

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRUNA MEZZOMO BEJES

PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS EM
AMBIENTES HOSPITALARES: PLASTICIDADE GENÉTICA E ELEMENTOS DE
RESISTÊNCIA

PONTA GROSSA
2026

BRUNA MEZZOMO BEJES

PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS
EM AMBIENTES HOSPITALARES: PLASTICIDADE GENÉTICA E
ELEMENTOS DE RESISTÊNCIA

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, área de concentração fármacos, medicamentos e biociências aplicadas à farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pileggi

PONTA GROSSA
2026

Bejes, Bruna Mezzomo

B423 *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenêmicos em ambientes hospitalares: plasticidade genética e elementos de resistência / Bruna Mezzomo Bejes. Ponta Grossa, 2026.

53 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pileggi.

1. Carbapenemases. 2. *Pseudomonas aeruginosa*. 3. Multirresistência bacteriana. 4. Ambientes hospitalares. I. Pileggi, Marcos. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 616

BRUNA MEZZOMO BEJES

PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS EM
AMBIENTES HOSPITALARES: PLASTICIDADE GENÉTICA E ELEMENTOS DE
RESISTÊNCIA

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível Mestrado e Doutorado, Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 27 de abril de 2026.

Documento assinado digitalmente
 **MARCOS PILEGGI**
Data: 06/05/2026 14:57:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcos Pileggi – UEPG Presidente

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ RICARDO OLCHANHESKI**
Data: 06/05/2026 16:35:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luiz Ricardo Olchanheski – UEM Membro titular externo

Documento assinado digitalmente
 **GIOVANI MARINO FAVERO**
Data: 13/05/2026 14:30:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Giovani Marino Favero – UEPG Membro titular interno

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA - UEPG
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF Bloco M Sala
93 B – Campus Universitário em Uvaranas
– Fone (42) 2102-8937 Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – CEP: 84030- 900 – PONTA
GROSSA – PR – BRASIL

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela relevância no fomento e valorização da pesquisa científica no Brasil.

Agradeço a Deus por me conceder forças e persistência ao longo desta caminhada, afastando o medo e a insegurança e me fazendo acreditar que eu seria capaz de chegar até aqui.

Ao meu noivo, Arnaldo, por ter acreditado em mim, sendo meu maior incentivador e apoiador, e por ser a pessoa com quem compartilho minha vida.

À minha família, que sempre esteve orgulhosa do caminho que venho trilhando.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Pileggi, por todos os ensinamentos, por sempre transmitir calma e tranquilidade e pelo rigor científico, que contribuíram significativamente para o meu crescimento intelectual e me fizeram enxergar a ciência de forma mais encantadora.

À Profa. Dra. Carmen Antonia Sanches Ito, por disponibilizar integralmente suas pesquisas e resultados para este trabalho, contribuindo para a obtenção de novas evidências e avanços científicos.

Ao Dr. Luiz Ricardo Olchanheski, por ter sido meu orientador de TCC e agora coorientador no mestrado, acompanhando minha trajetória e contribuindo de forma essencial para minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Marcelo Viccari, pelas valiosas considerações, correções e sugestões, para o desenvolvimento deste trabalho.

À Maria Janine Diniz, por toda ajuda no laboratório, pelos ensinamentos sobre a rotina laboratorial e pelo cuidado em cada etapa do processo.

À banca examinadora, pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta pesquisa, minha sincera gratidão.

RESUMO

As carbapenemases em *Pseudomonas aeruginosa* representam um desafio terapêutico, especialmente em hospitais, onde sua disseminação é favorecida por pressão seletiva de antimicrobianos, pacientes imunossuprimidos e características intrínsecas da bactéria. Entretanto, os mecanismos evolutivos e genéticos envolvidos na circulação dessas enzimas são pouco esclarecidos. Assim, este trabalho visa integrar evidências evolutivas e genéticas das carbapenemases em *P. aeruginosa*, por meio de dois capítulos que versam, de forma integrada, sobre este tema. O primeiro capítulo de revisão narrativa, discute os fatores da disseminação global e os processos evolutivos das carbapenemases em *P. aeruginosa*. Os resultados indicam que a presença de elementos genéticos móveis é determinante na dispersão de carbapenemases e sua evolução depende do contexto clínico, geográfico e da seleção de clones. O segundo capítulo, corrobora, em nível regional, os achados discutidos no primeiro capítulo, por meio de um estudo com isolados hospitalares de *P. aeruginosa* provenientes dos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. Os resultados mostram, no contexto regional, o predomínio de carbapenemases plasmidiais e a disseminação horizontal em hospitais, com genes de carbapenemases presentes no mesmo fenótipo multirresistente. Contudo, fenótipos multirresistentes de *P. aeruginosa*, ausentes de genes de carbapenemases, foram observados, sugerindo que a resistência aos carbapenêmicos pode estar associada a mecanismos intrínsecos e adaptativos da espécie, como alterações de porinas e superexpressão de bombas de efluxo. Esses achados, reforçam a necessidade de que os sistemas de vigilância não se limitem à detecção de genes de resistência rastreáveis, mas integrem abordagens genômicas e fenotípicas combinadas, para refletir com maior precisão os perfis de resistência observados clinicamente.

PALAVRAS-CHAVE: Carbapenemases; *Pseudomonas aeruginosa*; multirresistência; ambientes hospitalares.

ABSTRACT

Carbapenemases in *Pseudomonas aeruginosa* pose a significant therapeutic challenge, particularly within hospital settings where their dissemination is facilitated by selective pressure from antimicrobial agents, the presence of immunosuppressed patients, and the bacterium's intrinsic characteristics. Nevertheless, the evolutionary and genetic mechanisms underlying the circulation of these enzymes remain inadequately understood. This study aims to synthesize evolutionary and genetic evidence concerning carbapenemases in *P. aeruginosa* through two integrated chapters. The first chapter, a narrative review, examines the factors contributing to the global dissemination and evolutionary dynamics of carbapenemases in *P. aeruginosa*. Findings indicate that mobile genetic elements play a critical role in the spread of carbapenemases, with their evolution influenced by clinical and geographical contexts as well as the emergence of specific clones. The second chapter validates these findings at a regional level via a study involving hospital isolates of *P. aeruginosa* from the Brazilian states of Paraná and Santa Catarina. The results demonstrate a predominance of plasmid-mediated carbapenemases and horizontal gene transfer within hospital environments, with carbapenemase genes co-occurring in multidrug-resistant phenotypes. However, multidrug-resistant *P. aeruginosa* isolates lacking carbapenemase genes were also identified, suggesting that carbapenem resistance may be attributable to intrinsic and adaptive mechanisms such as porin modifications and efflux pump overexpression. These findings underscore the necessity for surveillance systems to extend beyond the detection of identifiable resistance genes and to incorporate integrated genomic and phenotypic methodologies to more accurately capture clinically relevant resistance profiles.

Keywords: Carbapenemases; *Pseudomonas aeruginosa*; multiresistance; hospital environments.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Ilustração do Capítulo 1, onde fatores geográficos como (A) isolados de *P. aeruginosa* circulando em diferentes regiões, fatores clínicos como (B) fenótipos de resistência e pressão seletiva pelo uso de antibióticos e fatores genéticos (C), incluindo EGMs, influenciam na manutenção, dispersão e evolução de carbapenemases em *P. aeruginosa* no contexto global. No Capítulo 2, é avaliado o (E) resistoma e mobiloma dos isolados hospitalares dos estados do Paraná (PR) e Santa Catarina (SC), no sul do Brasil, quanto ao na presença de múltiplos genes de carbapenemases. (F) Emergência de fenótipos multiresistentes. (G) Clones de alto risco. Fonte: os autores, criado por Biorender..... 10
- Figura 2 - Representação esquemática de uma ilha genômica inserida em uma região de plasticidade genômica do genoma acessório de *P. aeruginosa*. Genes de tRNA, pertencentes ao genoma central, atuam como sítios preferenciais para inserção de diferentes EGMs..... 16
- Figura 3 - Trajetória evolutiva de plasmídeos carreadores de genes codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa*..... 24
- Figura 4 - Distribuição global de clones de alto risco de *P. aeruginosa* associados a carbapenemases em diferentes regiões geográficas. 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de carbapenemases em <i>P. aeruginosa</i>	15
Tabela 2 - Genes de carbapenemases reportadas em <i>P. aeruginosa</i> (2022-2026).	24

