções urinárias, articulares, intra-abdominais, ósseas, de tecidos moles e de pele (EBRAHIM-SARAIE et al., 2019; HAMDI et al., 2020; PETERS et al., 2015).

No caso de infecções do trato respiratório inferior, *S. maltophilia* é responsável por hemorragias pulmonares, necrose focal pulmonar e, em menor quantidade, por derrames pleurais e cavitações (GAJDÁCS & URBÁN, 2019). Em imunocomprometidos, está relacionada a quadros de hemorragias pulmonares fatais (MOLLOY et al., 2020), além de se destacar como patógeno respiratório em pacientes FC, com prevalência variada entre os centros de referência no tratamento da doença, podendo chegar a 30% (FROST et al., 2018; VIDIGAL et al., 2014).

***Stenotrophomonas maltophilia* e a fibrose cística**

A fibrose cística

A fibrose cística (também conhecida como mucoviscidose), foi descrita por Dorothy H. Anderson, em 1938. É uma doença de origem genética, autossômica e recessiva causada por uma mutação no braço longo do cromossomo 7, *locus* q 31 e éxon 102. Este gene é responsável pela codificação de uma proteína de mesmo nome (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* - CFTR), que funciona como canal de cloro, bicarbonato e outros íons nas células de diversos órgãos e tecidos do corpo, como pulmões, dutos de suor e trato gastrointestinal (BROWN, WHITE, TOBIN, 2017; FIRMIDA, MARQUES, COSTA, 2011; GIANOTTI et al., 2020; JUSTICIA et al., 2015; SCOTET, HOSTIS, FÉREC, 2020).

Nas células epiteliais dos pulmões, a impermeabilidade da membrana apical ao cloro promove o acúmulo deste íon no meio intracelular, já que ele fica impossibilitado de sair da célula, o que prejudica a hidratação da superfície celular e promove desequilíbrio homeostático, pois estimula a entrada de sal e água na célula. Como consequência, há obstrução das vias aéreas em função do acúmulo de muco espesso, que dificulta o movimento ciliar das células e facilita o estabelecimento de microrganismos patogênicos. Com isso, os pacientes podem desenvolver pneumonias, que tendem a se tornarem crônicas (FIRMIDA, MARQUES, COSTA, 2011; GIANOTTI et al., 2020).

As infecções na FC que levam ao comprometimento pulmonar são a principal causa das altas taxas de morbi-mortalidade desses pacientes, já que há progressiva perda da capacidade pulmonar (cerca de 90% dos óbitos estão relacionados a insuficiência respiratória) (BROWN, WHITE, TOBIN, 2017; FRASER et al., 2019; MCDANIEL, SCHOEB, SWORDS, 2020). Os episódios de exacerbação do quadro respiratório também estão associados a essas taxas, e a durabilidade inadequada da antibioticoterapia intravenosa pode estar relacionada a novas exacerbações (HELTSHE et al., 2018; JUSTICIA et al., 2015; SANDERS et al., 2017; VANDEVANTER et al., 2017; WEST et al., 2017).

Bactérias na fibrose cística

As infecções crônicas do trato respiratório são causadas, especialmente, por bacilos Gram-negativos não fermentadores, um grupo ambiental que não costuma causar infecção em indivíduos sem fibrose cística, sugerindo que pacientes com FC possuem um ambiente pulmonar propício para microrganismos oportunistas (GALLAGHER et al., 2019; MARQUES, 2011).

Entre os microrganismos mais comumente encontrados nessas infecções, estão bactérias do Complexo *Burkholderia cepacia* (CBc), *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Staphylococcus aureus*. Porém, outros microrganismos, como *S. maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, micobactérias não tuberculosas e fungos também tem sido relatados e vem ganhando notoriedade (BROWN, WHITE, TOBIN, 2017; FRASER et al., 2019).

Stenotrophomonas maltophilia na fibrose cística

S. maltophilia é a espécie do gênero que conhecidamente causa infecções em humanos, e as infecções por esse microrganismo ocorrem, sobretudo, no ambiente hospitalar (SAID, TIRTHANI, LESHIO, 2021). Foi isolada na FC, pela primeira vez, na Dinamarca, no ano de 1975, a partir de amostra do trato respiratório (FREDERIKSEN, 1975 apud DENTON & KERR, 1998). Desde então, a prevalência deste microrganismo na FC tem crescido, infectando de 10% a 18% dos pacientes (BRAGA et al., 2020).

Apesar do aumento da expectativa de vida dos pacientes com FC, o número de infecções por bactérias multirresistentes vem se elevando, sendo *S. maltophilia* uma das espécies mais comuns neste cenário (AMIN & WATERS, 2016; BRAGA et al., 2020; MCDANIEL, SCHOEB, SWORDS, 2020).

S. maltophilia desencadeia danos teciduais através da produção e liberação de proteases, além de ser capaz de prejudicar a ação do sistema imunológico degradando algumas de suas proteínas. O dano tecidual, além de facilitar o crescimento bacteriano na FC, pode promover a ocorrência de micro-hemorragias e hemorragias maiores em indivíduos com imunocomprometimento (MOLLOY et al., 2020). Nos pacientes FC, infecções crônicas por *S. maltophilia* podem implicar em necessidade de transplante pulmonar e três vezes mais risco de

morte (WATERS et al., 2013).

Tratamento das infecções por *Stenotrophomonas maltophilia*

O tratamento de infecções causadas por este agente é dificultado pela ampla resistência intrínseca e adquirida à maioria das classes de antimicrobianos. Os mecanismos envolvidos na resistência são variados e ainda pouco conhecidos no Brasil. A partir de 1980, houve aumento no número de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) por *S. maltophilia*, especialmente devido a um melhor tratamento de pacientes imunocomprometidos e ao avanço no desenvolvimento de procedimentos cirúrgicos, o que favorece as chances de sobrevivência de grupos de risco. (ÇALIŞKAN et al., 2019; GAJDÁCS & URBÁN, 2019).

S. maltophilia é considerado um dos principais microrganismos multirresistentes no ambiente hospitalar, ocupando o terceiro lugar no *ranking* de BGNNFs nestas infecções (os dois primeiros lugares pertencem a *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.) (SAID, TIRTHANI, LESHIO, 2021).

Dentre as IRAS, aquelas causadas por *S. maltophilia* estão associadas a um alto índice de mortalidade nos quadros de pneumonia (25% a 75%) e de bacteremia (20% a 60%), porém a incorporação de terapias direcionadas pode ampliar as chances de sobrevivência dos pacientes (ÇALIŞKAN et al., 2019; GAJDÁCS & URBÁN, 2019).

Atualmente, o antimicrobiano de escolha para o tratamento de infecções por *S. maltophilia* é o trimetoprima/sulfametoxazol (SXT), ainda que a resistência a este agente tenha sido descrita em diversas regiões do mundo. Quando há algum fator que impeça a prescrição de SXT, as fluoroquinolonas (principalmente levofloxacina - LEV), tetraciclina (como minociclina - MIN) e a cefalosporina ceftazidima (CAZ) podem ser consideradas opções terapêuticas para o manejo das infecções por *S. maltophilia*, porém o aumento das taxas de resistência também tem sido fator de preocupação (LIN et al., 2021; RHOADS, 2021).

Stenotrophomonas maltophilia: resistência a antimicrobianos

Devido a característica de resistência a múltiplos antimicrobianos (MDR) de *S.*

maltophilia, que inclui a resistência a um amplo espectro de fármacos, como à maioria dos cloranfenicóis, beta-lactâmicos, polimixinas, tetraciclina, cefalosporinas, macrolídeos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e carbapenêmicos, há poucos antimicrobianos disponíveis para tratar as infecções causadas por esse microrganismo (BRAGA et al., 2020; CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; EBRAHIM-SARAIE et al., 2019).

A resistência observada em *S. maltophilia* pode ser de caráter intrínseco, como a baixa permeabilidade de membrana, a presença de bombas de efluxo de múltipla ação e as enzimas beta-lactamases (BROOKE, 2014; SÁNCHEZ, HERNÁNDEZ, MARTÍNEZ, 2009; WANG et al., 2018) ou de caráter adquirido, através de mutações e por transferência horizontal de genes (por ilhas genômicas, plasmídeos, transposons e integrons) (EBRAHIM-SARAIE et al., 2019; WANG et al., 2018).

Resistência de *S. maltophilia* a trimetoprima/sulfametoxazol

A resistência ao SXT tem aumentado ao longo dos anos, e os percentuais mais elevados (16-78,8%) foram relatados em diversos países, incluindo Taiwan, Japão, Tailândia, Coreia, Espanha, México, Arábia Saudita, Turquia e Canadá (CHANG et al., 2015).

A resistência a esse fármaco está relacionada aos genes dihidropteroato sintase (*sulI* e *sul2*) e dihidrofolato redutase (*dhfrA*), que conferem resistência ao sulfametoxazol e a trimetoprima, respectivamente, sendo a aquisição e expressão de genes *sul*, o principal desses mecanismos (CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; HU et al., 2011; TOLEMAN et al., 2007).

Até o momento, os genes *sulI* e *sul2* foram descritos em amostras de *S. maltophilia*, estando relacionados a elevados valores de CIM para SXT, sendo o primeiro observado com mais frequência do que o segundo. O gene *sulI* geralmente está localizado em integrons de classe 1 e associado a sequências de inserção (*Insertion Sequence Common Region* - ISCR), sendo, portanto, facilmente transferido intra e interespecie através de plasmídeos. Já o gene *sul2* geralmente está localizado em plasmídeos, porém já foi encontrado no cromossomo bacteriano (CHUNG et al., 2015; EBRAHIM-SARAIE et al., 2019; TOLEMAN et al., 2007).

Além disso, a presença de genes que conferem resistência a compostos de amônio quaternário (inseridos em integrons de classe 1), também foram relacionados à resistência à SXT, portanto, a utilização de desinfetantes com amônio quaternário pode favorecer a seleção de cepas resistentes (CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; KAUR, GAUTAM, TEWARI, 2015).

Resistência de *S. maltophilia* à levofloxacin, minociclina e ceftazidima

As fluoroquinolonas possuem atividade contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, sendo muito utilizadas em infecções respiratórias (JACKSON & SCHUTZE, 2016). A fluoroquinolona mais utilizada é a LEV, porém há descrição de crescente resistência a este fármaco (BIAGI et al., 2020). A exposição prévia a uma variedade de classes de antimicrobianos, a permanência na UTI e administração de quinolonas estão associados à ocorrência de isolados de *S. maltophilia* resistentes a LEV (WANG et al., 2020).

A resistência intrínseca e adquirida às fluoroquinolonas é determinada por uma associação de mecanismos, como as alterações na permeabilidade da membrana, a expressão de sistemas de efluxo e mutações no sítio alvo das fluoroquinolonas (JIA et al., 2015). Dentre eles, os sistemas de efluxo se destacam como mecanismo mais importante em função da superexpressão das bombas de efluxo *SmeDEF*, que ocorre devido a mutações no gene regulador *smeT*, e é responsável pela resistência intrínseca e adquirida aos macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclina e fluoroquinolonas (GARCÍA-LEÓN et al., 2014; SÁNCHEZ & MARTÍNEZ, 2015). Recentemente, a superexpressão de *SmeVWX* foi associada a elevadas taxas de resistência a fluoroquinolonas (GARCÍA-LEÓN, 2014).

Os genes plasmidiais *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* e *qnrS*) já foram identificados em *S. maltophilia*. Inclusive, a segunda descrição do mundo de *qnrB* e *qnrS* foram feitas no Brasil (FURLAN et al., 2019). Quando expressos, representam um dos mecanismos de resistência adquirida às fluoroquinolonas, sendo responsável por impedir a ação desta classe de fármacos sobre as topoisomerases II e IV (EBRAHIM-SARAIE et al., 2019; GORDON & WAREHAM, 2010; STRAHILEVITZ et al., 2009).

As mutações nas topoisomerases II (*GyrA* e *GyrB*) e IV (*ParC* e *ParE*) também são determinantes de resistência adquirida e, assim como os genes *qnr*, são frequentes em bactérias Gram-negativas, porém esse mecanismo em amostras de *S. maltophilia* ainda não foi totalmente elucidado (CHANG et al., 2015; JIA et al., 2015; VALDEZATE et al., 2002).

S. maltophilia tem se mostrado sensível a MIN de maneira semelhante ao SXT nos testes *in vitro*. Mesmo diante de tais resultados, MIN dificilmente é prescrita para tratamento de infecções por *S. maltophilia* devido a falta de realização de testes comerciais de sensibilidade para este fármaco nos laboratórios de diagnóstico e da comprovação de sua eficácia nessas infecções (BIAGI et al., 2020; CRUZ-CÓRDOVA et al., 2020; RHOADS, 2021).

A ceftazidima é uma cefalosporina de terceira geração com potencial de inibir o crescimento de *S. maltophilia*, apesar da conhecida resistência intrínseca desse microrganismo a maioria dos beta-lactâmicos. A resistência a esse fármaco ocorre em função de sua hidrólise por uma MBL LI e da atividade da cefalosporinase L2, presentes nesse microrganismo. Porém, um estudo chinês indica que é possível que a combinação de CAZ com fármacos inibidores de beta-lactamases tenha eficácia contra cepas resistentes na monoterapia em infecções por *S. maltophilia* (LIN et al., 2021).

Resistência de *S. maltophilia* aos carbapenêmicos

Os carbapenêmicos são beta-lactâmicos de baixa toxicidade e amplo espectro, os mais utilizados contra bactérias Gram-negativas. Devido às suas características, a classe foi considerada de última linha para tratar infecções por Gram-negativos MDR (EL-GAMAL et al., 2017; PAPP-WALLACE et al., 2011; SSEKATAWA et al., 2018; ZHANEL et al., 2007).

As cefalosporinas eram amplamente utilizadas nas unidades críticas, até que a disseminação de beta-lactamases se intensificou, impedindo o uso clínico da maioria desses antimicrobianos. Com isso, houve a necessidade de desenvolver uma nova droga, surgindo a tienamicina como alternativa terapêutica. Hoje, imipenem, doripenem, meropenem e ertapenem estão entre os principais carbapenêmicos disponíveis (EL-GAMAL et al., 2017; PAPP-WALLACE et al., 2011).

O imipenem foi o primeiro fármaco em que a resistência à classe dos carbapenêmicos foi observada, em 1980, através de uma cepa de *P. aeruginosa* (DOI, 2019). Atualmente, outros microrganismos apresentaram resistência à classe, como enterobactérias produtoras de carbapenemases (EPC), *Acinetobacter* spp. e *Stenotrophomonas* spp., sendo maior nos BGNNFs (acima de 60%) do que nas enterobactérias (inferior a 10%) (NORDMANN & POIREL, 2019; PAPP-WALLACE et al., 2011; THEURETZBACHER et al., 2020).

A resistência aos carbapenêmicos se dá por diversos mecanismos, sendo o principal deles, a capacidade de produzir carbapenemases (enzimas beta-lactamases que hidrolisam o anel beta-lactâmico dos fármacos dessa classe). Outros mecanismos incluem: bombas de efluxo, transferência de elementos genéticos móveis (como plasmídeos contendo carbapenemases), proteínas ligadoras de penicilina (*Penicillin-Binding Protein* - PBP) e porinas com expressão

ou função modificadas (BRINK, 2019; MILLER & HUMPHRIES, 2016; NORDMANN & POIREL, 2019; PAPP-WALLACE et al., 2011; TAMMA & HSU, 2019).