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
CAPÍTULO 1 - REVISÃO NARRATIVA: A INFLUÊNCIA DO MOBILOMA NA DISSEMINAÇÃO DE GENES CODIFICANTES PARA CARBAPENEMASES EM PSEUDOMONAS AERUGINOSA	11
1.1 INTRODUÇÃO	11
1.2 REVISÃO DA LITERATURA	13
1.2.1 Carbapenemases em <i>P. aeruginosa</i>	13
1.2.2 A atuação de <i>integrans</i> , <i>transposons</i> e sequências de inserção na disseminação de genes codificantes para carbapenemases em <i>P. aeruginosa</i>	15
1.2.3 O papel dos plasmídeos conjugativos e disseminação de genes codificantes para carbapenemases em <i>P. aeruginosa</i>	18
1.2.4 A influência de clones de alto risco na mobilização de genes de resistência	21
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2 - ANÁLISES GENÔMICAS E FENOTÍPICAS DA RESISTÊNCIA MEDIADA POR CARBAPENEMASES E DA DIVERSIDADE CLONAL DE ISOLADOS CLÍNICOS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA DO SUL DO BRASIL	33
2.1 INTRODUÇÃO	34
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	35
2.2.1 Coleta de isolados de CRPA	35
2.2.2 Teste de suscetibilidade antimicrobiana	35
2.2.3 Detecção de genes de carbapenemase por qRT-PCR	36
2.2.4 Sequenciamento de genoma completo e análise bioinformática	36
2.3 RESULTADOS	37
2.3.1 Caracterização genômica e tipagem de sequência de isolados de <i>P. aeruginosa</i>	37
2.3.2 Caracterização fenotípica e genotípica da resistência a β -lactâmicos em <i>P. aeruginosa</i>	38
DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE A - GRÁFICOS E TABELAS UTILIZADOS	50

INTRODUÇÃO

Pseudomonas aeruginosa é um microrganismo oportunista frequentemente relacionado a infecções nosocomiais de difícil manejo clínico e reconhecido por sua capacidade de selecionar resistência a múltiplos fármacos, incluindo os carbapenêmicos, antibióticos utilizados como terapia de última linha no tratamento de infecções graves por bactérias Gram-negativas (Wang *et al.*, 2025). A prevalência de *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos (CRPA) circulante nos cinco continentes é estimada em 34,7%, com maior frequência de isolados resistentes na Europa (47,6%) (Ramatla *et al.*, 2025).

No período pandemia de COVID-19, ocorreu um aumento mundial no número de isolados clínicos de CRPA, acompanhado pela expansão de clones de alto risco, como ST235 e ST244 e pela circulação de genes codificantes para carbapenemases (Li *et al.*, 2025). Esse cenário refletiu em mudanças no mobiloma e resistoma de CRPA e pode ter influenciado a evolução e a disseminação de fenótipos multirresistentes (Li *et al.*, 2025) principalmente em ambientes de internação prolongada, onde isolados de *P. aeruginosa* MDR (*Multidrug Resistance*) e XDR (*Extensively Drug-Resistant*), são associados à mortalidade em 30 dias após o diagnóstico da infecção (Rolo *et al.*, 2022).

A disseminação de carbapenemases em *P. aeruginosa*, ocorre principalmente por transferência horizontal de genes, mediada por elementos genéticos móveis (EGMs) como plasmídeos, *integrons* e *transposons* (Liu *et al.*, 2024). A dispersão de genes resistentes a carbapenêmicos, é acelerada pela pressão seletiva por uso de antibióticos, por características intrínsecas da bactéria e pela circulação de clones de alto risco (Michaelis; Grohmann, 2023).

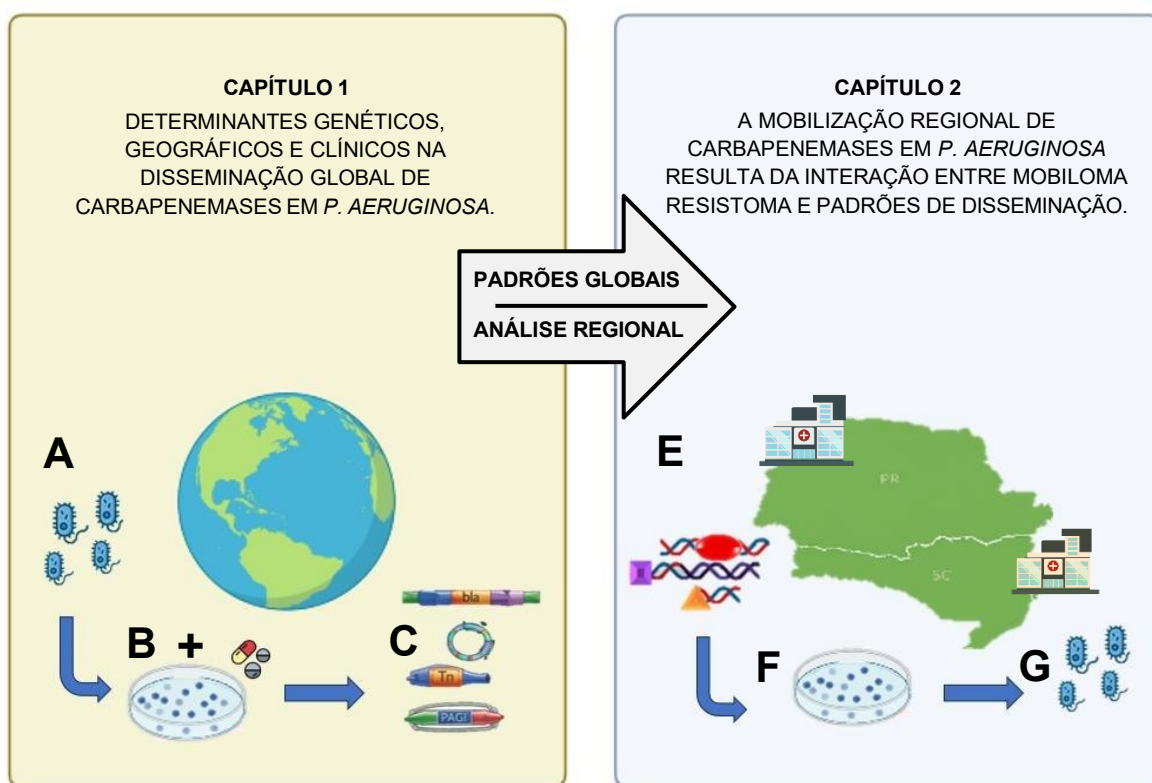
Apesar do conhecimento sobre os elementos de resistência envolvidos na disseminação global de carbapenemases em *P. aeruginosa* (Forero-Hurtado *et al.*, 2023), poucos estudos analisam, de forma integrada, como a organização do resistoma, a mobilização de genes de resistência, a pressão seletiva antimicrobiana e os contextos geográficos influenciam a emergência, manutenção e disseminação de fenótipos multirresistentes em *P. aeruginosa* (Forero-Hurtado *et al.*, 2023; Rodrigues *et al.*, 2024).

Nesse contexto, esta dissertação foi estruturada em dois capítulos com o

objetivo de investigar a influência do contexto genético, da pressão seletiva e da mobilização de genes de resistência na manutenção, dispersão e evolução de fenótipos e genótipos multirresistentes de *P. aeruginosa*. O capítulo 1 apresenta uma revisão narrativa sobre a dinâmica global de disseminação de carbapenemases, mobiloma e clones de alto risco (Fig. 1).

O segundo capítulo analisa o mobiloma de 10 STs (*Sequence Types*), uma classificação usada em MLST (*Multilocus Sequence Typing*), de *P. aeruginosa*, obtidos de hospitais dos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil e suas relações entre organização genotípica, diversidade genética, padrões de resistência antimicrobiana, identificando particularidades locais (Fig. 1).

Figura 1 - Ilustração do Capítulo 1, onde fatores geográficos como (A) isolados de *P. aeruginosa* circulando em diferentes regiões, fatores clínicos como (B) fenótipos de resistência e pressão seletiva pelo uso de antibióticos e fatores genéticos (C), incluindo EGMs, influenciam na manutenção, dispersão e evolução de carbapenemases em *P. aeruginosa* no contexto global. No Capítulo 2, é avaliado o (E) resistoma e mobiloma dos isolados hospitalares dos estados do Paraná (PR) e Santa Catarina (SC), no sul do Brasil, quanto ao na presença de múltiplos genes de carbapenemases. (F) Emergência de fenótipos multiresistentes. (G) Clones de alto risco. Fonte: os autores, criado por Biorender



Fonte: os autores, criado por Biorender (2026).

CAPÍTULO 1 - REVISÃO NARRATIVA: A INFLUÊNCIA DO MOBILOMA NA DISSEMINAÇÃO DE GENES CODIFICANTES PARA CARBAPENEMASES EM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

RESUMO

A seleção de genes codificantes para carbapenemases em *Pseudomonas aeruginosa*, em diferentes contextos clínicos e geográficos, constitui um dos determinantes da multirresistência, contribuindo para redução da atividade antibiótica, falha terapêutica, e consequentemente, limitando as opções terapêuticas, aumentando a morbimortalidade e a disseminação de fenótipos resistentes. Esta revisão narrativa foi desenvolvida buscando avaliar se fatores geográficos, genéticos e clínicos levam ao aumento da mobilização e expressão de genes de resistência a carbapenêmicos em *P. aeruginosa*. Os resultados demonstram que a resistência de *P. aeruginosa* não se restringe a presença de genes detectáveis, mas, a mecanismos fenotípicos e regulatórios que impactam a expressão do fenótipo resistente. A disseminação global de *P. aeruginosa* não é homogênea e a presença de padrões geográficos singulares de genes codificantes para resistência, é influenciada pelo mobiloma e resistoma do ambiente. Os elementos genéticos móveis atuantes na aquisição, rearranjo e coexpressão de genes resistentes, exercem influência na disseminação da resistência em *P. aeruginosa*. A pressão seletiva do ambiente hospitalar por uso de antibióticos favorece a seleção de fenótipos adaptados e facilita o compartilhamento de genes. Dessa forma, se torna importante investigar em nível molecular a dinâmica evolutiva do mobiloma e resistoma de *P. aeruginosa*, a fim de fornecer conhecimento para aprimorar estratégias de vigilância, orientar terapias e otimizar o controle de infecções causadas por essa espécie multirresistente.

Palavras-chave: Resistência bacteriana aos carbapenêmicos; resistoma; elementos genéticos móveis; transferência horizontal de genes.

1.1 INTRODUÇÃO

As carbapenemases em *Pseudomonas aeruginosa* são enzimas capazes de hidrolisar β -lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, frequentemente utilizados como terapia de última linha para tratamento de infecções graves (Biggel *et al.*, 2023). A disseminação de *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos (CRPA) em ambientes hospitalares é prevalente na Europa (8–58% dos isolados clínicos), Sul e Leste da Ásia (8–36% dos isolados clínicos) e América do Norte (10–31% dos isolados clínicos) (Fortunato *et al.*, 2023), cuja frequência aumentou entre 2021 (45,5%) e 2024 (58,6%), nos períodos pré e pós-pandemia de COVID-19 (Li *et al.*, 2025).

As infecções nosocomiais causadas por CRPA durante a pandemia de

COVID-19 foram atribuídas à taxa de mortalidade de 17,89% em até 30 dias após infecção (XIAO *et al.*, 2024). Na Itália, entre 2021 e 2023, a incidência de infecções por CRPA foi de 1,74 casos por 1000 pacientes/dia, sendo 26,8% dos isolados de CRPA (De Pascale *et al.*, 2025). No Brasil, a presença do gene de carbapenemase blaNDM (New Delhi metalo- β -lactamase) em isolados clínicos de CRPA aumentou progressivamente de 2021 (27,3%) a 2024 (59,5%) (Barth *et al.*, 2025), sugerindo que a circulação de CRPA em hospitais durante e após a pandemia de COVID-19 poderia favorecer a expansão e manutenção de genes de resistência em linhagens de *P. aeruginosa*.

As opções terapêuticas para tratamento de infecções causadas por CRPA vêm se tornando limitadas (Ramatla *et al.*, 2025), principalmente em razão da redução da eficácia antibiótica e do aumento da evasão imunológica, fenômenos decorrentes de mecanismos intrínsecos, adquiridos e adaptativos de resistência bacteriana (Rodrigues *et al.*, 2024). Os principais determinantes de resistência aos carbapenêmicos em *P. aeruginosa* incluem alterações estruturais e funcionais capazes de reduzir a atividade dos β -lactâmicos.

Entre esses determinantes, destacam-se a perda ou alteração da porina (Biggel *et al.*, 2023); a superexpressão de bombas de efluxo, que reduz a concentração intracelular de ceftazidima-avibactam e ceftolozana/tazobactam; e a superexpressão da β -lactamase AmpC, que reduz a afinidade pelos β -lactâmicos (Ruedas-López *et al.*, 2022). Além dos mecanismos intrínsecos e adaptativos, *P. aeruginosa* também pode adquirir genes de resistência a carbapenêmicos por meio de elementos genéticos móveis (EGMs), como plasmídeos, favorecendo a disseminação horizontal desses componentes de resistência (Yoon; Jeong, 2021).

A atuação concomitante de eventos moleculares de resistência resulta em fenótipos adaptados capazes de sobreviver mesmo à ação dos carbapenêmicos (Michaelis; Grohmann, 2023), o que pode favorecer a mobilização de genes codificantes para carbapenêmicos. Apesar da expansão global de CRPA, pouco se sabe sobre a interação entre o contexto genético da bactéria, a atuação de EGMs e a pressão seletiva do ambiente clínico podem influenciar na organização, transferência e adaptação de genes codificantes para carbapenemases.

Dessa forma, este estudo visa investigar possíveis padrões clínicos, geográficos e organizacionais que favoreçam a emergência e a dispersão de genes

codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa* por meio de uma revisão de dados recentes entre o período de 2021 a 2026 sobre a influência do mobiloma, plasticidade genômica e dos clones de alto risco na disseminação de genes de carbapenemases em *P. aeruginosa* em termos mundiais.

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 Carbapenemases em *P. aeruginosa*

As carbapenemases são classificadas, segundo Ambler, nas classes A, B e D, as quais diferem entre si quanto ao tipo de enzima, espectro de atividade e relevância clínica (Rodrigues *et al.*, 2024) (Tab. 1). As serino- β -lactamases de classe A em *P. aeruginosa* utilizam serina para hidrolisar penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e alguns carbapenêmicos. Entre as carbapenemases de classe A, KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) e GES (*Guiana extended-spectrum β -lactamase*) têm como principais representantes enzimas associadas à resistência aos carbapenêmicos (Poirel; Nordmann, 2022).

A enzima KPC foi identificada nos Estados Unidos, em 1996, em *K. pneumoniae* e se propagou mundialmente entre espécies de *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (Halawa *et al.*, 2024). De modo semelhante, GES foi descrita pela primeira vez na Guiana Francesa em 2000, em *K. pneumoniae* (Poirel; Nordmann, 2022) e já esteve vinculada a surtos hospitalares em regiões da América do Norte e do Sul, Europa (Yoon; Jeong, 2021), Oriente Médio, Ásia e Oceania (Espinoza Pesantez; Esparza Sanchez, 2021).

Diferente das serino- β -lactamases, as metalo- β -lactamases (MBLs) da classe B utilizam Zn^{2+} para hidrolisar carbapenêmicos (Biggel *et al.*, 2023). As MBLs correspondem ao principal mecanismo de resistência aos carbapenêmicos em *P. aeruginosa* (Tab. 1), devido à plasticidade conformacional do seu sítio catalítico, no qual os íons Zn^{2+} são coordenados por resíduos de histidina, cisteína ou ácido aspártico, ampliando o espectro de ação (Doumith *et al.*, 2022). Isso permite a hidrólise de carbapenêmicos como imipenem, meropenem e doripenem (Biggel *et al.*, 2023), promovendo a consolidação de elementos do mobiloma associados a fenótipos multirresistentes em ambientes hospitalares sob pressão seletiva antimicrobiana.

Entre as MBLs mais prevalentes em *P. aeruginosa* destacam-se VIM (*Verona integron-encoded metallo- β -lactamase*), identificada em *P. aeruginosa* na Itália em 1997 (ELENA *et al.*, 2024), sendo a mais frequente, seguida por IMP (imipenemase), identificada no Japão em *Serratia marcescens* em 1996 (Biggel *et al.*, 2023), e NDM (New Delhi metallo- β -lactamase), identificada em *K. pneumoniae* na Índia em 2008 (YOON; JEONG, 2021). Assim como as serino- β -lactamases, as oxacilinases (OXAs) da classe D utilizam resíduos de serina no sítio ativo para hidrolisar β -lactâmicos (Rodrigues *et al.*, 2024), entretanto costumam apresentar baixa atividade hidrolítica em carbapenêmicos devido à conformação estrutural do seu sítio catalítico, caracterizado por uma arquitetura mais restrita que limita a interação eficiente com esses antibióticos (Elfadadny *et al.*, 2024).