As enzimas beta-lactamases foram categorizadas por *Ambler* em quatro grupos, de acordo com sua atividade catalítica, similaridades estruturais e substrato de preferência. As carbapenemases fazem parte das classes A (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase – KPC, por exemplo), B (como, *New Delhi Metallo-beta-lactamase* - NDM) e D, que incluem as oxacilinas, como *oxacillinase* 48 - OXA-48, responsável pela hidrólise de imipenem. Já a classe C inclui a ampicilina-cefalosporinase cromossômica (*AmpC*), que hidrolisa cefalosporinas (principalmente). Com exceção da *AmpC*, as demais são metalobetalactamases (MBLs) e possuem atividade carbapenemase.

As MBLs possuem zinco no sítio catalítico ativo, enquanto as demais classes possuem serina no sítio ativo. A MBL NDM está presente em diversas espécies Gram-negativas. A classe C, embora não contenha atividade carbapenemase, pode atrapalhar a permeabilidade aos carbapenêmicos (NORDMANN & POIREL, 2019; PAPP-WALLACE et al., 2011; SSEKATAWA et al., 2018).

Do ponto de vista epidemiológico, as carbapenemases do tipo KPC, NDM e OXA-48 são as de maior importância, pois se encontram disseminadas em diversos continentes. A KPC tem

despontado como a carbapenemase mais prevalente em várias partes do mundo, inclusive no Brasil (ANVISA, 2021; NORDMANN, CUZON, NAAS, 2009; SAMPAIO & GALES, 2016).

A NDM é menos frequente, entretanto no Brasil, após o primeiro relato em 2013, em *Providencia rettgeri* (CARVALHO-ASSEF et al., 2013) tem sido descrita em diferentes espécies de enterobactérias (CARVALHO-ASSEF et al., 2014; ROZALES et al., 2014). O primeiro relato de NDM em *S. maltophilia* foi descrito em uma amostra obtida de solo, reforçando o possível papel desse microrganismo como um reservatório ambiental de genes de resistência (FURLAN, PITONDO-SILVA, STEHLING, 2018).

Embora seja conhecida a resistência intrínseca aos carbapenêmicos em *S. maltophilia*, a pesquisa de genes de resistência para esse grupo de antimicrobianos poderia contribuir para o reconhecimento dessa espécie como reservatório de genes difundidos no Brasil, especialmente de genes codificadores de beta-lactamases, que podem ser transmitidos, gerando resistência em outros microrganismos (NORDMANN & POIREL, 2019; RODRIGUES, GIOIA, ROSSI, 2011).

A resistência intrínseca aos carbapenêmicos em *S. maltophilia* se deve à indução de L1

e L2 (DOI, 2019; HAN et al., 2020; NORDMANN & POIREL, 2019; TAMMA & HSU, 2019). Já a resistência aos beta-lactâmicos em *S. maltophilia* tem relação com diversos mecanismos, como ação de enzimas, efluxo de drogas e impermeabilidade da membrana externa aos beta-lactâmicos (uma porcentagem menor do que 5% desta classe é capaz de penetrar na célula) (ALMEIDA et al., 2005).

De origem cromossômica, as beta-lactamases L1 e L2 são expressas quando a bactéria é exposta aos beta-lactâmicos, impedindo a ação dos mesmos. L1 é uma MBL que necessita de zinco como cofator e age, principalmente, como uma carbapenemase. É resistente aos inibidores de beta-lactamases e capaz de hidrolisar beta-lactâmicos (exceto o monobactâmico aztreonam). L2, por sua vez, é uma serino-beta-lactamase que possui serina no sítio ativo e tem atividade cefalosporinase, hidrolisando monobactams. É sensível aos inibidores de beta-lactamases, como avibactam e ácido clavulânico (ALMEIDA et al., 2005; LIN et al., 2021; RODRIGUES, GIOIA, ROSSI, 2011).

Em um estudo chinês, a combinação de aztreonam com avibactam pôde inibir o crescimento de quase 90% de amostras resistentes ao aztreonam, enquanto a combinação ceftazidima-avibactam, que era considerada ineficaz contra isolados de *S. maltophilia*, demonstrou atividade inibitória contra metade das amostras resistentes na monoterapia com CAZ (LIN et al., 2021).

O uso da tigeciclina, apesar de confiável e eficaz no tratamento de *A. baumannii*, *S. maltophilia* e diversas enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CREs) nos testes *in vitro*, é limitado devido a diversos fatores, como a ausência de fórmula oral e toxicidade gastrointestinal (BIAGI et al., 2020; DOI, 2019)

O desenvolvimento de novos fármacos que sejam capazes de combater os microrganismos resistentes é importante para que mais opções terapêuticas viáveis estejam disponíveis, promovendo a redução das taxas de mortalidade associadas à baixa sensibilidade. Novos medicamentos têm sido descritos como possíveis substitutos para os carbapenêmicos nos casos de microrganismos resistentes, entre eles ceftazidima-avibactam, aztreonam-avibactam, aztreonam-ceftazidima-avibactam, meropenem-vaborbactam, plazomicina, cefiderocol, imipenem-cilastatina-relebactam, eravacilina e ceftolozano-tazobactam (CORCIONE et al., 2019; DOI, 2019; RHOADS, 2021; TAMMA & HSU, 2019).

Stenotrophomonas maltophilia na era COVID-19

Responsável pela pandemia decretada no ano de 2020, a COVID-19 é uma doença descrita pela primeira vez na cidade de Wuhan, na China, em dezembro de 2019. É causada por um RNA vírus de fita simples senso positivo intitulado SARS-CoV-2, pertencente à ordem *Nidovirales* e à família *Coronaviridae* (MOHAMADIAN et al., 2021).

A transmissão ocorre por meio de tosse, espirro, e contato com objetos ou pessoas contaminadas (PIMENTEL et al., 2020). A maioria dos infectados não desenvolve a forma grave da doença, apresentando os sintomas mais comuns, como febre, tosse seca e cansaço, não necessitando de hospitalização. Outros sintomas associados são perda de olfato e paladar, calafrios, dores no corpo, congestão nasal, cefaleia, desregulação gastrointestinal, taquicardia, dor no peito, entre outros (SOUSA et al., 2020).

Em contrapartida, a forma agravada pode culminar em internação em UTI com necessidade de ventilação mecânica. Os casos mais graves são associados a um índice maior de mortalidade e são observados mais frequentemente em idosos ou em indivíduos que apresentam comorbidades (como diabetes e hipertensão) (LANSBURY et al., 2020).

Estima-se que 15,5% dos pacientes internados em função da COVID-19 desenvolvem infecções bacterianas. A utilização de dispositivos invasivos, ventilação mecânica e uso excessivo de antimicrobianos, sobretudo de amplo espectro, aumentam as chances de infecções por bactérias Gram-negativas MDR, já que a antibioticoterapia é realizada de maneira empírica na maioria desses pacientes (BAIOU et al., 2021; LANSBURY et al., 2020; ZHANG et al., 2020).

Foram observadas coinfeções respiratórias pelo novo coronavírus e outras bactérias, tais como *Mycoplasma pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *S. maltophilia* e *K. pneumoniae* (LANSBURY et al., 2020; OFSTEAD et al., 2020). Esse tipo de coinfeção pode aumentar as taxas de morbi-mortalidade, principalmente em idosos (WU, ADHI, HIGHLAND, 2020). Segundo uma pesquisa do Catar, *S. maltophilia* foi o Gram-negativo MDR mais encontrado nos casos de COVID-19, seguidos por *Klebsiella pneumoniae* (BAIOU et al., 2021). *S. maltophilia* se destaca devido aos diversos fatores de risco, comuns em casos graves de COVID-19, que favorecem sua ocorrência, como internação a longo prazo, ventilação mecânica e utilização de cateteres (PEK, CABANILLA, AHMED, 2021).

Justificativa

Devido à ampla resistência intrínseca e adquirida de *S. maltophilia* à maioria das classes de antimicrobianos, e a escassez de trabalhos clínicos que demonstrem a eficácia de outros agentes, o tratamento de infecções por esse microrganismo pode representar um desafio, sobretudo quando há resistência aos fármacos de escolha.

Em função da ocorrência desse tipo de resistência ao redor do mundo, e da possibilidade de declínio da sensibilidade a esses medicamentos em amostras provenientes de pacientes atendidos em unidades brasileiras, a investigação temporal, incluindo o período pandêmico da SARS-CoV-2, dos perfis de sensibilidade aos antimicrobianos e da presença de genes de resistência, se faz necessária uma vez que *S. maltophilia* poderia se comportar como reservatório de genes, podendo ser transferidos a outros microrganismos.

1 OBJETIVOS

1.1 Geral

Avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e mecanismos moleculares associados a resistência a trimetoprima/sulfametoxazol e carbapenêmicos.

1.2 Específicos

- a) Determinar, entre as amostras em estudo, o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos mais comumente utilizados no tratamento das infecções por *S. maltophilia*;
- b) Analisar temporalmente a ocorrência e distribuição dos perfis de sensibilidade aos antimicrobianos nos diferentes grupos de pacientes;
- c) Investigar a presença do gene *sulI*, associado à resistência a trimetoprima/sulfametoxazol;
- d) Investigar a presença dos principais genes codificadores de enzimas com ação de carbapenemases;
- e) Analisar amostras provenientes de coinfeção por *S.maltophilia* e SARS-CoV-2.

2 METODOLOGIA

2.1 Seleção das amostras

Foram selecionadas 155 amostras de *S. maltophilia*, amostragem por conveniência, estocadas e catalogadas no Laboratório de Microbiologia da Fibrose Cística - LabMiFC da Disciplina de Microbiologia e Imunologia (DIMI) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Essas amostras foram previamente isoladas e identificadas fenotipicamente no Laboratório de Bacteriologia (LABACT) do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) durante o período de janeiro de 2010 a abril de 2021 (136 meses).

As amostras incluídas no estudo foram obtidas de espécimes clínicos variados de pacientes sem fibrose cística (NFC) e pacientes com fibrose cística (FC). Os pacientes com FC foram atendidos no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira da Fundação Oswaldo Cruz (IFF-FIOCRUZ) e no Departamento de Doenças do Tórax, setor Pneumologia/Policlínica Piquet Carneiro (PPC/UERJ), dois centros de referência no Rio de Janeiro, responsáveis pelo acompanhamento dos pacientes pediátricos e adultos, respectivamente. Os pacientes NFC, tanto adultos quanto pediátricos, foram atendidos no HUPE-UERJ.

2.2 Critérios de seleção das amostras

Para que uma amostra fosse incluída no estudo, ela deveria respeitar o período estipulado (janeiro de 2010 a abril de 2021) e a identificação feita pelo LABACT. Logo, fatores como: o número de amostras por paciente, espécime clínico, sexo, idade e a quantidade de pacientes FC em relação ao número de pacientes NFC não foram fatores essenciais para a seleção.

As 155 amostras, de pacientes adultos (97 amostras de 88 pacientes) e pediátricos (58 amostras de 38 pacientes) foram incluídas no estudo a fim de gerar informações sobre: o perfil

de sensibilidade aos antimicrobianos, os mecanismos genéticos associados à resistência ao SXT e aos carbapenêmicos.

2.3 Reativação das amostras e caracterização fenotípica

As amostras, armazenadas em tubos de 2 mL contendo meio *Skim Milk* a 10% (DIFCO, Hants, Inglaterra) acrescentado de glicerol a 10%, foram retiradas do *freezer* de estoque bacteriano, onde eram mantidas a -20°C . Essas amostras foram semeadas em tubos contendo Caldo Infuso de Cérebro e Coração - *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) (Becton Dickinson/BD®, Heidelberg, Alemanha) e mantidos em aerobiose por um período de 18 - 24 horas, na temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$. As amostras, então, foram semeadas em placas com ágar *Cystine Lactose Electrolyte Deficient* – CLED (BD®, Heidelberg, Alemanha) por esgotamento e incubadas por 18 - 24h em estufa a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Uma colônia pura foi selecionada e semeada por enriquecimento em *Columbia Agar Base* (CAB) (BD®, Heidelberg, Alemanha). As placas de CAB foram incubadas por 18 - 24 horas, a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, para que fosse realizada a confirmação da identificação através de testes fenotípicos.

2.3.1 Identificação fenotípica

Os testes realizados para confirmação da identificação de *S. maltophilia* foram: avaliação do metabolismo oxidativo da glicose, descarboxilação da lisina e produção de DNase (OPLUSTIL et al., 2010).

2.3.1.1 Base de oxidação/fermentação

O teste bioquímico com a base de Oxidação/Fermentação (OF) acrescida de glicose a 1% (BD®, Heidelberg, Alemanha), em tubos com e sem óleo mineral, foi realizado com o objetivo de verificar o metabolismo da *S. maltophilia* em relação à utilização da glicose e suas

vias de consumo. Através de alça bacteriológica estéril, os tubos foram inoculados de 3 a 5 vezes numa profundidade de 2/3 do meio e incubados por 24 - 48h, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, em aerobiose e, após esse período, a leitura das provas foi realizada.

Microrganismos eram considerados fermentadores ao utilizarem a glicose nos tubos com e sem óleo mineral. Em contrapartida, aqueles que não utilizaram a glicose em nenhum dos dois tubos foram considerados assacarolíticos. Bactérias de metabolismo oxidativo utilizaram a glicose apenas no tubo sem óleo mineral. Amostras que apresentaram metabolismo fermentador foram excluídos do estudo, já que *S. maltophilia* apresenta comportamento oxidativo ou assacarolítico (OPLUSTIL et al., 2010).

Como controle, foram utilizadas cepas de *Escherichia coli* ATCC® 25922, que possui metabolismo fermentativo, *P. aeruginosa* ATCC® 27853, de metabolismo oxidativo e *S. maltophilia* ATCC® 13637, de metabolismo assacarolítico.

2.3.1.2 Descarboxilação do aminoácido lisina

Para o teste de utilização do aminoácido lisina, foram utilizados tubos com base *Moeller* de descarboxilação (BD®, Heidelberg, Alemanha) com o acréscimo de lisina de modo a obter uma concentração de 1%, e um tubo sem o aminoácido, a fim de verificar se ocorria a acidificação do meio para a síntese da descarboxilase. Os tubos com e sem o aminoácido foram inoculados com o auxílio de alça bacteriológica e incubados em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, em aerobiose, por 24 a 48 horas, quando foi realizada a leitura das provas. As amostras com microrganismos que descarboxilaram a lisina apresentaram coloração diferenciada em relação ao controle no momento da leitura e foram mantidas no estudo, já que *S. maltophilia* utiliza esse aminoácido (OPLUSTIL et al., 2010).

Escherichia coli ATCC® 25922 e *P. aeruginosa* ATCC® 27853 foram utilizadas como controle negativo e *S. maltophilia* ATCC® 13637 foi o controle positivo.

2.3.1.3 Produção de DNase

Foi realizada a semeadura de culturas recentes formando-se pequenos círculos com massa bacteriana (*spots*), com o auxílio de alça bacteriológica, em placas contendo ágar DNase

(BD[®], Heidelberg, Alemanha). As amostras foram incubadas em estufa por 72h, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em ar ambiente. Em seguida, a leitura da prova foi realizada 3 minutos após a adição de ácido clorídrico (HCl) 1N sobre as placas, até que todo o crescimento bacteriano estivesse submerso. Os microrganismos produtores de DNase foram revelados através da formação de halos transparentes no entorno dos "spots".

O controle positivo da produção de DNase foi feito com *S. aureus* ATCC[®] 25923. Já para o controle negativo, foi utilizado *E. coli* ATCC[®] 25922.

2.4 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA)

2.4.1 Teste de disco-difusão

O teste de sensibilidade por disco-difusão (DD) foi realizado conforme as recomendações estabelecidas pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI a e b, 2019), que preconiza a utilização de discos impregnados com os antimicrobianos: SXT 1,25/23,75 µg, LEV 5 µg e MIN 30 µg (Becton, Dickinson and Company, BD, Sparks, Estados Unidos), e como controle, as cepas padrão: *E. coli* ATCC[®] 25922 e *P. aeruginosa* ATCC[®] 27853.

Para a realização do teste, de três a cinco colônias puras de culturas de até 24h foram selecionadas, com o auxílio de alça descartável, e inoculadas em tubos contendo salina, até que a turvação da suspensão alcançasse o equivalente ao padrão 0,5 da escala de *McFarland*. Na etapa seguinte, *swabs* descartáveis estéreis foram utilizados para coletar as amostras nos tubos e semeá-las em três diferentes direções, nas placas de ágar *Mueller Hinton* (BD[®], Heidelberg, Alemanha) sem suplementação. Os discos com os antimicrobianos SXT, LEV e MIN foram, então, levemente pressionados sobre a superfície do meio com uma pinça. As placas foram deixadas na estufa pelo período de 20 - 24 horas, na temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$, em aerobiose. Tendo passado o período estipulado, os halos foram observados e seus diâmetros foram medidos através de um paquímetro. A leitura do teste foi feita a partir dos parâmetros estabelecidos pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI a e b, 2019) de acordo com o quadro 1.

Quadro 1 - Critérios de interpretação para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco-difusão

Antimicrobiano	Concentração do disco	Critérios de Interpretação para o diâmetro dos halos (mm)		
		S	I	R
SXT	1,25/23,75 µg	≥16	11-15	≤10
LEV	5 µg	≥17	14-16	≤13
MIN	30 µg	≥19	15-18	≤14

Legenda: S: sensível; I: intermediário; R: resistente; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; LEV: levofloxacina; MIN: minociclina.

Fonte: CLSI a e b, 2019.

2.4.2 Método de fita gradiente

Foram realizados testes com fitas contendo gradientes de concentração de antimicrobianos da marca Etest® (AB Biodisk, Solna, Suécia), com a finalidade de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de cada amostra. Os antimicrobianos utilizados e suas respectivas concentrações foram: SXT, LEV, CAZ e MIN. Os controles foram as cepas padrão: *E. coli* ATCC® 25922 e *P. aeruginosa* ATCC® 27853.

Amostras com crescimento bacteriano puro e recente (24 horas, no máximo), foram inoculadas com alça descartável em tubos com salina, na turvação 0,5 da escala de *McFarland*. Imediatamente após a escala ser alcançada, as amostras foram semeadas em ágar *Mueller Hinton* (BD®, Heidelberg, Alemanha) com *swab* estéril e, posteriormente, as fitas gradientes foram adicionadas ao meio, com o auxílio de uma pinça, e cuidadosamente pressionadas contra a superfície do mesmo. As placas foram incubadas em estufa por, 20 - 24h, na temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$, em aerobiose. Após esse período, as elipses formadas ao redor das fitas impregnadas pelos antimicrobianos foram medidas, com auxílio de um paquímetro, e interpretadas conforme as recomendações do *Clinical Laboratory Standarts Institute* (CLSI a e c, 2019).

Quadro 2 - Critérios de interpretação para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de fita gradiente

Antimicrobiano	Critérios de interpretação da CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
	S	I	R
SXT	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$
LEV	≤ 2	4	≥ 8
MIN	≤ 4	8	≥ 16
CAZ	≤ 8	16	≥ 32

Legenda: CIM: concentração inibitória mínima; S: sensível; I: intermediário; R: resistente; (-) - não se aplica; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; LEV: levofloxacina; MIN: minociclina; CAZ: ceftazidima.

Fonte: CLSI a e c, 2019.

2.5 Reação em Cadeia da Polimerase

2.5.1 Detecção dos genes codificadores de carbapenemases e do gene *sulI*

Foram realizadas reações em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção dos genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}* e para o gene *sulI* (MONTEIRO *et al.*, 2012).

2.5.1.1 Obtenção do DNA

A obtenção do DNA ocorreu a partir de culturas puras oriundas de crescimento recente. Para isso, as amostras de *S. maltophilia* foram semeadas em ágar *Mueller Hinton* (BD[®], Heidelberg, Alemanha) e incubadas em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por, aproximadamente, 24h. Após esse período, colônias foram selecionadas e, com o auxílio de alça bacteriológica, inoculadas em tubos estéreis do tipo *Eppendorf*, contendo 500 μL de Água Nuclease Free estéril (Invitrogen[®], Grand Island, Estados Unidos). Em seguida, os tubos foram agitados por 10

segundos em vórtex (Daigger®, New Jersey, Estados Unidos), para obtenção de uma suspensão homogênea. As amostras foram, então, colocadas em sonicador (Cristófoli®, Paraná, Brasil), onde foram realizados 3 ciclos de 30 segundos, homogeneizando os tubos com as amostras a cada ciclo. Após passar pela etapa de sonicação, as amostras foram centrifugadas (Biofuge Fresco Heraeus®, Druckerei, Alemanha) a 13.000 rotações por minuto (rpm) por 3 minutos. 200 µL do sobrenadante com o DNA extraído foi armazenado em tubos tipo *eppendorf*.

2.5.1.2 Preparo da mistura da reação

A reação para os genes codificadores de carbapenemases foi realizada a partir da mistura de 7,5 µL de água nuclease *free* estéril (Invitrogen®), 0,5 µL de cada iniciador (6 iniciadores, 3 *forward* e 3 *reverse*) a 20 pmol e 12,5 µL de *GoTaq® Green Master Mix* (Promega Corporation, USA), que contém: solução pronta de DNA *Taq* polimerase, desoxinucleotídeo trifosfatado – dNTP, cloreto de magnésio (MgCl₂), tampões para PCR com pH de 8.5 (Promega Corporation, USA) e corantes azul e amarelo. 23 µL dessa mistura foram aliquotadas em microtubos e 2 µL do DNA extraído foram adicionados, totalizando 25 µL de reação, conforme Monteiro e colaboradores (2012), com adaptações.

A reação para o gene *sulI* foi desenvolvida a partir de 1,5 µL de cada iniciador (2 iniciadores, 1 *forward* e 1 *reverse*) a 20 pmol e 1 µL de DNA, adicionados a um mix para PCR de 24 µL composto por 0,5 µL (1U) de Platinum *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, Carisbad, EUA), 2 µL (250 µM) de cada dNTP (Invitrogen, Carisbad, EUA), 0,75 µL (50mM) de MgCl₂ (Invitrogen, Carisbad, EUA), 5 µL de tampão 10X para PCR (Invitrogen, Carisbad, EUA), adaptado de Toleman e colaboradores (2007).

2.5.1.3 Amplificação dos genes codificadores das carbapenemases

Os tubos com a reação seguiram imediatamente para amplificação em termociclador (GeneAmp PCR System 9700 – Applied Biosystems®). Os iniciadores *Forward* e *Reverse* utilizados para a amplificação dos genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}* estão dispostos no quadro 3, conforme as recomendações de Monteiro e colaboradores (2012).

As cepas controles positivos utilizadas foram: CCBH 6556, CCBH 16303 e CCBH 10079 para os genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}*, respectivamente. Essas cepas foram advindas da Coleção de Culturas de Bactérias de Origem Hospitalar (CCBH) do Laboratório de Infecção Hospitalar (LAPIH) do Instituto Oswaldo Cruz e gentilmente cedidas pela Dra. Ana Paula D’Alincourt Carvalho-Assef.

Quadro 3 – Condições metodológicas para detecção de genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}* por meio de PCR *multiplex*

Gene alvo	Iniciadores	Tamanho do fragmento (pb)	Condições de amplificação	Referências
<i>bla_{KPC}</i>	5'- TCGCTAACTCGAAACAGG 3'-TTACTGCCCCGTTGACGCCAATCC	785	1 ciclo: 94 °C - 5 min 30 ciclos: 94 °C - 0,45 s 60 °C - 0,45 s 72 °C - 0,45 s 1 ciclo: 72 °C - 5 min	Monteiro <i>et al.</i> , 2012
<i>bla_{NDM}</i>	5' – CGAAGCTGAGCACCGCATTA 3' – ATCTTGCCCTGATGCGCGTG	345		
<i>bla_{OXA-48}</i>	5' - TGTTTTTGGTGGCATCGAT 3' – GTAAMRATGCTTGGTTCGC	177		

Legenda: pb: pares de bases.

2.5.1.4 Amplificação do gene *sulI*

As amostras em reação foram amplificadas em termociclador (GeneAmp PCR System 9700 – Applied Biosystems). Os iniciadores *Forward* e *Reverse* utilizados para a amplificação do gene *sulI* estão dispostos no quadro 4 (CHUNG *et al.*, 2015).

Os controles positivos da reação foram cepas de *P. aeruginosa* CCBM 3282 e CCBM 5939, advindas da Coleção de Culturas de Bactérias de Origem Hospitalar (CCBH) do Laboratório de Infecção Hospitalar (LAPIH) do Instituto Oswaldo Cruz e gentilmente cedidas pela Dra. Ana Paula D’Alincourt Carvalho-Assef.

Quadro 4 – Condições metodológicas para detecção do gene *sulI* por meio de PCR simples

Gene alvo	Iniciadores	Tamanho do fragmento (pb)	Condições de amplificação	Referências
<i>SulI</i>	5' – ATGGTGACGGTGTTTCGGCATTCTGA 3' - CTAGGCATGATCTAACCCTCGGTCT	840	1 ciclo: 95 °C - 5 min 33 ciclos: 94 °C - 45 s 64 °C – 45 s 72 °C – 2 min 1 ciclo: 72 °C - 8 min	Chung <i>et al</i> , 2015 Toleman <i>et al</i> , 2007

Legenda: pb: pares de bases.

2.5.1.5 Eletroforese

Para a análise do produto da PCR, foi confeccionado gel de agarose a partir de uma solução contendo 100 mL de uma mistura de tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) a 0,4X, acrescidas de 1,5% de gel de agarose ultrapuro (Invitrogen, Carisbad, EUA) e corante *SYBER*[®] *Safe* (Invitrogen, Carisbad, EUA) a 10%. O gel foi vertido numa base e deixado em local escuro até que solidificasse, em função da sensibilidade à luz do corante utilizado. Após preenchimento da cuba (LCH, Loccus[®], São Paulo, Brasil) com tampão TBE 0,4X, o gel solidificado foi submerso nessa solução e 6 µL dos produtos da PCR foram inoculados em seus poços. A corrida de eletroforese foi realizada por 35 minutos, numa voltagem de 110 V e 400 mA. Em sequência, o gel foi retirado da cuba e depositado em transiluminador com luz ultravioleta (DNR – MiniBIS Pro[®] SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Alemanha), para que pudesse ser visualizado. O padrão de peso molecular e controle da eletroforese, foi utilizado um *ladder* 1 kb (Invitrogen[®], Carisbad, EUA).

3 RESULTADOS

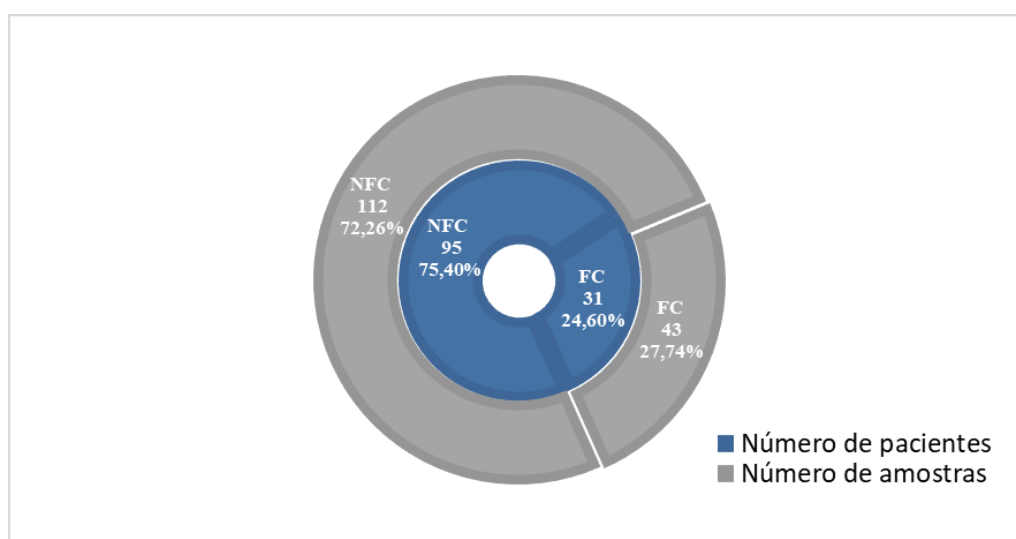
3.1 Caracterização fenotípica de *Stenotrophomonas maltophilia*

As 155 amostras apresentaram os mesmos comportamentos diante das provas bioquímicas e foram compatíveis com as características fenotípicas esperadas para *S. maltophilia*: metabolismo assacarolítico, capacidade de consumir o aminoácido lisina por meio de descarboxilação e produção de DNase.

3.2 Características da amostragem

Das 155 amostras coletadas no período do estudo, 112 (72,3%) foram originadas de pacientes NFC e 43 (27,7%) de pacientes com FC. (Gráfico 1). Do total de amostras, 97 (62,6%) foram obtidas de 88 pacientes adultos e 58 (37,4%) foram provenientes de 38 pacientes pediátricos. O número de amostras variou de 1 a 4 por pacientes NFC e de 1 a 2 por pacientes FC.

Gráfico 1 – Distribuição do número e percentual de amostras e pacientes incluídos no estudo



Legenda: NFC – pacientes sem fibrose cística; FC – pacientes com fibrose cística. Fonte: A autora, 2021.

3.3 Características das amostras dos pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística

A maioria das amostras foi coletada de pacientes adultos, estando concentradas em maior número no grupo NFC (n=89/57,4%). Em contrapartida, a maior parte das amostras FC foi obtida de pacientes pediátricos (n=35/22,6%). A tabela 1 correlaciona as amostras e o número de pacientes adultos e pediátricos em cada grupo.

Tabela 1 - Distribuição das 155 amostras de *Stenotrophomonas maltophilia* obtidas de 126 pacientes

Grupo de pacientes	Número de amostras	% de amostras	Número de pacientes	% de pacientes
Adultos NFC	89	57,4	80	63,5
Pediátricos NFC	23	14,8	15	11,9
Adultos FC	8	5,2	8	6,3
Pediátricos FC	35	22,6	23	18,3
Total	155	100	126	100

Legenda: NFC: pacientes sem fibrose cística; FC: pacientes com fibrose cística.

Fonte: A autora, 2021.