Dessa forma, as OXAs podem conferir níveis variáveis de resistência quando associadas a mecanismos adicionais, como superexpressão de bombas de efluxo, perda de porinas ou coexistência com outros genes de resistência (Abdelraheem; Ismail; Hammad, 2024). Entre as variantes de oxacilinases de relevância clínica associadas à resistência aos carbapenêmicos, OXA-48 foi identificada em 2001, na Turquia, em *K. pneumoniae* (Kiyaga *et al.*, 2022), estando ligada à disseminação plasmidial e à circulação de clones de alto risco em ambientes hospitalares, principalmente no continente europeu (Greičius *et al.*, 2024). Em contraste, OXA-198 foi descrita em 2012, na França, em *P. aeruginosa*, com maior ocorrência na Índia, Reino Unido e Bélgica (Espinoza Pesantez; Esparza Sanchez, 2021) (Tab. 1).

Além das carbapenemases das classes A, B e D de Ambler, a cefalosporinase PDC (*Pseudomonas-derived cephalosporinase*) intrínseca de *P. aeruginosa* do tipo AmpC, pertencente à classe C, hidrolisa cefalosporinas, penicilinas e cefamicinas (QIN *et al.*, 2022). Sua ação catalítica em carbapenêmicos é baixa (Halawa *et al.*, 2024), contudo, quando combinada a outros determinantes de resistência, como a perda ou alteração da porina OprD, a superexpressão de bombas de efluxo e a coexpressão de carbapenemases (Grosjean *et al.*, 2021), resulta em níveis superiores de resistência (Fang *et al.*, 2023). Por exemplo, variantes enzimáticas de PDC, como PDC-2, PDC-3, PDC-4 e PDC-5, quando coexpressas com MBLs VIM e IMP, reduzem a suscetibilidade à ceftazidima, cefepima, cefpiroma, aztreonam, imipenem e meropenem (Halawa *et al.*, 2024) (Tab. 1).

Tabela 1. Classificação de carbapenemases em *P. aeruginosa*

Classe de Ambler	Tipo de Enzima	β -lactamases	Espectro de Atividade	Relevância Clínica
A	Serina- β - lactamases	GES, KPC	Penicilinas, cefalosporinas; algumas variantes hidrolisam carbapenêmicos	Disseminação global
B	Metalo- β - lactamases	VIM, IMP, NDM	Carbapenêmicos	Principal mecanismo de resistência a carbapenêmicos
C	Cefalosporinase (AmpC)	AmpC cromossômica	Cefalosporinas de amplo espectro e penicilinas	Mecanismo intrínseco
D	Oxacilinas	OXA-48, OXA-198	Penicilinas e cefalosporinas; baixa atividade sobre carbapenêmicos	Geralmente vinculada a outros mecanismos

Fonte: os autores.

A diversidade estrutural e funcional das carbapenemases amplia as possibilidades adaptativas de CRPA quando associadas a determinantes genéticos e adaptativos, possibilitando a persistência e disseminação de fenótipos multirresistentes em ambientes hospitalares sob pressão seletiva antimicrobiana.

1.2.2 A atuação de *integrons*, *transposons* e sequências de inserção na disseminação de genes codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa*

A disseminação de CRPA é impulsionada pela presença de genes acessórios incorporados ao genoma bacteriano central em regiões de plasticidade genômica (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi., 2025). Em *P. aeruginosa*, existem mais de 100 regiões de variabilidade genômica formadas por ilhas genômicas que abrigam *integrons*, *transposons* e sequências de inserção, que atuam na mobilização, incorporação, reorganização e disseminação de genes (Qi *et al.*, 2023).

Os *integrons* podem coexpressar múltiplos cassetes gênicos de resistência. Por exemplo, o *integron In786*, carreador de *blaIMP-45*, apresenta um arranjo de cinco cassetes gênicos (*aacA4-blaIMP-45-gcu3-blaOXA-1-catB3*), associado à resistência a aminoglicosídeos, carbapenêmicos e cloranfenicol (Feng *et al.*, 2025). Já os *transposons* permitem que os genes de resistência sejam inseridos em

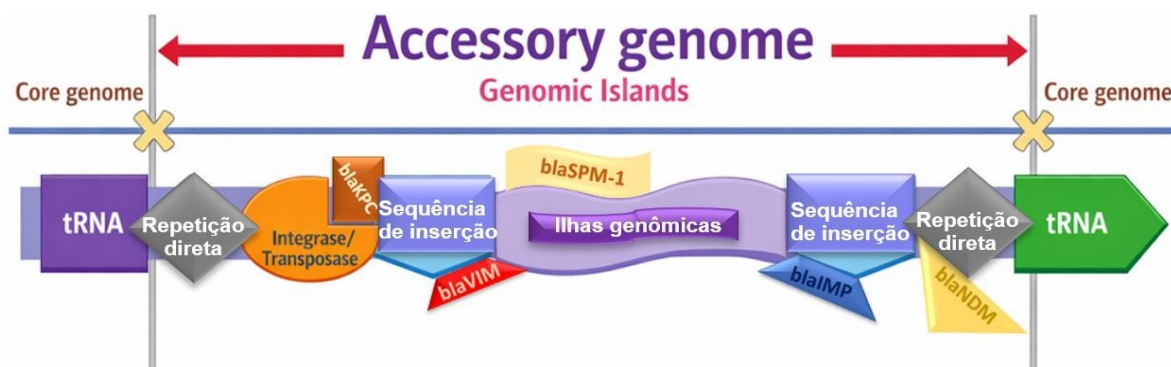
diferentes *replicons*, como é o caso do *transposon Tn4401* integrado a *blaKPC* e *blaGES*.

De modo semelhante, sequências de inserção como *IS26* podem atuar na formação de módulos acessórios contendo genes de resistência, como a estrutura *IS26-blaKPC-2-IS26*, promovendo rearranjos genéticos, fusões plasmidiais e ampliação da plasticidade estrutural do mobiloma bacteriano (Guo *et al.*, 2025). A integração desses elementos em um mesmo contexto genético contribui para a evolução de plasmídeos (Guo *et al.*, 2025), disseminação de genes de resistência, adaptação ao ambiente hospitalar, ocorrência de surtos globais e mobilização entre espécies (Ghazawi *et al.*, 2025).

Esse processo foi observado em um isolado clínico de *P. aeruginosa* coprodutor de *blaKPC-2* e *blaVIM-2*, no qual o gene *blaVIM-2* foi identificado no *integron* de classe 1 *In2057* inserido em um megaplasmídeo *IncpRBL16*, enquanto *blaKPC-2* estava associado ao módulo *Tn3-ISKpn27-blaKPC-ΔISKpn6* em um plasmídeo *IncP6* (Zheng *et al.*, 2025).

A integração simultânea entre *integrans*, *transposons* e plasmídeos conjugativos em um mesmo contexto genético parece favorecer a mobilização de genes e o aumento da expressão de genes de resistência aos carbapenêmicos em um mesmo fenótipo multirresistente. Portanto, é possível que o sucesso epidemiológico de CRPA não decorra apenas da presença de genes de resistência, mas da capacidade de coexpressar múltiplos genes de resistência em seu genoma acessório, aumentando sua resistência (Fig. 2).

Figura 2.- Representação esquemática de uma ilha genômica inserida em uma região de plasticidade genômica do genoma acessório de *P. aeruginosa*. Genes de tRNA, pertencentes ao genoma central, atuam como sítios preferenciais para inserção de diferentes EGMs.



Fonte: adaptado de KARAMPATAKIS; TSENGOULI; BEHZADI, 2025.

Nota: Estrutura esquemática da (1) aquisição de EGMs em reservatório clínicos, incluindo a mobilização de *blaNDM-1* e *ISAba125*. (2) Integração e mobilização de genes MBLs associadas a *Tn402-like*, *Tn21* e *Int11* e *Int13*, incluindo cassetes gênicos de resistência (*In786*). (3) Disseminação de genes de serino-carbapenemases mediada por *Tn4401*, *IS26*, *integrons* e plasmídeos conjugativos, favorecendo a mobilização entre espécies bacterianas. (4) Persistência regional do gene *blaSPM-1* em *P. aeruginosa* ST277 no Brasil, associado a *IScr4*, e às ilhas genômicas *PAGI-15* e *PAGI-25*, relacionadas à adaptação bacteriana, persistência hospitalar e disseminação local.