3.3.1 Em relação ao espécime clínico

A maior parte das amostras foi obtida de secreções respiratórias em ambos os grupos. Sessenta e três amostras foram obtidas de escarro (40,7%), 37 de secreção traqueal (23,9%), 26 de aspirado traqueal (16,8%) seguidos de 10 amostras de sangue (6,5%), conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Espécimes clínicos das 155 amostras de *Stenotrophomonas maltophilia* isoladas de pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística

Espécime clínico	Número de amostras e respectivas porcentagens		
	NFC (n=112)	FC (n=43)	TOTAL (n=155)
	n (%)	n (%)	n (%)
Secreção Traqueal	37 (33)	-	37 (23,9)
Escarro	28 (25)	35 (81,4)	63 (40,7)
Aspirado traqueal	25 (22,3)	1 (2,3)	26 (16,8)
Swab de orofaringe	-	5 (11,6)	5 (3,2)
Sangue	10 (8,9)	-	10 (6,5)
Lavado broncoalveolar	2 (1,8)	-	2 (1,3)
Ponta de cateter	2 (1,8)	-	2 (1,3)
Aspirado transtraqueal	2 (1,8)	-	2 (1,3)
Secreção de pele	1 (0,9)	-	1 (0,6)
Líquido peritoneal	1 (0,9)	-	1 (0,6)
Líquido pleural	1 (0,9)	-	1 (0,6)
Urina	1 (0,9)	-	1 (0,6)
*	2 (1,8)	2 (4,7)	4 (2,6)

Legenda: *: Procedência do espécime clínico desconhecida.

Fonte: A autora, 2021.

Das 112 amostras de pacientes NFC, 95 (84,8%) foram de origem respiratória, sendo 75 de pacientes adultos (67%) e 20 (17,8%) de pacientes pediátricos. Quinze amostras (13,4%) foram de origem não respiratória: duas de pacientes pediátricos (1,8%) e 13 de adultos (11,6%). Duas amostras oriundas de pacientes NFC (1,8%) não tinham espécime clínico informado, ambas de pacientes adultos. A tabela 3 apresenta a distribuição desses resultados.

Tabela 3 - Distribuição dos espécimes clínicos de pacientes sem fibrose cística

Espécime clínico	Amostras n (%)	Pacientes adultos n (%)	Pacientes pediátricos n (%)
Respiratório	95 (84,8)	75 (67)	20 (17,8)
Não respiratório	15 (13,4)	13 (11,6)	2 (1,8)
Não identificado	2 (1,8)	2 (1,8)	-
Total	112 (100)	90 (80,4)	22 (19,6)

Legenda: NFC: pacientes sem fibrose cística.

Fonte: A autora, 2021.

Uma parte das amostras de pacientes NFC (n=9; 8%) foi obtida de oito pacientes com diagnóstico de COVID-19, sendo sete adultos e um pediátrico. Todas as amostras de pacientes com COVID-19 foram provenientes de espécimes clínicos respiratórios, aspirado ou secreção traqueal.

Tabela 4 – Distribuição das amostras de *Stenotrophomonas maltophilia* em pacientes com diagnóstico de COVID-19

Data	Paciente	Espécime clínico	Origem clínico/hospitalar
11/05/2020	1	Aspirado traqueal	UTI pediátrica de COVID-19
19/05/2020	2	Aspirado traqueal	UTI 4 de COVID-19
19/01/2021	3	Aspirado traqueal	UTI 2 de COVID-19
26/01/2021	4	Secreção traqueal	UTI 2 de COVID-19
26/02/2021	4	Secreção traqueal	UTI 2 de COVID-19
26/01/2021	5	Secreção traqueal	UTI 2 de COVID-19
19/02/2021	6	Aspirado traqueal	UTI 6 de COVID-19
02/04/2021	7	Aspirado traqueal	UTI COVID-19 *
12/04/2021	8	Aspirado traqueal	UTI 7 de COVID-19

Legenda: *: Número da UTI de COVID-19 não informado.

Fonte: A autora, 2021.

Entre as 43 amostras de pacientes FC, a quase totalidade (41/95,3%) foi obtida de espécime clínico respiratório e duas (4,7%) foram de origem desconhecida. Oito isolados

(18,6%) foram de pacientes adultos e 35 (81,4%) de pacientes pediátricos, conforme disposto na tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição dos espécimes clínicos de pacientes com fibrose cística

Espécime clínico	Amostras n (%)	Pacientes adultos n (%)	Pacientes pediátricos n (%)
Respiratório	41 (95,3)	8 (18,6)	33 (76,7)
Não identificado	2 (4,7)	-	2 (4,7)
Total	43 (100)	8 (18,6)	35 (81,4)

Legenda: FC: pacientes com fibrose cística.

Fonte: A autora, 2021.

O número de amostras variou ao longo dos anos em ambos os grupos de pacientes (NFC e FC). O ano com maior número de amostras coletadas foi 2011 (n=65; 41,8%). Em contrapartida, os anos de 2015 e 2016 foram os que menos geraram amostras, já que foram coletadas apenas duas amostras (1,3%) de pacientes FC, uma em cada ano. Nos anos de 2019, 2020 e 2021 não houve amostras de pacientes FC. Esses resultados estão discriminados na tabela 6.

Tabela 6 - Análise temporal do isolamento das amostras de *Stenotrophomonas maltophilia* considerando o ano de coleta e o grupo de pacientes

G.p.	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
NFC	11	50	8	11	8	-	-	4	1	3	6	10
FC	1	15	6	5	9	1	1	2	3	-	-	-
Total	12	65	14	16	17	1	1	6	4	3	6	10

Legenda: FC: pacientes com fibrose cística; NFC: pacientes sem fibrose cística; G.p.: Grupo de pacientes.

Fonte: A autora, 2021.

As amostras NFC do ano de 2011 variaram de uma a quatro por paciente. Uma amostra por paciente foi selecionada (a mais recente) para comparação com a clínica de origem e espécime clínico. Dessa forma, foram contabilizadas 38 amostras. Os dados estão dispostos na tabela 7.

Tabela 7 - Distribuição das 38 amostras de pacientes sem fibrose cística do ano de 2011, de acordo com os espécimes clínicos e da clínica de origem (continua)

Mês de 2011	Número e percentual de amostras	Espécime clínico	Clínica de origem
Janeiro	1 (2,6%)	Secreção traqueal	UCIPG
Fevereiro	1 (2,6%)	Sangue	Pediatria
Março	5 (13,2%)	Aspirado traqueal	Unidade coronariana
		Escarro	Pneumologia
		Sangue	PPC
		Secreção traqueal	Enfermaria 12
Abril	4 (10,4%)	Secreção traqueal	CTI geral
		BAL	Pneumologia
		Escarro	PPC
		Secreção traqueal	Enfermaria infantil
Maio	-	-	UCIPG
Junho	5 (13,2%)	Escarro	-
			PPC
			PPC
		Secreção traqueal	PPC
Julho	10 (26,4%)	Aspirado traqueal	Enfermaria infantil
			Enfermaria infantil
		Escarro	PPC
			PPC
			PPC
			PPC
			PPC
		Secreção traqueal	CTI geral
			Enfermaria infantil
			UCIPG

Tabela 7 - Distribuição das 38 amostras de pacientes sem fibrose cística do ano de 2011, de acordo com os espécimes clínicos e da clínica de origem (conclusão)

Mês de 2011	Número e percentual de amostras	Espécime clínico	Clínica de origem
Agosto	6 (15,8%)	Aspirado traqueal	Enfermaria infantil
		Escarro	Pneumologia
			Pneumologia
			PPC
			PPC
Setembro	2 (5,2%)	Aspirado traqueal	Enfermaria infantil
		Escarro	Pneumologia
Outubro	1 (2,6%)	Escarro	PPC
Novembro	1 (2,6%)	Sangue	Urologia
Dezembro	2 (5,2%)	Escarro	Pneumologia
			Pneumologia

Legenda: BAL: *bronchoalveolar lavage* (lavado broncoalveolar); PPC: Policlínica Piquet Carneiro; UCIPG: Unidade de Cuidados Intermediários do Plantão Geral
 Fonte: a autora, 2021.

O escarro foi o espécime clínico prevalente entre os pacientes NFC no ano de 2011 (n=20; 52,5%) e a clínica de origem com maior número de amostras coletadas foi a PPC (n=14; 36,7%). Dentre os pacientes, 30 (78,8%) eram adultos.

O mês de julho foi o que apresentou maior número de amostras (n=10; 26,2%), sendo 5 (13,1%) advindas da PPC e tendo escarro como espécime clínico. Três amostras (7,9%) tiveram a enfermaria infantil como clínica de origem, todas de origem respiratória. O mês de maio foi o único em que amostras não foram obtidas.

Em relação às amostras de pacientes FC, não houve mais de uma amostra por paciente no ano de 2011, sendo todas as 15 de escarro. Dessas, 7 (46,6%) foram provenientes do IFF (pacientes pediátricos), 4 (26,7%) de pacientes adultos da enfermaria de pneumologia do HUPE e 4 (26,7%) de pacientes adultos atendidos na PPC.

3.4 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

3.4.1 Teste de disco-difusão

A quase totalidade das amostras foi sensível aos três antimicrobianos testados, independente do grupo de pacientes. Apenas uma amostra NFC, obtida de ponta de cateter no ano de 2013, foi resistente a SXT e LEV, e apenas uma amostra FC, obtida a partir de escarro no ano de 2011, foi resistente a LEV (Tabela 8).

Tabela 8 - Análise temporal do perfil de sensibilidade das 155 amostras de *Stenotrophomonas maltophilia*

SXT/LEV/ MIN	2010 (n=12)	2011 (n=65)	2012 (n=14)	2013 (n=16)	2014 (n=17)	2015 (n=1)	2016 (n=1)	2017 (n=6)	2018 (n=4)	2019 (n=3)	2020 (n=6)	2021 (n=10)
S/S/S	11 ^{NFC} /1 ^{FC}	50 ^{NFC} /14 ^{FC}	8 ^{NFC} /6 ^{FC}	10 ^{NFC} /5 ^{FC}	8 ^{NFC} /9 ^{FC}	-/1 ^{FC}	-/1 ^{FC}	4 ^{NFC} /2 ^{FC}	1 ^{NFC} /3 ^{FC}	3 ^{NFC} /-	6 ^{NFC} /-	10 ^{NFC} /-
R/R/S	-	-	-	1 ^{NFC} /-	-	-	-	-	-	-	-	-
S/R/S	-	-/1 ^{FC}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: FC: pacientes com fibrose cística; NFC: pacientes sem fibrose cística; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; LEV: levofloxacina; MIN: minociclina; S: sensível; I: intermediário; R: resistente.
Fonte: A autora, 2021.

3.4.2 Método de fita gradiente

As amostras de *S. maltophilia* para as quais foram determinadas as CIM para os antimicrobianos SXT, LEV, MIN e CAZ foram aquelas isoladas no período de 2014 a 2019, totalizando 32 amostras. Destas, 50% foram recuperadas de 13 pacientes com FC e a outra metade era de 15 pacientes NFC.

Do total de amostras, cinco (15,6%) tiveram resultado intermediário para CAZ enquanto 17 (53,1%) amostras foram resistentes. Em contrapartida, todas as amostras foram sensíveis para os demais antimicrobianos. (Tabela 9).

Tabela 9 – Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de 32 amostras de pacientes sem fibrose cística e com fibrose cística pelo método de fita gradiente

ATB	FC (n=16)			NFC (n=16)			T (n=32)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SXT	16 (100%)	0	0	16 (100%)	0	0	32 (100%)	0	0
LEV	16 (100%)	0	0	16 (100%)	0	0	32 (100%)	0	0
MIN	16 (100%)	0	0	16 (100%)	0	0	32 (100%)	0	0
CAZ	5 (31,2%)	3 (18,8%)	8 (50%)	5 (31,2%)	2 (12,5%)	9 (56,3%)	10 (31,3%)	5 (15,6%)	17 (53,1%)

Legenda: ATB: antimicrobiano; FC: pacientes com fibrose cística; NFC: pacientes sem fibrose cística; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; LEV: levofloxacina; MIN: minociclina; CAZ: ceftazidima; S: sensível; I: intermediário; R: resistente.

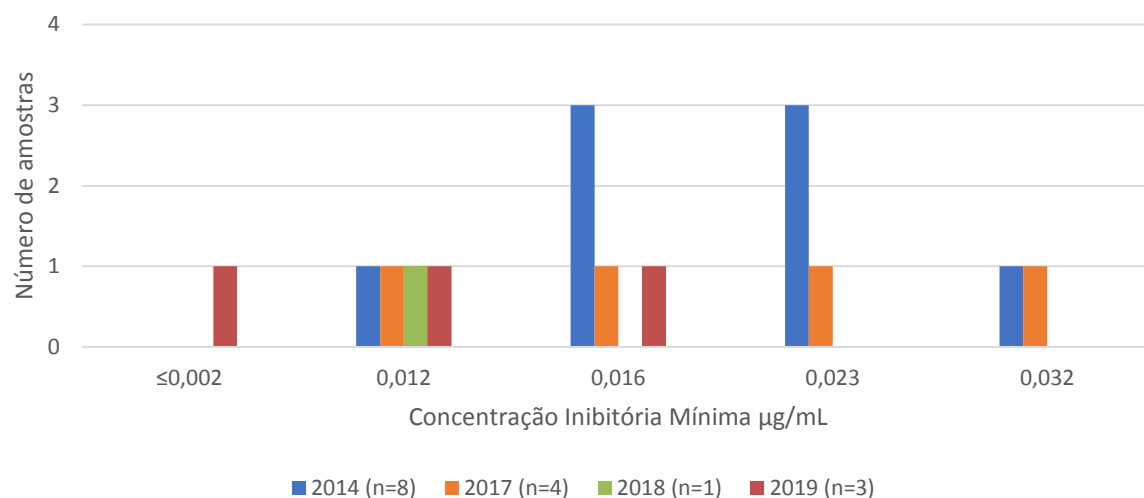
Fonte: A autora, 2021.

Os critérios interpretativos das CIM para o SXT, segundo o CLSI a, (2019), variam de $\leq 2/38$ (S) a $\geq 4/76$ (R), e todas as 32 amostras estiveram na faixa de sensibilidade em ambos os grupos, apresentando CIM de 0,006 $\mu\text{g/mL}$ a 0,064 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes FC e de $\leq 0,002$ $\mu\text{g/mL}$ a 0,032 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes NFC.

Nos pacientes NFC, a CIM de 0,016 $\mu\text{g/mL}$ para SXT foi a mais prevalente nas amostras de *S. maltophilia* (n=5; 31,2%). Em contrapartida, apenas uma amostra (6,2%) apresentou valor de CIM $\leq 0,002$ $\mu\text{g/mL}$, o valor mais baixo para esta droga nos pacientes NFC. A CIM mais alta, porém, foi de 0,032 $\mu\text{g/mL}$ para uma amostra de 2014 e para outra de 2017 (12,5%).

Em relação ao antimicrobiano SXT nos pacientes FC, as CIM de 0,08 $\mu\text{g/mL}$ e de 0,032 $\mu\text{g/mL}$ foram as mais prevalentes, com 3 amostras (18,8%) para cada concentração. A CIM mais baixa foi de 0,006 $\mu\text{g/mL}$ e o valor mais alto foi de 0,064 $\mu\text{g/mL}$. Ambos foram obtidos a partir de amostras de 2014.