A adaptação de CRPA em ambientes hospitalares e sua capacidade de selecionar resistência aos carbapenêmicos podem ser mediadas pela atuação concomitante de EGMs inseridos no seu genoma acessório bacteriano. Esse fenômeno é observado na mobilização do gene *blaNDM-1* flanqueado por *ISAba125* em *P. aeruginosa* (Fortunato *et al.*, 2023).

Inicialmente descrita em *A. baumannii*, a presença de *ISAba125* associada ao *blaNDM-1* em diferentes bactérias Gram-negativas sugere o compartilhamento de EGMs envolvidos na disseminação horizontal de determinantes de resistência (Fortunato *et al.*, 2023). Além da mobilização genética, fatores geográficos e pressão seletiva local também podem influenciar a adaptação e disseminação de genes de resistência, clones bacterianos e arranjos genéticos. O gene *blaSPM-1* (São Paulo metalo- β -lactamase-1) flanqueado por *IScr4* demonstra uma ocorrência predominante no Brasil em ST277 de *P. aeruginosa* (Fortunato *et al.*, 2023). Diferentemente de clones pandêmicos como ST235, ST111, ST175 e ST244, o clone ST277 apresenta características genéticas associadas à adaptação regional, incluindo as ilhas genômicas *PAGI-15* (*Pseudomonas aeruginosa* Genomic Island-15) e *PAGI-25* (*Pseudomonas aeruginosa* Genomic Island-25) (Esposito *et al.*, 2021).

Estudos genômicos demonstraram que isolados brasileiros de ST277 apresentam elementos acessórios singulares, incluindo *PAGI-15*, *PAGI-25*, *In163* e prevalência do sistema *CRISPR-Cas* tipo I-C, frequentemente associados a genes relacionados à resistência antimicrobiana, estabilidade genética e adaptação bacteriana (Rodrigues *et al.*, 2024). Essas características sugerem que a manutenção regional de *blaSPM-1* no Brasil possa estar relacionada não apenas à mobilização horizontal de genes, mas também à adaptação clonal do ST277 a pressões seletivas locais. A dinâmica evolutiva do mobiloma de *P. aeruginosa* evidencia que a participação de diferentes EGMs na aquisição e reorganização

genética pode expandir a disseminação de genes codificantes para carbapenemases tanto mundialmente quanto regionalmente (Fig. 2).

1.2.3 O papel dos plasmídeos conjugativos e disseminação de genes codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa*

A conjugação é considerada um dos principais mecanismos de transferência horizontal envolvidos na disseminação de plasmídeos, genes de resistência e EGMs entre bactérias Gram-negativas como *P. aeruginosa* (Pallares-Veja *et al.*, 2021). Esse mecanismo ocorre por conexão direta célula a célula entre bactérias de um mesmo gênero ou de gêneros diferentes (Zhu *et al.*, 2023). Bactérias multirresistentes são capazes de manter múltiplos plasmídeos simultaneamente, ampliando o repertório de genes de resistência (Halat; Moubareck., 2022).

Quatorze grupos de incompatibilidade em plasmídeos já são reconhecidos (*IncP-1–IncP-14*), entre eles *IncP-2*, *IncP-6* e *IncP-7* atuam na mobilização e disseminação de genes relacionados à resistência aos carbapenêmicos em *P. aeruginosa* (Ghazawi *et al.*, 2025). Em um hospital no México, foi identificado um plasmídeo carreador de *blaIMP-56* e *Int1* em um isolado STPE52 de *P. aeruginosa* que apresentava regiões homólogas ou sistemas relacionados aos grupos de incompatibilidade *IncP-2*, *IncP-6* e *IncP-7*, especialmente em genes envolvidos na replicação e partição plasmidial (Gómez-Martínez *et al.*, 2022).

A variante *blaIMP-4* foi encontrada em um plasmídeo conjugativo com regiões do esqueleto do tipo *IncN1* conservadas. Curiosamente, um esqueleto similar em megapasmídeos (tamanho >350 kb) foi observado nos genes *blaIMP-9* e *blaIMP-45* (Gómez-Martínez *et al.*, 2022). A similaridade das regiões conservadas sugere a ocorrência de eventos sucessivos de recombinação, aquisição e rearranjo gênico, favorecendo a possível circulação e adaptação de estruturas genéticas entre diferentes isolados de *P. aeruginosa* e a disseminação em ambientes hospitalares.

Na China, um megapasmídeo *IncP-2* resistente a carbapenêmicos (pOZ176), identificado em isolado clínico de *P. aeruginosa* (PA96), foi descrito carreando duas regiões distintas de resistência inseridas em *Int1*, *Tn6217* e *Tn6016*. Enquanto o *transposon Tn6016* abrigava o arranjo gênico *aacA4-blaIMP-9-aacA4*, relacionado à resistência a aminoglicosídeos e carbapenêmicos, *Tn6217* continha a sequência de inserção *IS6100* integrada ao cassete gênico *aacA4-catB8a-blaOXA-10*, associado

à resistência a aminoglicosídeos, cloranfenicol e carbenicilina, respectivamente (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi., 2025).

Parece que o plasmídeo *pOZ176* pode estar envolvido tanto em variantes genéticas quanto na transmissão de genes de resistência a carbapenêmicos em surtos causados por PA96. Além disso, a coexistência de múltiplos elementos genéticos em regiões distintas de resistência sugere que plasmídeos *IncP-2* possam atuar dinamicamente na reorganização e expansão do resistoma de *P. aeruginosa* em ambientes hospitalares. Na Índia, o gene *blaOXA-48* é predominante em Enterobacterales e foi identificado em *P. aeruginosa* em casos de coinfeção hospitalar por meio da detecção do gene *blaOXA-48* localizado em um plasmídeo não tipado (KIYAGA *et al.*, 2022). OXAs com capacidade de hidrolisar carbapenêmicos geralmente são adquiridas por plasmídeos (Abdelraheem; Ismail; Hammad, 2024), e essa mobilização plasmidial pode estar relacionada à sua disseminação mundial em diversas espécies bacterianas.

Na Bélgica, OXA-198 esteve associada a surtos hospitalares, onde o gene *blaOXA-198*, carregado pelo plasmídeo *IncP-11*, foi detectado em um *operon* de transferência que apresentava deleções parciais (Yoon; Jeong *et al.*, 2021), e isso possivelmente limitou sua disseminação horizontal. No Brasil, o plasmídeo pS810b, carreador de *blaVIM-2* e *blaIMP-13*, caracterizado por *IncP-7* e genes *aac(6)-Ib3*, *aadA1*, *sul1* e *tetC*, apresentava similaridade estrutural com o plasmídeo chinês *p1160-VIM*, carreador de *blaVIM-24*. Esse achado evidenciou a diversidade estrutural e evolutiva de plasmídeos associados à disseminação de carbapenemases em *P. aeruginosa* (Lopes *et al.*, 2022). A coexistência de genes codificantes para carbapenemases em plasmídeos independentes reforça o papel do mobiloma bacteriano na diversidade, manutenção e evolução de EGMs em *P. aeruginosa* (Lopes *et al.*, 2022).

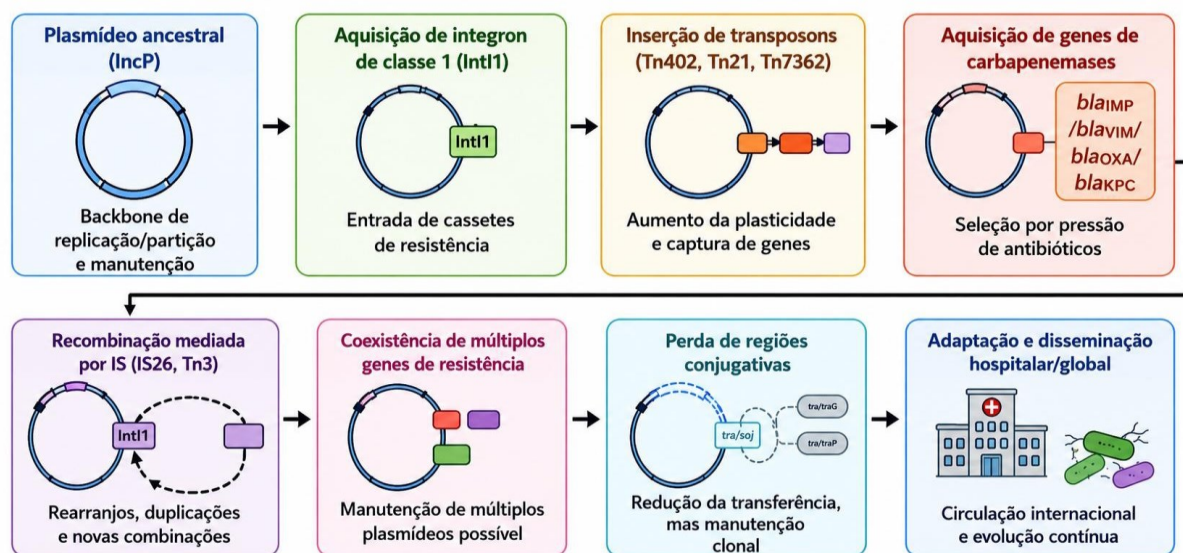
A trajetória evolutiva de plasmídeos pode ocorrer pela inserção de outros EGMs ao mobiloma, como no caso de *IncP-2* encontrado em um isolado clínico ST31 de *P. aeruginosa*, carreador dos genes *blaVIM-1* e *blaIMP-45*. Sua evolução ocorreu pela inserção de um *transposon* da família Tn3, portador de *blaVIM-1*, no plasmídeo *IncP-2* portador de *blaIMP-45* (MA *et al.*, 2025). Os plasmídeos parecem desempenhar papel central na incorporação, reorganização e coexpressão de múltiplos determinantes de resistência, favorecendo a expansão do resistoma

bacteriano e o surgimento de novos arranjos genéticos associados a fenótipos multirresistentes e à emergência de clones de alto risco. No México, a caracterização do plasmídeo *pPE52IMP*, carreador de *blaIMP-56* em uma ST clínica de *P. aeruginosa*, revelou a relação evolutiva entre *pPE52IMP* e outros 33 plasmídeos portadores de *blaKPC-2*, variantes de *blaVIM*, *blaOXA* e *blaIMP*, pertencentes à subfamília MOBP11 de *P. aeruginosa* (Gómez-Martínez *et al.*, 2022).

Além do compartilhamento de um mesmo clado filogenético, esses plasmídeos apresentaram elevada conservação genômica e inserção de genes de resistência, sugerindo que a circulação de diferentes plasmídeos com regiões genéticas semelhantes é capaz de modular o mobiloma de CRPA. Portanto, a mobilização de genes de resistência a carbapenêmicos em plasmídeos de *P. aeruginosa* parece estar relacionada à formação de rearranjos estruturais e ao aumento da plasticidade do mobiloma bacteriano. Isso pode ser observado no estudo de isolados clínicos de *P. aeruginosa* portadores de *blaKPC-2*, que comparou os plasmídeos *p1011-KPC2* e *pR31-KPC*, identificando dois módulos acessórios *IS26-blaKPC-2-IS26* e *IS26-Tn6376-IS26*. Em comparação, *p1011-KPC2* representa a estrutura mais completa, enquanto *pR31-KPC* corresponde a um plasmídeo menor, apresentando perda da região conjugativa (Yuan *et al.*, 2021).

Além disso, regiões localizadas entre os *iterons* (sequências repetitivas envolvidas na replicação plasmidial) e o gene *orf207* (marcador estrutural/região de referência), associado ao *backbone* estrutural e funcional básico do plasmídeo, foram apontadas como possíveis *hotspots* para aquisição de determinantes de resistência exógenos, sugerindo que a mobilização de *blaKPC-2* nesses plasmídeos pode ocorrer por mecanismos mediados pela família Tn3, por transposição associada a *IS26* ou por recombinação homóloga (Yuan *et al.*, 2021). Dessa forma, a evolução de plasmídeos em CRPA parece depender de uma rede integrada de eventos de recombinação, transposição e aquisição gênica, impactando na evolução do mobiloma bacteriano, na adaptação de fenótipos multirresistentes em ambiente hospitalar e na disseminação global de carbapenemases em *P. aeruginosa* (Fig. 3).

Figura 3 - Trajetória evolutiva de plasmídeos carreadores de genes codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa*.



Fonte: os autores, elaborado com auxílio de IA.

Nota: Modelo esquemático da evolução e reorganização de plasmídeos associados à disseminação de genes codificantes para carbapenemases em *P. aeruginosa*. O esquema ilustra a aquisição sucessiva de integrons de classe 1 (IntI1), transposons e genes de resistência em plasmídeos ancestrais, favorecendo aumento da plasticidade genética, rearranjos estruturais mediados por sequências de inserção e recombinação, coexistência de múltiplos determinantes de resistência e perda parcial de regiões conjugativas.

1.2.4 A influência de clones de alto risco na mobilização de genes de resistência

A recorrência de STs (Sequence Types), caracterizadas por MLST (Multilocus Sequence Typing) de *P. aeruginosa* em diferentes regiões geográficas sugere que a disseminação de CRPA não depende apenas da aquisição pontual de genes de resistência, mas também da expansão de linhagens com elevada capacidade de adaptação hospitalar. Clones de alto risco, como ST235, ST111, ST175, ST244, ST308 e ST357, são frequentemente associados a fenótipos MDR/XDR, produção de β -lactamases e circulação em surtos nosocomiais, o que reforça seu papel na manutenção global da resistência aos carbapenêmicos (Flores-Veja *et al.*, 2025).

Entre esses clones, ST235 permanece como a linhagem de maior disseminação internacional e uma das mais importantes na circulação de carbapenemases em *P. aeruginosa*. Estudos recentes relacionam ST235 à aquisição de diferentes β -lactamases, incluindo GES, VIM e outras carbapenemases, além de fenótipos MDR e presença de fatores de virulência, como *exoU*. Essa combinação

entre resistência, virulência e ampla distribuição geográfica pode explicar sua persistência em ambientes hospitalares e sua associação com falha terapêutica (Fethi *et al.*, 2023).

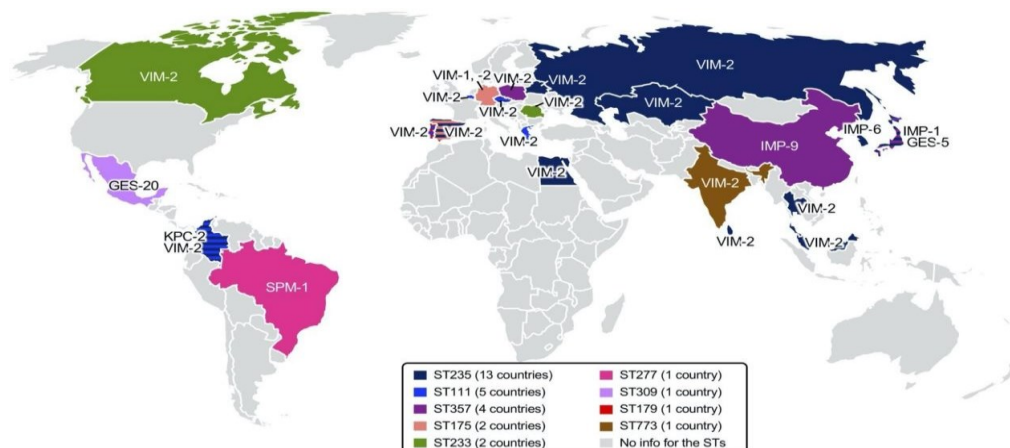
Outros clones globais, como ST111 e ST175, também apresentam relevância epidemiológica por sua circulação em ambientes clínicos e associação a fenótipos MDR/XDR. ST111 tem sido descrito como um dos clones de alto risco mais disseminados depois de ST235, enquanto ST175 é frequentemente relacionado à persistência hospitalar e à resistência extensiva. Esses dados indicam que diferentes clones podem alcançar sucesso epidemiológico por vias distintas, combinando resistência adquirida, adaptação ao ambiente hospitalar e capacidade de manutenção em populações clínicas (Libicsh *et al.*, 2025).

Em contraste, alguns STs apresentam disseminação mais regionalizada. ST277, por exemplo, é considerado um clone endêmico brasileiro associado à disseminação de *blaSPM-1* (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi., 2025), enquanto clones que exibem uma trajetória evolutiva marcada por deleções cromossômicas, como ST395, apresentam redução na sua disseminação (Gaubá; Rahman, 2023) e patogenicidade, permanecendo restritos a regiões específicas, como América do Norte, Europa e África (Wang *et al.*, 2021).

Essa disseminação regional também pode ser observada em ST463 associado à disseminação de *blaKPC-2*. ST463 é considerado endêmico na China e na Coreia (Dong *et al.*, 2025), diferenciando-se de clones globais que apresentam múltiplos genes de resistência em seu genoma. A distribuição dos STs sugere que o sucesso clonal em *P. aeruginosa* pode ocorrer tanto por expansão global de linhagens pandêmicas quanto por especialização regional de clones adaptados a contextos epidemiológicos específicos (Dos Santos *et al.*, 2023).