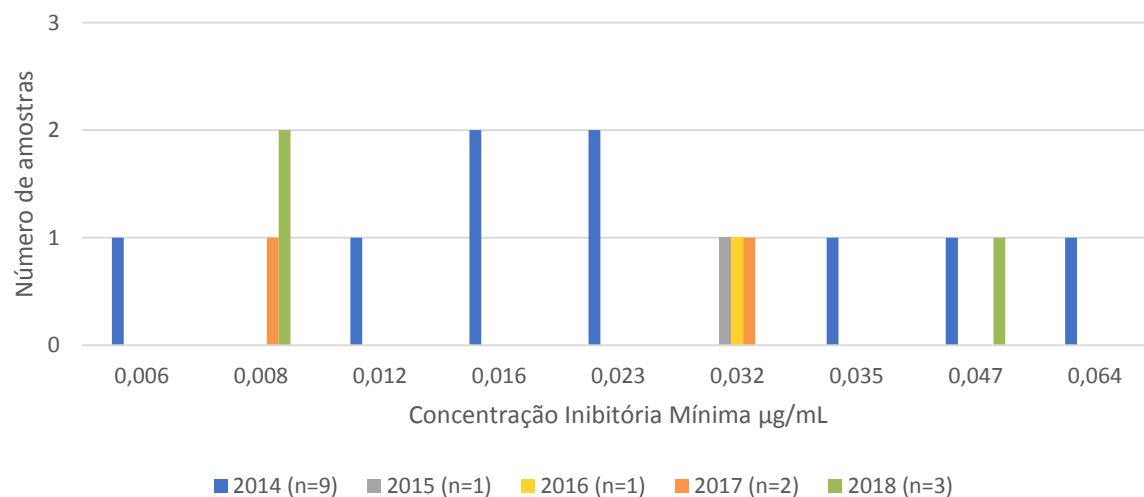
Gráfico 2 - Concentração inibitória mínima para trimetoprima/sulfametoxazol de pacientes sem fibrose cística



Legenda: µg/mL.

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 3 - Concentração inibitória mínima para trimetoprima/sulfametoxazol de pacientes com fibrose cística



Legenda: µg/mL.

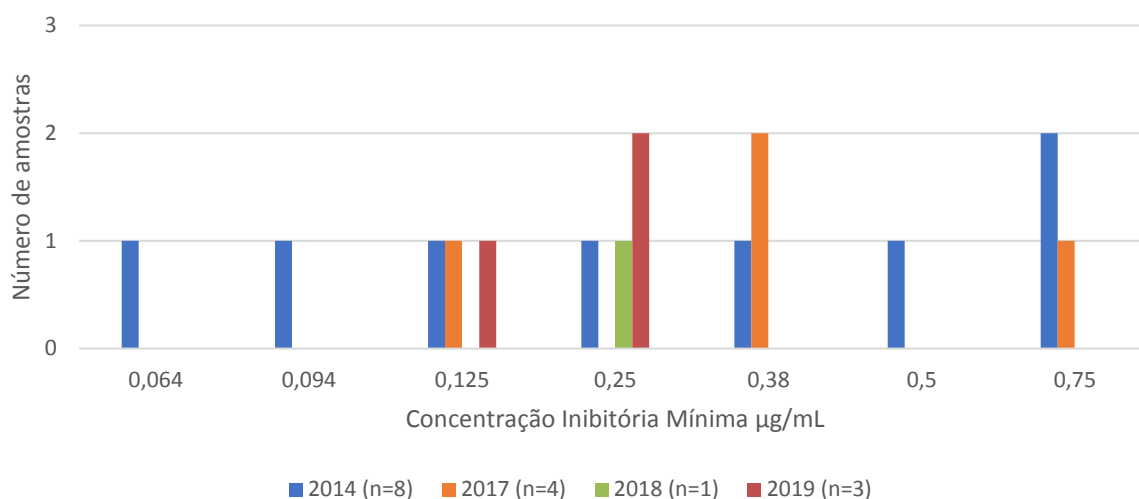
Fonte: A autora, 2021.

Em relação a LEV, os valores de referência das CIM variam entre ≤ 2 (S), 4 (I) e ≥ 8 , e todas as amostras foram classificadas como sensíveis, apresentando valores de 0,064 $\mu\text{g/mL}$ a 0,75 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes NFC e de 0,032 $\mu\text{g/mL}$ a 1 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes com FC.

Em relação à LEV nos pacientes NFC, a CIM com mais amostras foi a de 0,25 $\mu\text{g/mL}$, totalizando quatro amostras (25%). O valor de CIM mais baixo foi de 0,064 $\mu\text{g/mL}$ para uma amostra (6,2%) de 2014 e o mais alto foi de 0,75 $\mu\text{g/mL}$ para duas amostras de 2014 e para uma de 2017 (18,8%).

O ano de 2014 foi o único que apresentou 3 amostras (18,7%) com os mesmos valores de CIM tanto nos valores de 0,19 $\mu\text{g/mL}$ quanto de 0,25 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes FC.

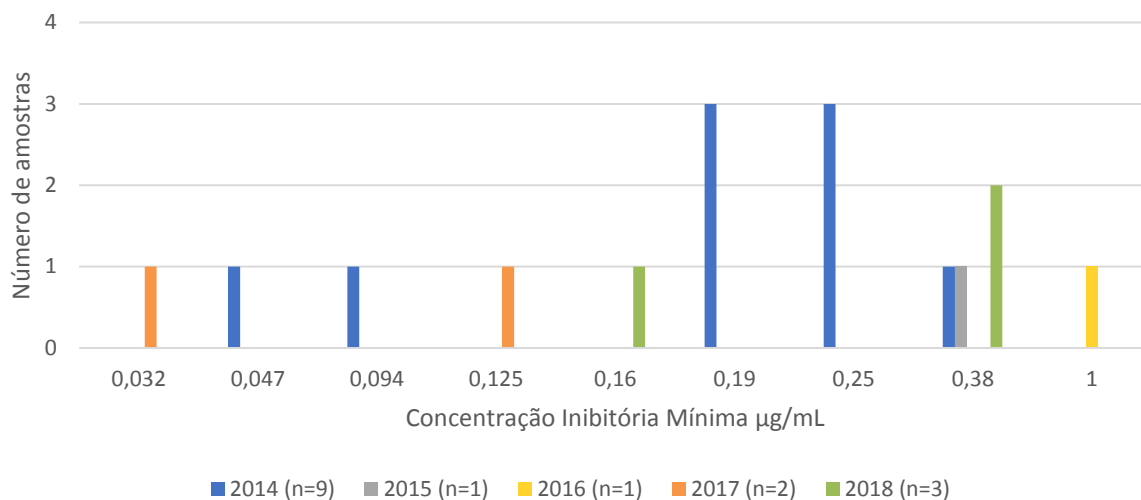
Gráfico 4 - Concentração inibitória mínima para levofloxacina de pacientes sem fibrose cística



Legenda: $\mu\text{g/mL}$.

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 5 - Concentração inibitória mínima para levofloxacina de pacientes com fibrose cística



Legenda: µg/mL.

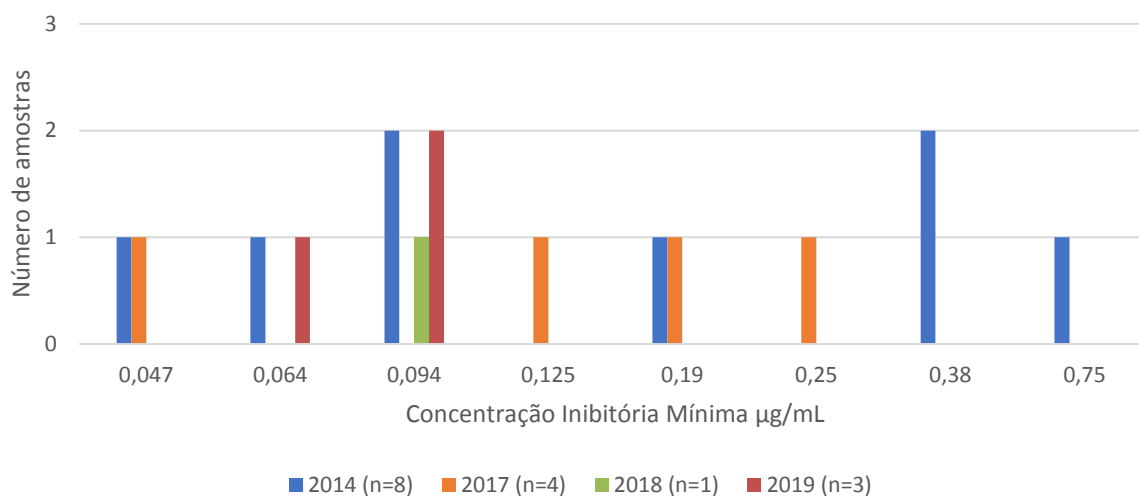
Fonte: A autora, 2021.

Para o antimicrobiano MIN, os valores determinados pelo CLSI a, (2019) para CIM variam entre ≤ 4 (S), 8 (I) e ≥ 16 (R). Os valores das amostras variaram de 0,047 µg/mL a 0,75 µg/mL nos pacientes NFC e de $\leq 0,016$ µg/mL a 1,5 µg/mL nos pacientes com FC, logo todas as amostras foram sensíveis para este antimicrobiano.

A CIM para MIN mais prevalente foi a de 0,094 µg/mL nos pacientes NFC. Entre as 16 amostras, cinco amostras (31,2%) apresentaram este valor. Duas amostras (12,5%), uma de 2014 e uma de 2017 apresentaram os valores de 0,047 µg/mL, os mais baixos observados para MIN nos pacientes NFC. O valor mais alto foi de 0,75 µg/mL e foi observado a partir de uma amostra (6,2%) de 2014.

A CIM que apresentou mais amostras para MIN nos pacientes FC foi a de 0,094 µg/mL, com três amostras (18,8%) do ano de 2014 e duas amostras (12,5%) de 2018. A menor CIM foi $\leq 0,016$ µg/mL de uma amostra (6,2%) de 2017 e a maior foi de 1,5 µg/mL de uma amostra (6,2%) de 2016.

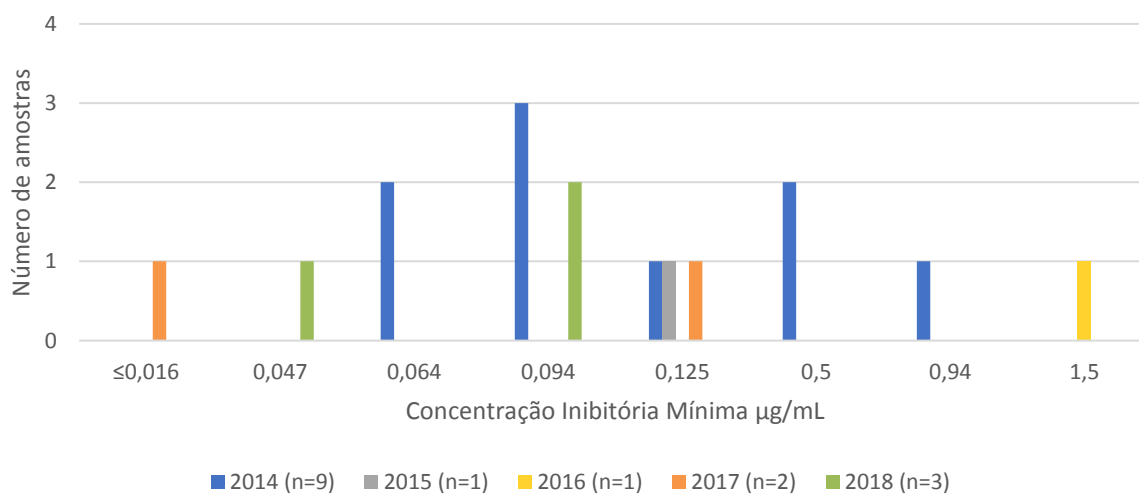
Gráfico 6 - Concentração inibitória mínima para minociclina de pacientes sem fibrose cística



Legenda: µg/mL.

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 7 - Concentração inibitória mínima para minociclina de pacientes com fibrose cística



Legenda: µg/mL.

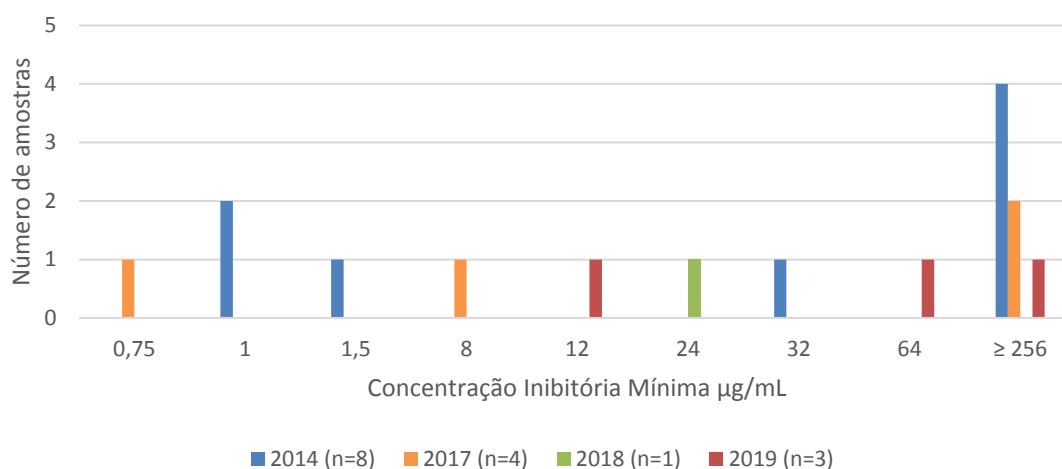
Fonte: A autora, 2021.

Em relação à CAZ, os valores de referência das CIM são de ≤ 8 (S), 16 (I) e ≥ 32 (R). No grupo NFC, cinco (31,2%) amostras foram classificadas como sensíveis a CAZ, já que

apresentaram valores de CIM no intervalo de 0,75 µg/mL a 8 µg/mL. Duas (12,5%) amostras foram classificadas como intermediárias por apresentarem CIM na faixa de 12 µg/mL a 24 µg/mL. Foram classificadas como resistentes, nove (56,3%) amostras que apresentaram valores de CIM entre 32 µg/mL e ≥ 256 µg/mL. Sete das 16 amostras (43,7%) testadas apresentaram CIM ≥ 256 µg/mL, os valores mais altos. Uma amostra (6,2%) de 2014 apresentou CIM de 32 µg/mL e uma amostra (6,2%) de 2019 apresentou CIM de 64 µg/mL. O valor de CIM mais baixo foi de 0,75 µg/mL em uma amostra (6,2%) de 2017.

No grupo FC, cinco amostras (31,2%) apresentaram CIM entre 0,5 µg/mL e 8 µg/mL, sendo classificadas como sensíveis para este antimicrobiano. Três amostras (18,8%) apresentaram CIM no intervalo de 12 µg/mL a 24 µg/mL, sendo classificadas como intermediárias e oito (50%) amostras apresentaram CIM de 24 µg/mL a ≥ 256 µg/mL, sendo classificadas como resistentes. Sete amostras (43,7%) apresentaram o maior valor de CIM ≥ 256 µg/mL. O valor mais baixo, por sua vez, foi de 0,5 µg/mL em uma amostra (6,2%) de 2017.