Dessa forma, os STs de alto risco representam unidades evolutivas centrais na epidemiologia de CRPA, pois integram resistência adquirida, plasticidade genômica e adaptação hospitalar, favorecendo a persistência e disseminação de carbapenemases em escala regional e global.

Figura 4. Distribuição global de clones de alto risco de *P. aeruginosa* associados a carbapenemases em diferentes regiões geográficas.



Fonte: adaptado de YOON; JEONG, 2021.

A pandemia de COVID-19 contribuiu para alterações significativas na epidemiologia de CRPA, principalmente em unidades de terapia intensiva, onde o aumento do uso de antimicrobianos, ventilação mecânica prolongada e superlotação hospitalar favoreceram a expansão de STs de alto risco (Sun *et al.*, 2023). Nesse contexto, linhagens como ST235, ST111 e ST463 foram frequentemente associadas a fenótipos MDR/XDR e à circulação de carbapenemases (Ghazawi *et al.*, 2025), sugerindo que a pressão seletiva imposta durante a pandemia pode ter favorecido a persistência de clones previamente adaptados ao ambiente hospitalar. Além da expansão clonal, a pandemia pode ter influenciado a reorganização do mobiloma bacteriano em CRPA (Protonotariou *et al.*, 2024).

O aumento da circulação de plasmídeos conjugativos, *integrons* de classe 1 e *transposons* associados a genes *blaVIM*, *blaIMP* e *blaKPC* durante o período pandêmico evidencia que a emergência de fenótipos multirresistentes não ocorreu exclusivamente pela disseminação de clones epidêmicos, mas também pela intensificação da transferência horizontal de genes mediada por EGMs (Tsilipounidaki *et al.*, 2023).

Esses dados reforçam a hipótese de que ambientes hospitalares submetidos à elevada pressão antimicrobiana durante a COVID-19 podem ter favorecido eventos recombinatórios e expansão do resistoma acessório em *P. aeruginosa*. Em paralelo, STs pandêmicos de *P. aeruginosa* demonstraram elevada capacidade de adaptação durante a pandemia ao acumularem simultaneamente determinantes de resistência,

fatores de virulência e elementos do mobiloma associados à persistência clínica (Luo *et al.*, 2025).

Estudos genômicos recentes indicam que a coexistência entre carbapenemases, ilhas genômicas e plasmídeos conjugativos em STs de alto risco pode ter ampliado sua capacidade de sobrevivência e disseminação em ambientes clínicos, contribuindo para surtos hospitalares prolongados e aumento das taxas de mortalidade associadas à CRPA no período pós-pandêmico (Findlay *et al.*, 2024).

A ocorrência de genes de resistência coexistindo em um mesmo ST em diferentes regiões evidencia a complexidade do resistoma e mobiloma de *P. aeruginosa*. A Tab. 3 sintetiza estudos recentes (2022–2026), reunindo informações sobre os genes codificantes para carbapenemases divididos em classes de Ambler, distribuição geográfica, associação com clones de alto risco (MLST) e presença simultânea de múltiplos mecanismos de resistência.

Tabela 2 - Genes de carbapenemases reportadas em *P. aeruginosa* (2022-2026).
(continua)

Classe A – serino-β-lactamases				
Gene codificante para carbapenemase	Região	MLST	Coexistência de genes de carbapenemases	Referência
<i>blaGES-1</i>	Brasil	ST3079	<i>blaKPC-2</i>	Galdino <i>et al.</i> , 2026
<i>blaKPC-2</i>	Brasil	ST235	<i>blaOXA-129</i>	Valiatti <i>et al.</i> , 2024
<i>blaKPC-33</i>	China	ST235, ST463, ST1076	<i>blaKPC-100, blaKPC-201</i>	Hu <i>et al.</i> , 2024
<i>blaGES-5,</i>	China	ST463	<i>blaKPC-2</i>	Li <i>et al.</i> , 2023
<i>blaKPC-2</i>	Brasil	_____	<i>blaNDM, blaOXA-48</i>	Almeida <i>et al.</i> , 2026
<i>blaGES-6</i>	Portugal	ST235	<i>blaPDC-35, blaOXA- 488</i>	De Sousa <i>et al.</i> , 2025
<i>blaKPC-2, blaKPC-35</i>	Espanha, Peru	ST179	<i>blaIMP-16</i>	Viñes <i>et al.</i> , 2024
<i>blaGES-5, blaGES-45</i>	Tunísia	ST235	<i>blaVIM-11</i>	Fethi <i>et al.</i> , 2023
<i>blaKPC-2</i>	China	ST463	<i>blaOXA-246, blaOXA-486</i>	Sun <i>et al.</i> , 2023

Tabela 2 - Genes de carbapenemases reportadas em *P. aeruginosa* (2022-2026).
(conclusão)

<i>blaKPC-2</i>	China	ST2374	<i>blaVIM-2</i>	Zheng <i>et al.</i> , 2025
<i>BlaKPC</i>	Sudão		<i>blaNDM</i> , <i>blaVIM</i> ,	Mohamed <i>et al.</i> , 2023
Classe B – Metallo-β-lactamases				
<i>blaNDM-1</i>	Paquistão	ST235 , ST277, ST234, ST170, ST381, ST175 , ST1455 ST1963, ST313, ST207, ST664, ST357, ST348	<i>blaOXA-48</i>	Al-Alaq <i>et al.</i> , 2022
<i>blaIMP-1</i>	Paquistão	ST235 , ST234, ST381, ST207	<i>blaVIM-1</i>	Al-Alaq <i>et al.</i> , 2022
<i>blaVIM-1</i>	Paquistão	ST235 , ST234, ST277, ST170	<i>blaOXA-48</i> , <i>blaIMP</i>	Al-Alaq <i>et al.</i> , 2022
<i>blaNDM-1</i>	Grécia	ST773, ST308	<i>blaPAO</i> , <i>blaOXA-10</i> , <i>blaOXA-488</i>	Tsilipounidaki <i>et al.</i> , 2023
<i>blaNDM-1</i>	Grécia	ST235	<i>blaVIM-2</i>	Protonotariou <i>et al.</i> , 2024
<i>blaVIM</i>	Egito		<i>blaOXA-48</i>	Abdelraheem <i>et al.</i> , 2024
<i>blaIMP-45</i>	China		<i>blaAFM-3</i>	Zhong <i>et al.</i> , 2025
<i>blaVIM-2</i>	Suíça	ST111 , ST175 , ST233, ST235, ST244, ST357 ST446, ST773, ST395, ST621, ST740, ST1047	<i>blaNDM-1</i>	Findlay <i>et al.</i> , 2024
<i>blaNDM-1</i>	África do Sul	ST773	<i>blaOXA</i> , <i>blaKPC</i>	Luo <i>et al.</i> , 2025
<i>blaIMP-45</i> <i>blaVIM-1</i>	China	ST313	<i>blaIMP-45</i> <i>blaVIM-1</i>	Ma <i>et al.</i> , 2024
<i>blaNDM-1</i>	Nigéria		<i>blaOXA-48</i>	Olayiwola <i>et al.</i> , 2024
<i>blaIMP-100</i> <i>blaVIM-4</i>	Bulgária		<i>blaIMP-100</i> , <i>blaVIM-4</i>	Stoikov <i>et al.</i> , 2023
Classe D – Oxacilinas				
<i>blaOXA-48</i>	Paquistão	ST235 , ST277, ST234, ST170, ST381, ST175 , ST1455 ST1963 ST313, ST207, ST664, ST357, ST348	<i>blaVIM-1</i> , <i>blaNDM-1</i>	Al-Alaq <i>et al.</i> , 2022
<i>blaOXA-129</i>	Brasil	ST235	<i>blaKPC-2</i>	Valiatti <i>et al.</i> , 2024
<i>blaOXA-48</i>	Egito		<i>blaVIM</i> , <i>blaNDM</i> , <i>blaKPC</i> , <i>blaIMP</i>	Abdelraheem <i>et al.</i> , 2024

Fonte: os autores, 2026.

Os achados desta revisão indicam que a disseminação de carbapenemases em *P. aeruginosa* não é um processo uniforme, mas resulta da interação entre diferentes estratégias evolutivas dinâmicas. Os arranjos estruturais formados ao longo do tempo passaram a carrear múltiplos determinantes de resistência, ampliando o mobiloma e o resistoma de *P. aeruginosa* e favorecendo a adaptação desses genes a diferentes clones de alto risco e nichos epidemiológicos.