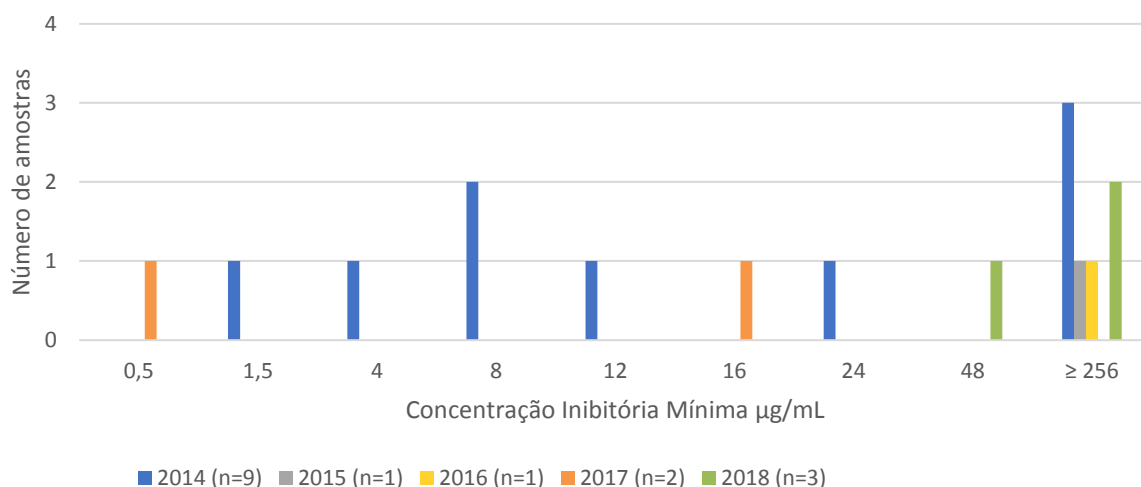
Gráfico 8 - Concentração inibitória mínima para ceftazidima de pacientes sem fibrose cística



Legenda: µg/mL.

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 9 - Concentração inibitória mínima para ceftazidima de pacientes com fibrose cística



Legenda: µg/mL.
 Fonte: A autora, 2021.

3.5 Caracterização dos genes de resistência

3.5.1 Deteção molecular de genes de resistência a carbapenêmicos e a trimetoprima/sulfametoxazol

As 155 amostras foram selecionadas para a realização da PCR, buscando os genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-48like}* e *sulI*. Nenhuma amostra analisada apresentou bandas compatíveis com os fragmentos amplificados nas cepas controle, indicando ausência dos genes de resistência pesquisados.

4 DISCUSSÃO

S. maltophilia é um microrganismo Gram-negativo oportunista, resistente a múltiplas classes de antimicrobianos e frequentemente associado a infecções em pacientes imunocomprometidos, hospitalizados em unidades críticas, estando associado à exacerbação e perda da função pulmonar naqueles com FC, colaborando para a elevação das taxas de morbimortalidade (BOSTANGHADIRI et al., 2019; GAJDÁCS & URBÁN, 2019; TRIFONOVA & STRATEVA, 2019).

A escolha da terapia antimicrobiana é um desafio do ponto de vista clínico no manejo destes pacientes, uma vez que o perfil MDR, fenotipicamente expresso por esta bactéria, torna o arsenal de fármacos restrito (INSUWANNO, KIRATISIN & JITMUANG, 2020; ISMAIL et al., 2017).

As amostras de *S. maltophilia* incluídas neste estudo, recuperadas entre os anos de 2010 e 2021, foram subdivididas em dois grupos de pacientes: NFC (n=112) e FC (n=43). A maior parte das amostras foi recuperada de pacientes do primeiro grupo (72,3%).

A predominância de amostras advindas de pacientes NFC pode ser explicada, uma vez que o quantitativo de pacientes NFC que sofrem internações em UTI por motivos de doenças ou agravo e/ou são submetidos à ventilação mecânica, utilização de cateter e procedimentos invasivos é proporcionalmente superior ao da população FC, cujo acompanhamento é, predominantemente, ambulatorial.

A maioria das amostras NFC era de pacientes adultos. Em contrapartida, as amostras do grupo FC foram, majoritariamente, pediátricas. A maior parte das amostras bacterianas foram obtidas de secreções respiratórias seguidas de sangue no grupo NFC, já que o diagnóstico laboratorial de pneumonias é realizado através de coleta de secreções respiratórias e sangue. Estes dados podem estar associados ao fato da maioria das infecções causadas por *S. maltophilia* ocorrerem nas vias respiratórias, relacionadas a PAV e no sangue (ÇALIŞKAN et al., 2019; MERCIER-DARTY et al., 2020). Além disso, idade avançada e insuficiência cardíaca crônica são considerados fatores de risco para aumento da mortalidade por *S. maltophilia* associada a PAV (SAIED et al., 2020).

Em um estudo realizado em Taiwan com 406 pacientes, pôde-se observar que a metade deles foi submetida a ventilação mecânica e um quarto tinha alguma comorbidade antes do diagnóstico de *S. maltophilia* (JEAN et al., 2020).

O grupo FC, por sua vez, apresentou apenas amostras de origem respiratória, o que era esperado, uma vez que esse grupo de pacientes costuma realizar cultura de secreções respiratórias, em média, três vezes ao ano, ou na iminência de exacerbação do quadro pulmonar.

O isolamento de *S. maltophilia* ocorre majoritariamente nos espécimes clínicos respiratórios e sangue e podem ser evidenciados em dois estudos robustos em pacientes sem FC: um tailandês e um americano. O estudo tailandês analisou 100 amostras e destas, 53% eram provenientes de infecções respiratórias e 25% de infecções de corrente sanguínea. A média de idade dos pacientes era de 66 anos (INSUWANNO, KIRATISIN, JITMUANG, 2020). A pesquisa realizada nos EUA incluiu 76 amostras de *S. maltophilia* de pacientes adultos, sendo metade deles internados em CTI. A quase totalidade das amostras foi obtida de indivíduos com pneumonia constatada após internação (NYS et al., 2019).

Um estudo brasileiro realizado em dois hospitais, mostrou resultados similares com inversão dos percentuais em relação aos espécimes clínicos. Analisando 106 amostras de *S. maltophilia* isoladas de pacientes majoritariamente adultos, 44,2% e 34,9% foram obtidas de infecções de corrente sanguínea e de trato respiratório, respectivamente (MENDES et al., 2020).

Dados publicados pela Coordenação Estadual de Controle de Infecção Hospitalar do Estado do Rio de Janeiro, referente ao ano de 2019, relatam 3.397 casos de PAV e 2067 de Infecção Primária da Corrente Sanguínea (IPCS). Entre os principais microrganismos isolados nas notificações de IPCS em UTI adulto, *S. maltophilia* representou aproximadamente 0,8% do total de amostras bacterianas isoladas (CECIH, 2019).

A variação do número de amostras por grupo de pacientes e por ano pode ser explicada em função da periodicidade de retorno determinada pelo acompanhamento médico, em função do seu seguimento e de eventos de exacerbação. A pandemia causada pelo COVID-19, decretada no ano de 2020 em nosso país, teve um impacto direto nos percentuais de isolamento de *S. maltophilia* em nossa unidade. Nos anos de 2020 e 2021 não houve isolamento desse microrganismo no grupo FC, associada a suspensão de atendimento ambulatorial para precaução de contágio. Por outro lado, no grupo NFC, 33,3% no ano de 2020 e 70% no ano de 2021 foram isolados pacientes com COVID-19.

Um maior número de amostras no mês de julho de 2011 (n=10), todas de pacientes NFC e de trato respiratório, foram oriundas do HUPE e da PPC. Embora possa sugerir a possibilidade de um surto, essas unidades são distantes entre si 3,2 Km e realizam atendimento ambulatorial (PPC) e hospitalar (HUPE). Além disso, seria preciso a aplicação de metodologias que avaliassem a dispersão clonal para avaliar a ocorrência de surto.

É conhecida a característica de baixa sensibilidade de *S. maltophilia* à maior parte das classes de antimicrobianos e do limitado número de fármacos disponíveis para o tratamento das infecções causadas por esta bactéria (FRASER et al., 2019; ZHAO et al., 2016). Em função disso, a identificação correta desse microrganismo e a realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos podem favorecer a prescrição adequada de fármacos, aumentando as chances de recuperação do paciente (FRASER et al., 2019; RHOADS, 2021).

A quase totalidade das amostras testadas em nosso estudo foi sensível ao SXT, LEV e MIN. Apenas duas amostras, uma de paciente NFC de 2013 e outra de paciente FC de 2011 foram resistentes a LEV. Destas, a amostra do paciente NFC também mostrou-se resistente ao SXT.

Mundialmente, há relatos descrevendo a resistência ao SXT, fármaco de escolha no tratamento das infecções causadas por este agente (ZHAO et al., 2016). Um estudo com cerca de 6000 isolados de *S. maltophilia* coletados em todo o mundo apresentou 4% de resistência a esse fármaco (RHOADS, 2021).

Um estudo longitudinal global (Ásia-Pacífico, América do Norte, América Latina e Europa) com 6467 amostras de *S. maltophilia*, coletadas de 1997 a 2016, analisou em parte dessas amostras (6453), as taxas de resistência ao SXT. Essas taxas variaram entre as áreas estudadas, porém permaneceram abaixo de 10%. Entre as amostras provenientes da América Latina, houve uma diminuição na porcentagem da sensibilidade, já que ela permanecia em torno de 96,9%, durante o quadriênio de 1997-2000, enquanto no intervalo de 2013 a 2016, ela se encontrava na faixa de 91,5%. Ou seja, houve uma queda de 5,4% da sensibilidade de *S. maltophilia* ao SXT em duas décadas (GALES et al., 2019).

O mesmo estudo analisou a distribuição geográfica de 112 amostras de *S. maltophilia*, que exibiram, simultaneamente, resistência ao SXT e não sensibilidade (amostras intermediárias e resistentes) a LEV. No Brasil, essas taxas foram de 2,5%, maiores do que as observadas em países da América do Norte, como EUA (1,9%) e Canadá (0,8%) (GALES et al., 2019).

Quando há detecção de amostras resistentes a SXT e diante de situações clínicas do paciente, como neutropenia, as fluoroquinolonas (em particular a LEV) são empregadas como

opção terapêutica no tratamento de infecções por *S. maltophilia*. Porém, é notória a emergência de resistência a esses fármacos (BIAGI et al., 2020; KHAN et al., 2021). Além do aumento da resistência observada, a prescrição desse medicamento é limitada em função da possibilidade de interações medicamentosas, aos efeitos colaterais e à restrição de uso em pacientes pediátricos (BIAGI et al., 2020; JACKSON & SCHUTZE, 2016).

As taxas de sensibilidade de *S. maltophilia* à MIN foram descritas como semelhantes às do SXT, porém sua utilização é rara em função da ausência de comprovação de sua eficácia nas infecções por essa bactéria (BIAGI et al., 2020).

A determinação da CIM é uma ferramenta fundamental, tanto para a escolha dos antimicrobianos a serem prescritos nas infecções quanto na aferição do nível de resistência bacteriana (LOWMAN, 2018).

No Brasil, um trabalho multicêntrico desenvolvido em dois hospitais localizados em diferentes cidades de São Paulo avaliou a sensibilidade de *S. maltophilia*, pela determinação da CIM por microdiluição, de 106 amostras obtidas de pacientes NFC (uma amostra por paciente), das quais 79,3%, 21,7%, 18%, 1% eram resistentes a CAZ, SXT, LEV e MIN, respectivamente. O mesmo estudo avaliou se havia resistência simultânea entre as 23 amostras resistentes ao SXT e outros fármacos (CAZ e LEV). Todas foram resistentes também a CAZ e 12 (52%), a LEV (MENDES et al, 2020).

Um estudo norte americano foi desenvolvido ao longo de dez anos (janeiro de 2008 a dezembro de 2017), com 94 amostras coletadas de pacientes NFC com bacteremia e seus resultados apontaram que dois isolados (2,1%) foram resistentes ao SXT (CIMs > 2/38 µg/mL), 21 (22,3%) a LEV (CIMs > 4 µg/mL), 60 (63,8%) a CAZ (CIMs > 16 µg/mL), e todas as testadas para MIN mostraram-se sensíveis, com CIMs ≤ 4 µg/mL (HAMDI et al., 2020).

Um estudo realizado com 41 amostras de *S. maltophilia* obtidas de pacientes de um hospital em Omã, localizado no Oriente Médio, mostrou 50% de resistência a CAZ pelo método de fita gradiente (SANNATHIMMAPPA et al., 2021).

Trinta e duas (20,6%) amostras incluídas no presente estudo, obtidas entre 2014 e 2019, foram selecionadas para a determinação das CIMs, pelo método de fita gradiente, para os antimicrobianos: SXT, LEV, MIN e CAZ. A distribuição do número das amostras foi equivalente nos dois grupos de pacientes (50% NFC e FC). A maioria (68,7%) foi não sensível (intermediárias e resistentes) a CAZ, no entanto apresentou sensibilidade aos demais antimicrobianos testados.

Em ambos os grupos de pacientes, aproximadamente metade das amostras (43,7%) apresentou valores de CIM ≥ 256 µg/mL para CAZ, ou seja, cerca de oito vezes acima do

intervalo considerado para a classificação de amostras resistentes ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$), indicando elevados níveis de resistência. Nos estudos citados anteriormente, os valores de CIM não foram precisamente descritos para todas as amostras, somente as faixas do critério de interpretação.

Valores elevados de CIM impactam diretamente na diminuição das opções de tratamento para essas infecções, já que caracterizam resistência, e há poucas opções de fármacos disponíveis para microrganismos MDR, a exemplo de *S. maltophilia* (HUEDO et al., 2018).

A despeito da resistência relatada a CAZ, um estudo realizado num hospital universitário da China testou a combinação ceftazidima-avibactam em 33 amostras de *S. maltophilia* resistentes a CAZ. Destas, 48,4% delas apresentou sensibilidade a essa combinação. Porém, os autores ressaltaram que há estudos relatando a inatividade dessa associação de fármacos contra essa bactéria (LIN et al., 2021).

A resistência ao SXT está relacionada, principalmente, à aquisição dos genes *sul* (ADEGOKE, STENSTRÖM & OKOH, 2017). Um estudo recente, conduzido no México, avaliou características de resistência aos antimicrobianos em 30 amostras de *S. maltophilia* de origem ambiental e hospitalar. Do total de amostras, 10% e 46,6% foram classificadas como pan-drogarresistentes e MDR, respectivamente. Destas, todas foram positivas para *sul1* e 73,3% apresentaram produto de amplificação compatíveis com *sul2*. A resistência fenotípica a SXT foi observada em 76,6% das amostras (CRUZ-CÓRDOVA, et al., 2020).

Como apontado em um estudo realizado em dois hospitais de São Paulo, a presença do gene *sul1* em amostras de *S. maltophilia* (n=106) pode ser observado em amostras sensíveis a SXT. No referido estudo dentre as 83 amostras sensíveis ao SXT, o gene *sul1* foi encontrado em 6%, sugerindo a relação do gene à resistência ao fármaco, mas chamando a atenção para o fato de que sua presença pode não determinar, obrigatoriamente, a ocorrência de resistência (MENDES et al, 2020).

Em nosso estudo, a presença do gene *sul1* não foi detectada em nenhuma amostra, mesmo naquela que apresentou resistência fenotípica para SXT. Esse achado, sugere que a resistência observada no teste de disco-difusão ao SXT pode estar relacionada à circulação de outros mecanismos, como a presença de genes, como *sul2* e *drfA*, ou perda/alteração de porinas e/ou bombas de efluxo.

S. maltophilia é resistente intrínsecamente aos carbapenêmicos, principalmente em função da produção de beta-lactamases L1 e L2. Entretanto, investigamos a presença de carbapenemases transferíveis, o que chamaria atenção para possibilidade de *S. maltophilia* se

constituir como um reservatório de genes com possibilidade de dispersão para outros microrganismos (MANÇANO et al., 2020; TAMMA & HSU, 2019).

Dentre as carbapenemases, KPC é endêmica no Brasil, enquanto OXA-48 é considerada a mais frequente mundialmente. NDM, por sua vez, também foi disseminada a nível global, já tendo sido relatada, inclusive, no Brasil (ANVISA, 2021).

KPC já foi descrita em *Stenotrophomonas* spp., e NDM em *S. maltophilia* (FURLAN, PITONDO-SILVA, STEHLING, 2018; MANÇANO et al., 2020). Um estudo realizado com 319 amostras de *Stenotrophomonas* spp. recuperadas de águas costeiras recreacionais no Rio de Janeiro, 68,9% apresentaram o gene *bla_{KPC}*. Portanto, *Stenotrophomonas* spp. pode atuar como reservatórios estáveis e potenciais vetores de resistência antimicrobiana em ambientes, especialmente matrizes aquáticas, e não deve ser negligenciado. Por outro lado, os autores não confirmaram a transferência do gene por intermédio de plasmídeos, sugerindo que essa passagem possa ocorrer por outros mecanismos, como elementos cromossômicos ou plasmídeos não conjugativos (MANÇANO et al., 2020).

bla_{NDM} tem sido predominantemente encontrado em enterobactérias, porém já foi descrito em BGNNFs (CARVALHO-ASSEF et al, 2014; KHAN, MARYAM, ZARRILLI, 2017; ROZALES et al., 2014; VATANSEVER et al., 2020). Uma amostra de origem clínica de *S. maltophilia* produtora de NDM foi descrita pela primeira vez na Índia no ano de 2009 (YONG et al., 2009), posteriormente outro relato foi observado na China (YANG et al., 2014). A presença desse gene, assim como observado em *bla_{KPC}*, também já foi relatado em amostras ambientais de água e solo. Um estudo realizado com amostras ambientais, originária do solo brasileiro, foi observado a presença de *S. maltophilia* carregando o gene *bla_{NDM}* (FURLAN, PITONDO-SILVA, STEHLING, 2018).

Os genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}* não foram detectados nas amostras incluídas neste trabalho, o que não exclui a possibilidade de que *S. maltophilia* contenha outras carbapenemases e se comporte como vetor das mesmas. Logo, testes para outros genes devem ser feitos.

A pandemia de COVID-19 tem sido a causa de internações prolongadas em CTI e do uso de ventilação mecânica (PEK, CABANILLA, AHMED, 2021). Com isso, a literatura tem relatado casos de coinfeção, inclusive com microrganismos Gram-negativos, o que se torna mais grave quando se trata de BGNNFs, devido à resistência intrínseca e adquirida a diversos fármacos (OFSTEAD et al., 2020; SENOK et al., 2021).

Um estudo multicêntrico dos Emirados Árabes, com pacientes adultos internados com COVID-19, avaliando 392 amostras bacterianas não repetidas de indivíduos com coinfeção

(1,3% do total de pacientes), principalmente, por *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. maltophilia*, *A. baumannii* e *S. aureus* resistente a metilicina. Entre os pacientes com coinfeção, 33,2% foram a óbito, e a maior mortalidade foi relacionada aos indivíduos internados em CTI, sob ventilação mecânica e oxigenação extracorpórea (SENOK et al., 2021).

Em outro trabalho, de 98 amostras de Gram-negativos MDR coletadas de pacientes com COVID-19 internados em um hospital do Catar, *S. maltophilia* foi o mais prevalente (24,5%). Nos casos graves de COVID-19 desse estudo, a ocorrência de coinfeções por Gram-negativos MDR foi associada a diversos fatores, como o uso cateteres venosos centrais e urinários, comumente portas de entrada para *S. maltophilia* (BAIOU et al., 2021).

Entre nossas amostras, nove (5,8%) foram isoladas de pacientes NFC com COVID-19 e todas foram sensíveis aos antimicrobianos no teste de disco-difusão. Os trabalhos já apontam que casos de coinfeção com bactérias, não necessariamente ocorrem por cepas MDR (MAHMOUDI, 2020; SENOK et al., 2021). Além disso, outros fatores, que não foram avaliados em nosso estudo, como a unidade de tratamento do paciente (CTI ou enfermaria), condição clínica, idade, tempo de hospitalização, entre outros, certamente tem impacto direto no perfil de resistência aos antimicrobianos. Também, chamamos atenção para o fato de termos realizado o teste de suscetibilidade apenas para as drogas que são padronizadas pelo comitê CLSI.

Embora a ocorrência de *S. maltophilia* não sensíveis aos antimicrobianos em nosso estudo tenha sido baixa, não invalida o monitoramento contínuo dos perfis resistência em nossa unidade hospitalar, incluindo não apenas as de origem clínica como as ambientais. A vigilância microbiológica, incluindo o perfil de resistência, permite a introdução, quando necessária, de medidas de controle de surtos em casos específicos.

CONCLUSÕES

A origem respiratória da maioria das amostras de *S. maltophilia*, corroboram a maior prevalência nas infecções do trato respiratório para pacientes com e sem fibrose cística.

O encontro de *S. maltophilia* em amostras sanguíneas foi exclusivo em pacientes sem fibrose cística, condição esperada já que casos de bacteremias não são usuais em pacientes FC cujo seguimento clínico é ambulatorial.

Apesar da descrição de taxas de resistência a drogas de escolha para o tratamento de infecções por *S. maltophilia* na literatura, a sensibilidade observada na quase totalidade das amostras ao SXT e à LEV em nosso estudo demonstraram que ambos ainda são eficientes na terapia contra *S. maltophilia* na população estudada.

Os resultados para MIN, por outro lado, foram similares a outros trabalhos, já que todas as amostras de *S. maltophilia* foram sensíveis. Sua utilização é rara em função da ausência de comprovação de sua eficácia nas infecções por essa bactéria.

Níveis elevados de resistência (CIM) a uma porcentagem considerável de amostras à CAZ em ambos os grupos (sem e com fibrose cística) foram observadas. A monoterapia com esse fármaco deve ser recomendada com cautela. Dados de literatura apontam para melhores resultados quando CAZ é combinado com inibidores de beta-lactamase.

O gene *sulI* não foi detectado em nenhuma amostra, mesmo na única amostra que apresentou resistência fenotípica para SXT. Esse achado, sugere que a resistência observada no teste de disco-difusão ao SXT pode estar relacionada à circulação de outros genes, como *sul2* e *drfA*, ou a outros mecanismos, como perda/alteração de porinas e/ou bombas de efluxo.

Investigamos a presença de carbapenemases transferíveis, com objetivo de avaliar a possibilidade desse microrganismo se constituir como um reservatório de genes de resistência. Os genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48like}* não foram detectados nas amostras incluídas neste trabalho.

As nove amostras isoladas de pacientes NFC com COVID-19 foram sensíveis aos antimicrobianos MIN, SXT e LEV, testados por disco-difusão. Casos de coinfeção por SARS-CoV-2 com bactérias, não necessariamente ocorrem por cepas MDR. Fatores clínicos-demográficos, não avaliados em nosso estudo, podem influenciar no perfil de resistência aos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ADEGOKE, A. A.; STENSTRÖM, T. A.; OKOH, A. I. *Stenotrophomonas maltophilia* as an Emerging Ubiquitous Pathogen: Looking Beyond Contemporary Antibiotic Therapy. *Front. Microbiol.* África do Sul, v. 8, n. 2276, Nov. 2017.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasil, 2020.
- ALMEIDA, M. T. G. et al. Hospital Infection by *Stenotrophomonas maltophilia*: clinical epidemiological, microbiology aspects and antimicrobial resistance. *Arq Ciênc Saúde*. Brasil, v. 12, n. 3, p. 141-145, Jul-Sep. 2005.
- AMIN, R.; WATERS, V. Antibiotic treatment for *Stenotrophomonas maltophilia* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. Canadá, v. 7, n. 7, Jul. 2016.
- AN, S. Q.; BERG, G. *Stenotrophomonas maltophilia*. *Trends Microbiol.* v. 26, n. 7, p. 637-638, Jul. 2018.
- BAIOU, A. et al. Clinical characteristics and risk factors for the isolation of multi-drug-resistant Gram-negative bacteria from critically ill patients with COVID-19. *J Hosp Infect*. Catar, v. 110, p. 165-171, Apr. 2021.
- BIAGI, M. et al. Activity of Potential Alternative Treatment Agents for *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates Nonsusceptible to Levofloxacin and/or Trimethoprim-Sulfamethoxazole. *J Clin Microbiol*. Estados Unidos da América, v. 58, n. 2, Jan. 2020.
- BOSTANGHADIRI, N. et al. Characterization of Phenotypic and Genotypic Diversity of *Stenotrophomonas maltophilia* Strains Isolated From Selected Hospitals in Irã. *Front microbiol*. Irã, v. 10, n.1191, May. 2019.
- BRAGA, F. S. et al. Genomic information on *Stenotrophomonas maltophilia* ST264 isolated from a cystic fibrosis pediatric patient in Brazil. *Braz J Microbiol*. Brasil, v. 51, n. 3, p. 1125-1127, Sep. 2020.
- BRINK, A. J. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally. *Curr Opin Infect Dis*. África do Sul, v. 32, n. 6, p. 609-616, Dec. 2019.
- BROOKE, J. S. New strategies against *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther*. Estados Unidos da América, v. 12, n. 1, p. 1-4, Jan. 2014.
- BROOKE, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clin. Microbiol. Rev*. Estados Unidos da América, v. 25, n. 1, p. 2-41, Jan. 2012.

BROWN, S. D.; WHITE, R.; TOBIN, P. Keep them breathing: Cystic fibrosis pathophysiology, diagnosis, and treatment. *JAAPA*. Estados Unidos da América, v. 20, n. 5, p. 23-27, May. 2017.

ÇALIŞKAN, A. et al. The Antibiotic sensitivity of *Stenotrophomonas maltophilia* in a 5-year period and investigation of clonal outbreak with PFGE. *J Infect Dev Ctries*. Turquia, v. 13, n. 7, p. 634-639, Jul. 2019.

CARVALHO-ASSEF A. P. et al. Detection of NDM-1-, CTX-M-15-, and *qnrB4*-producing *Enterobacter hormaechei* isolates in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother*. Brasil, v. 58, n. 4, p. 2475-2476, Apr. 2014.

CARVALHO-ASSEF A. P. et al. Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. *J. Antimicrob. Chemother*. Brasil, v. 68, n. 12, p. 2956-2957, Jul. 2013.

CHANG, Y. T., et al. Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front. Microbiol*. Taiwan, v.6, n. 893, Sep. 2015.

CHUNG, H. et al. The *sulI* gene in *Stenotrophomonas maltophilia* with high-level resistance to trimethoprim/ sulfamethoxazole. *Ann. Lab. Med*. Coreia, v. 35, n. 2, p. 246-249, Mar. 2015.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI a). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-nine informational supplement. (M100-S29). Wayne, P. A., 2019.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI b). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; CLSI document M02. Wayne, P. A., 2019.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI c). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI document M07. Wayne, P. A., 2019.

Coordenação Estadual de Controle de Infecção Hospitalar (CECIH). Divulgação dos dados referentes a IRAS no Estado do Rio de Janeiro 2019. Sep. 2020.

CORCIONE, S. et al. Carbapenem-sparing strategy: carbapenemase, treatment, and stewardship. *Curr Opin Infect Dis*. v. 32, n. 6, p. 663-673, Dec. 2019.

CRUZ-CÓRDOVA, A. et al. Molecular Epidemiology, Antibiotic Resistance, and Virulence Traits of *Stenotrophomonas maltophilia* Strains Associated With an Outbreak in a Mexican Tertiary Care Hospital. *Front Cell Infect Microbiol*. México, v. 10, n. 50, Feb. 2020.

DARVISHNIA, D. et al. Co-morbidity of Covid-19 and *Stenotrophomonas maltophilia* in a patient with Hodgkin's lymphoma history from north of Iran. *Infect Disord Drug Targets*. Irã, Feb. 2021.

DENTON, M.; KERR, K. G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev*. Reino Unido, v.11, n. 1, p. 57-80, Jan, 1998.

DOI, Y. Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis.* Japão, v. 7, Suppl. 7, p. S565-S575, Nov. 2019.

EBRAHIM-SARAIE, H. S. et al. Prevalence of antibiotic resistance and integrons, *sul* and *Smqnr* genes in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* from a tertiary care hospital in Southwest Iran. *Iran J Basic Med Sci.* Irã, v. 22, n. 8, p. 872-877, Aug. 2019.

EL-GAMAL, M. I. et al. Recent updates of carbapenem antibiotics. *Eur J Med Chem.* v. 131, p. 185-195, May. 2017.

FIRMIDA, M. C.; MARQUES, B. L.; COSTA, C. H. Fisiopatologia e manifestações clínicas da fibrose cística. *Revista HUPE.* Brasil, Oct.-Dec. 2011.

FRASER, T. A. et al. Quantitative real-time PCR assay for the rapid identification of the intrinsically multidrug-resistant bacterial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Microb Genom.* Austrália, v. 5, n. 10, Oct. 2019.

FROST, F. et al. Cystic fibrosis related diabetes is not independently associated with increased *Stenotrophomonas maltophilia* infection: Longitudinal data from the UK CF Registry. *J Cyst Fibros.* Reino Unido, v. 18, n. 2, p. 294-298, Oct. 2018.

FURLAN, J. et al. Characterization of Acquired Antimicrobial Resistance Genes in Environmental *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates from Brazil. *Microb Drug Resist.* Brasil, v. 25, n. 4, p. 475-479, May. 2019.

FURLAN, J. P. R.; PITONDO-SILVA, A.; STEHLING, E. G. Detection of *bla*NDM-1 in *S. maltophilia* isolated from Brazilian soil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Brasil, v. 113, n. 6, May. 2018.

GAJDÁCS, M.; URBÁN, E. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Stenotrophomonas maltophilia* in Respiratory Tract Samples: A 10-Year Epidemiological Snapshot. *Health Serv Res Manag Epidemiol.* Hungria, v. 6, p. 1-9, Aug. 2019.

GALLAGHER, T. et al. Cystic Fibrosis-Associated *Stenotrophomonas maltophilia* Strain-Specific Adaptations and Responses to pH. *J Bacteriol.* Estados Unidos da América, v. 201, n. 7, Mar. 2019.

GARCÍA-LEÓN, G., et al. Interplay between intrinsic and acquired resistance to quinolones in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Environ. Microbiol.* Espanha, v. 16, n. 5, p. 1282–1296, May. 2014.

GIANOTTI, A. et al. Small Molecule Anion Carriers Correct Abnormal Airway Surface Liquid Properties in Cystic Fibrosis Airway Epithelia. *Int J Mol Sci.* v. 21, n. 4, p. 1488, Feb. 2020.

GORDON N. C; WAREHAM, D. W. Novel variants of the *Smqnr* family of quinolone resistance genes in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Antimicrob. Chemother.* Londres, v. 65, n. 3, p. 483-489, Jan. 2010.

HAMDI, A. M. et al. *Stenotrophomonas* Bacteremia Antibiotic Susceptibility and Prognostic

Determinants: Mayo Clinic 10-Year Experience. *Open Forum Infect Dis.* Estados Unidos da América, v. 7, n. 1, Jan, 2020.

HAN, L. et al. Diversity of L1/L2 genes and molecular epidemiology of high-level carbapenem resistance *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from animal production environment in China. *Infect Genet Evol.* China, v. 86, Dec. 2020.

HELTSHE, S. L. et al. Study design considerations for the Standardized Treatment of Pulmonary Exacerbations 2 (STOP2): A trial to compare intravenous antibiotic treatment durations in CF. *Contemp Clin Trials.* Estados Unidos da América, v. 64, p. 35-40, Jan. 2018.

HUEDO, P. et al. Quorum Sensing Signaling and Quenching in the Multidrug-Resistant Pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Cell Infect Microbiol.* Espanha, v. 8, n. 122, Apr. 2018.

HUGH, R.; RYSCHENKOW, E. *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. *J Gen Microbiol.* Estados Unidos da América, v. 26, n. 1, p. 123-132, Sep. 1961.

HU, L. F., et al. *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of *sul* and *dfpA* genes in a plasmid-mediated class 1 integron. *Int. J. Antimicrob. Agents*, China, v. 37, n. 3, p. 230-234, Mar. 2011.

INSUWANNO, W.; KIRATISIN, P.; JITMUANGJ, A. *Stenotrophomonas maltophilia* Infections: Clinical Characteristics and Factors Associated with Mortality of Hospitalized Patients. *Infect Drug Resist.* Tailândia, v. 13, p. 1559-1566, May, 2020.

ISMAIL, N. et al. A Combination of Trimethoprim-sulfamethoxazole and Ceftazidime Showed Good In Vitro Activity against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Malays J Med Sci.* Malásia, v. 24, n. 2, p. 21-27, Apr. 2017.

JACKSON, M. A.; SCHUTZE, G. E. The Use of Systemic and Topical Fluoroquinolones. *Pediatrics.* Estados Unidos da América, v. 138, n. 5, Nov. 2016.

JEAN, S. S. et al. Epidemiology, Treatment, and Prevention of Nosocomial Bacterial Pneumonia. *J Clin Med.* Taiwan, v. 9, n. 1, Jan, 2020.

JIA, W. et al. Resistance of *Stenotrophomonas maltophilia* to fluoroquinolones: prevalence in a university hospital and possible mechanisms. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* China, v. 12, n. 5, p. 5177-5195, May. 2015.

JUSTICIA, J. L. et al. Management of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis: still an unmet medical need in clinical practice. *Expert Rev Respir Med.* Espanha, v. 9, n. 2, p. 183-194, Apr. 2015.

KAUR, P.; GAUTAM, V.; TEWARI, R. Distribution of Class 1 Integrons, *sul1* and *sul2* genes among clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* from a tertiary care hospital in north India. *Microb. Drug. Resist.* India, v. 21, n. 4, p. 380-385, Jul. 2015.

KHAN, A. et al. Evaluation of the Performance of Manual Antimicrobial Susceptibility Testing Methods and Disk Breakpoints for *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents*

Chemother. Estados Unidos da América, v. 65, n. 6, Jun. 2021.

KHAN, A. U.; MARYAM, L.; ZARRILLI, R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol.* v. 17, n. 1, Apr. 2017.

LANSBURY, L. et al. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect.* Reino Unido, v. 2 Aug;8, p. 266-275, Aug. 2020.

LIN, Q. et al. Avibactam potentiated the activity of both ceftazidime and aztreonam against *S. maltophilia* clinical isolates in vitro. *BMC Microbiol.* China, v. 21, n. 1, Feb. 2021.

LOWMAN W. Minimum inhibitory concentration-guided antimicrobial therapy - the Achilles heel in the antimicrobial stewardship agenda. *S Afr Med J.* África do Sul, v. 108, n. 9, p. 710-712, Aug. 2018.

MAHMOUDI, H. Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19. *GMS Hyg Infect Control.* Irã, v. 15, Dec. 2020.

MANÇANO, S. M. C. N. et al. Frequency and diversity of *Stenotrophomonas* spp. carrying bla_{KPC} in recreational coastal waters. *Water research.* Brasil, v. 185, Oct. 2020.

MARQUES, E. A. Perfil microbiológico na fibrose cística. *Revista HUPE.* Brasil, v. 10, n. 4, p. 23-35, 2011.

MCDANIEL, M. S.; SCHOEB, T.; SWORDS, W. E. Cooperativity between *Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas aeruginosa* during Polymicrobial Airway Infections. *Infect Immun.* Estados Unidos da América, v. 88, n. 4, Mar, 2020.

MENDES, E. T. et al. Clinical and microbiological characteristics of patients colonized or infected by *Stenotrophomonas maltophilia*: is resistance to sulfamethoxazole/trimethoprim a problem? *Rev Inst Med Trop São Paulo.* Brasil, v. 62, Dec. 2020.

MERCIER-DARTY, M. et al. Comparative Whole-Genome Phylogeny of Animal, Environmental, and Human Strains Confirms the Genogroup Organization and Diversity of the *Stenotrophomonas maltophilia* Complex. *Appl Environ Microbiol.* França, v. 86, n. 10, May, 2020.

MILLER, S.; HUMPHRIES, R. M. Clinical laboratory detection of carbapenem-resistant and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Expert Rev Anti Infect Ther.* Estados Unidos da América, v. 14, n. 8, p. 705-717, Aug. 2016.

MOHAMADIAN, M. et al. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J Gene Med.* Irã, v. 23, n. 2, Feb. 2021.

MOLLOY, K. et al. Impaired Airway Epithelial Barrier Integrity in Response to *Stenotrophomonas maltophilia* Proteases, Novel Insights Using Cystic Fibrosis Bronchial Epithelial Cell Secretomics. *Front Immunol.* Irlanda, v. 11, n. 198, Feb. 2020.

MONTEIRO, J. et al. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J*

Antimicrob Chemother. v. 67, n. 4, p. 906-909. Apr. 2012.

NORDMANN, P.; CUZON, G.; NAAS, T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* França, v. 9, n. 4, p. 228-236, Apr. 2009.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis.* Suíça, v. 69, Suppl. 7, p. S521-S528, Nov. 2019.

NYS, C. et al. Clinical and Microbiologic Outcomes in Patients with Monomicrobial *Stenotrophomonas maltophilia* Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* Estados Unidos da América, v. 63, n. 11, Nov. 2019.

OFSTEAD, C. L. et al. Potential impact of contaminated bronchoscopes on novel coronavirus disease (COVID-19) patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* Estados Unidos da América, v. 41, n. 7, p. 862-864, Jul. 2020.

OPLUSTIL, C. P. et al. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2010.

PALLERONI, N. J.; BRADBURY, J. F. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *Int J Syst Bacteriol.* Estados Unidos da América, v. 43, n. 3, p. 606-609, Jul. 1993.

PAPP-WALLACE, K. M. et al. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 55 n. 11 p. 4943-4960, Nov. 2011.

PEK, Z.; CABANILLA, M. G.; AHMED, S. Treatment refractory *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia and pneumonia in a COVID-19-positive patient. *BMJ Case Rep.* Estados Unidos da América, v. 14, n. 6, Jun. 2021.

PETERS, D. L. et al. The isolation and characterization of two *Stenotrophomonas maltophilia* bacteriophages capable of cross-taxonomic order infectivity. *BMC Genomics.* Canadá, v. 16, n. 1, Sep. 2015.

PIMENTEL, R. M. M. et al. The dissemination of covid-19: an expectant and preventive role in global health. *J Hum Growth Dev.* Brasil, v. 30, n. 1, p. 135-140, Feb. 2020.

RHOADS, D. D. *Stenotrophomonas maltophilia* susceptibility testing challenges and strategies. *J Clin Microbiol.* Estados Unidos da América, Jun. 2021.

RODRIGUES, L. S.; GIOIA, T. S. R.; ROSSI, F. *Stenotrophomonas maltophilia*: emerging resistance to TMP-SMX in Brazilian isolates. A reality? *J Bras Patol Med Lab.* Brasil, v. 47, n. 5, p. 511-517, Oct. 2011.

ROUZÉ, A. et al. Impact of Chronic Obstructive Pulmonary Disease on Incidence, Microbiology and Outcome of Ventilator-Associated Lower Respiratory Tract Infections. *Microorganisms.* v. 8, n. 2, Jan, 2020.

ROZALES, F. P. et al. Emergence of NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* in Porto Alegre,

Brazil. *Int J Infect Dis*. Brasil, v. 25, p. 79-81, May. 2014.

SAID, M. S.; TIRTHANI, E.; LESHIO, E. *Stenotrophomonas maltophilia*. *StatPearls*, *StatPearls Publishing*. Estados Unidos da América, Jun. 2021.

SAIED, W. et al. Ventilator-associated pneumonia due to *Stenotrophomonas maltophilia*: Risk factors and outcome. *J Infect*. França, v. 30, n. 3, p. 279-285, Mar. 2020.

SAMPAIO; GALES. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brazil: focus on B-lactams and polymyxin. *Braz J Microbiol*. Brasil, v. 47 Suppl. 1 p. S31–S37, Dec. 2016.

SÁNCHEZ, M. B.; HERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ, J. L. *Stenotrophomonas maltophilia* drug resistance. *Future Microbiol*. Espanha, v. 4, n. 6, p. 655– 660, Aug. 2009.

SÁNCHEZ, M. B.; MARTÍNEZ, L. The efflux pump SmeDEF contributes to trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob. Agents. Chemother*. Espanha, v. 59, n. 7, p. 4347-4348, Jul. 2015.

SANDERS, D. B. et al. Standardized Treatment of Pulmonary Exacerbations (STOP) study: Observations at the initiation of intravenous antibiotics for cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *J Cyst Fibros*. Estados Unidos da América, v. 16, n. 5, p. 592-599, Sep. 2017.

SANNATHIMMAPPA, M. B. et al. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging opportunistic nosocomial pathogen in a tertiary care hospital in Al Batinah North Governorate, Oman. *Sultan Qaboos Univ Med J*. Omã, v. 21, n. 1, p. 66-71, Feb. 2021.

SCOTET, V.; L'HOSTIS, C.; FÉREC, C. The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery. *Genes (Basel)*. França, v. 11, n. 6, May, 2020.

SENOK, A. et al. Coinfections in Patients Hospitalized with COVID-19: A Descriptive Study from the United Arab Emirates. *Infect Drug Resist*. v. 14, p. 2289-2296, Jun. 2021.

SOUSA, G. J. B. et al. Mortality and survival of COVID-19. *Epidemiology and Infection*. Brasil, v. 148, Jun. 2020.

SSEKATAWA, K. et al. A systematic review: the current status of carbapenem resistance in East Africa. *BMC Res Notes*. v. 11, n. 1, Aug. 2018.

STRAHILEVITZ, J. et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev*. Estados Unidos da América, v. 22, n. 4, p. 664-689, Oct. 2009.

TAMMA, P. D.; HSU, A. J. Defining the Role of Novel β -Lactam Agents That Target Carbapenem-Resistant Gram-Negative Organisms. *J Pediatric Infect Dis Soc*. Estados Unidos da América, v. 8, n. 3, p. 251-260, Jul. 2019.

THEURETZBACHER, U. et al. Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. *Nat Rev Microbiol*. v. 18, n. 5, p. 286-298, May. 2020.

TOLEMAN, A. et al. Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in

Stenotrophomonas maltophilia mediated by acquisition of *sul* Genes. *Emerg. Infect. Dis.* Reino Unido, v. 13, n. 4, p. 559-565, Apr. 2007.

TRIFONOVA, A.; STRATEVA, T. *Stenotrophomonas maltophilia* - a low-grade pathogen with numerous virulence factors. *Infect Dis (Lond)*. Bulgária, v. 51, n. 3, p. 168-178, Nov. 2018.

VALDEZATE, S. et al. Topoisomerase II and IV quinolone resistance-determining regions in *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates with different levels of quinolone susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* Espanha, v. 46, n. 6, p. 665-671, Mar. 2002.

VANDEVANTER, D. R. et al. Rationalizing endpoints for prospective studies of pulmonary exacerbation treatment response in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* Estados Unidos da América, v. 16, n. 5, p. 607-615, Sep. 2017.

VATANSEVER, C. et al. Co-existence of OXA-48 and NDM-1 in colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235. *Emerg Microbes Infect.* Turquia, v. 9, n. 1, p. 152-154, Jan. 2020.

VIDIGAL, P.G. et al. Adaptation of *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: molecular diversity, mutation frequency and antibiotic resistance. *Int. J. of Med. Microb.* Alemanha, v. 304, n. 5-6, p. 613-619, Jul. 2014.

WANG, C. H.; YU, C. M.; HSU, S. T.; WU, R. X. Levofloxacin-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns in hospitalized patients. *J Hosp Infect.* Taiwan, v. 104, n. 1, p. 46-52, Jan. 2020.

WANG, Y. et al. Antimicrobial Resistance in *Stenotrophomonas* spp. *Microbiol Spectr.* China, v. 6, n. 1, Jan. 2018.

WATERS, V et al. Chronic *Stenotrophomonas maltophilia* infection and mortality or lung transplantation in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros.* Canadá, v. 12, n. 5, p. 482-486, Sep. 2013.

WEST, N. E. et al. Standardized Treatment of Pulmonary Exacerbations (STOP) study: Physician treatment practices and outcomes for individuals with cystic fibrosis with pulmonary Exacerbations. *J Cyst Fibros.* Estados Unidos da América, v. 16, n. 5, p. 600-606, Sep. 2017.

WU, C.P.; ADHI, F.; HIGHLAND, K. Recognition and management of respiratory co-infection and secondary bacterial pneumonia in patients with COVID-19. *Cleve Clin J Med.* Estados Unidos da América, v. 87, n. 11, p. 659-663, Nov. 2020.

YANG, Z. et al. Prevalence and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* carrying metallo- β -lactamase *bla*L1 in Beijing, China. *Front Microbiol.* China, v. 5, Dec. 2014.

YONG, D. et al. "Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India." *Antimicrob Agents Chemother.* vol. 53, n. 12, p. 5046-5054, Dec. 2009.

ZHANEL, G. G. et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs*. Canadá, v. 67 n. 7, p. 1027-1052, 2007.

ZHANG, H. et al. Risks and features of secondary infections in severe and critical ill COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect.* China, v. 9, n. 1, p. 1958-1964, Dec. 2020.

ZHAO, J. et al. Surveillance of Dihydropteroate Synthase Genes in *Stenotrophomonas maltophilia* by LAMP: Implications for Infection Control and Initial Therapy. *Front Microbiol.* China, v. 7, n. 1723, Oct. 2016.