A manutenção genética é garantida por mecanismos como integração ao genoma, estabilidade plasmidial e pressão seletiva exercida pelo uso de antimicrobianos, contribuindo para a adaptação e disseminação de CRPA em diferentes contextos epidemiológicos. Apesar dos avanços no entendimento do mobiloma, da plasticidade genômica e dos clones de alto risco, é necessário aprofundar a compreensão desses processos em contextos regionais e hospitalares. Estudos genômicos locais são importantes para elucidar a dinâmica de disseminação de genes de carbapenemases, identificar padrões regionais e contribuir para estratégias de controle e contenção de genes de resistência em escala global, além de favorecer a integração entre dados genômicos, a otimização da vigilância genômica associada ao monitoramento epidemiológico para genes de carbapenemases, a detecção de surtos e a rastreabilidade da disseminação clonal.

REFERÊNCIAS

ABDELRAHEEM, Wedad M.; ISMAIL, Doaa Elzaeem; HAMMAD, Safaa S. Prevalence of bla OXA-48 and other carbapenemase encoding genes among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Egypt. **BMC Infectious Diseases**, v. 24, n. 1, p. 1278, 2024.

AL-ALAQ, Farah Tareq *et al.* Investigation of blaIMP-1, blaVIM-1, blaOXA-48 and blaNDM-1 carbapenemase encoding genes among MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 14, n. 3, p. 740, 2022.

BARTH, Patricia Orlandi *et al.* Increased rates of bla NDM in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital in southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 29, p. 104523, 2025.

BIGGEL, Michael *et al.* PorinPredict: in silico identification of OprD loss from WGS data for improved genotype-phenotype predictions of *P. aeruginosa* carbapenem resistance. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 2, p. 03588-22, 2023.

CROSS, Bethany J.; PARTRIDGE, Sally R.; SHEPPARD, Anna E. Impacts of mobile genetic elements on antimicrobial resistance genes in gram-negative pathogens: Current insights and genomic approaches. **Microbiological Research**, p. 128340, 2025.

DE ALMEIDA, Vitelhe Ferreira *et al.* Unveiling a new sequence type in high-risk clonal complexes of virulent carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying blaKPC-2, blaNDM and bla_{oxa}-48. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 56, 2026.

DE PASCALE, Gennaro *et al.* Incidence of hospital-acquired infections due to carbapenem-resistant Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients in Italy: a multicentre prospective cohort study. **Critical Care**, v. 29, n. 1, p. 32, 2025.

DONG, Xu *et al.* Genomic insights into the rapid rise of *Pseudomonas aeruginosa* ST463: A high-risk lineage's adaptive strategy in China. **Virulence**, v. 16, n. 1, p. 2497901, 2025.

DOS SANTOS, Pablio Antonny Silva *et al.* The prevalence of metallo-beta-lactamase-(MβL)-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, p. 2366, 2023.

DOUMITH, Michel *et al.* Genomic characterization of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Saudi Arabia revealed a global dissemination of GES-5-producing ST235 and VIM-2-producing ST233 sub-lineages. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 765113, 2022.

ELENA, Alan *et al.* Genomic characterization of blaVIM-11-harboring plasmids recovered from *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 36, p. 190-192, 2024.

ELFADADNY, Ahmed *et al.* Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1374466, 2024.

ESPINOZA PESANTEZ, Diana Isabel; ESPARZA SANCHEZ, German Francisco. Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. **Revista Chilena de Infectología**, v. 38, n. 1, p. 69-80, 2021.

ESPOSITO, Fernanda *et al.* Genomic analysis of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urban rivers confirms spread of clone sequence type 277 carrying broad resistome and virulome beyond the hospital. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 701921, 2021.

FALAGAS, Matthew E. *et al.* Global epidemiology and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Gram-negative clinical isolates: a review. **Microorganisms**, v. 13, n. 7, p. 1697, 2025.

FANG, Yinfei *et al.* An XDR *Pseudomonas aeruginosa* ST463 strain with an IncP-2 plasmid containing a novel transposon Tn6485f encoding blaIMP-45 and blaAFM-1 and a second plasmid with two copies of blaKPC-2. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 1, p. 04462, 2023.

FENG, Jie *et al.* Evolution of Resistant Mutants in *Pseudomonas aeruginosa* Persister Cells Under Meropenem Treatment. **Microorganisms**, v. 13, n. 7, p. 1672, 2025.

FETHI, Meha *et al.* High prevalence of GES-5 variant and co-expression of VIM-2 and GES-45 among clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains in Tunisia. **Antibiotics**, v. 12, n. 9, p. 1394, 2023.

FINDLAY, Jacqueline *et al.* Molecular analysis of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Switzerland 2022–2023. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 43, n. 3, p. 551-557, 2024.

FLORES-VEGA, Verónica Roxana *et al.* High-risk *Pseudomonas aeruginosa* clones harboring β -lactamases: 2024 update. **Heliyon**, v. 11, n. 1, 2025.

FORERO-HURTADO, Daniela *et al.* Worldwide dissemination of blaKPC gene by novel mobilization platforms in *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review. **Antibiotics**, v. 12, n. 4, p. 658, 2023.

FORTUNATO, Gianuario *et al.* Insight into phylogenomic bias of blaVIM-2 or blaNDM-1 dissemination amongst carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 61, n. 5, p. 106788, 2023.

GALDINO, Emanuelle Leite *et al.* Genomic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* carrying blaGES-1 and blaKPC-2 isolated from bloodstream infection in Rondônia. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 30, p. 104634, 2026.

GALGANO, Michela *et al.* Acquired bacterial resistance to antibiotics and resistance genes: from past to future. **Antibiotics**, v. 14, n. 3, p. 222, 2025.

GAUBA, Anusha; RAHMAN, Khondaker Miraz. Evaluation of antibiotic resistance mechanisms in gram-negative bacteria. **Antibiotics**, v. 12, n. 11, p. 1590, 2023.

GHAZAWI, Akela *et al.* Comparative genomic study of blaKPC-2-carrying multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United Arab Emirates. **Scientific Reports**, 2025.

GÓMEZ-MARTÍNEZ, Jessica *et al.* A plasmid carrying blaIMP-56 in *Pseudomonas aeruginosa* belonging to a novel resistance plasmid family. **Microorganisms**, v. 10, n. 9, p. 1863, 2022.

GREIČIUS, Paulius *et al.* Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Lithuania, 2023: a multi-cluster, multi-hospital outbreak. **Eurosurveillance**, v. 29, n. 16, p. 2400188, 2024.

GROSJEAN, Mélanie *et al.* Reassessment of the cooperativity between efflux system MexAB-OprM and cephalosporinase AmpC in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactams. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. 2, p. 536-539, 2021.

GUO, Zhiyun *et al.* IS26 carrying blaKPC-2 mediates carbapenem resistance heterogeneity in extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical sites. **Mobile DNA**, v. 16, p. 13, 2025.

HALAT, Dalal Hammoudi; MOUBARECK, Carole Ayoub. The intriguing carbapenemases of *Pseudomonas aeruginosa*: current status, genetic profile, and global epidemiology. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 95, n. 4, p. 507, 2022.

HALAWA, Esraa M. *et al.* Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1305294, 2024.

HU, Yanyan *et al.* KPC variants conferring resistance to ceftazidime-avibactam in *Pseudomonas aeruginosa* strains. **Microbiological Research**, v. 289, p. 127893, 2024.

KARAMPATAKIS, Theodoros; TSERGOULI, Katerina; BEHZADI, Payam. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*'s resistome: pan-genomic plasticity, the impact of transposable elements and jumping genes. **Antibiotics**, v. 14, n. 4, p. 353, 2025.

KIYAGA, Shahiid *et al.* Genetic diversity, distribution, and genomic characterization of antibiotic resistance and virulence of clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains in Kenya. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 835403, 2022.

LIBISCH, Balázs *et al.* Detection of the ST111 Global High-Risk *Pseudomonas aeruginosa* Clone in a Subway Underpass. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 47, n. 7, p. 532, 2025.

LI, Yue *et al.* blaKPC-2 overexpression and blaGES-5 carriage as major

imipenem/relebactam resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones ST463 and ST235, respectively, in China. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 67, n. 11, p. e00675-23, 2023.

LI, Yan *et al.* The evolution of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the COVID-19 era: A global perspective and regional insights. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 65, n. 5, p. 107466, 2025.

LIU, Fan *et al.* Current examining methods and mathematical models of horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1371388, 2024.

LOPES, Ralf Bruno Moura; FURLAN, João Pedro Rueda; STEHLING, Eliana Guedes. Acquisition of blaIMP-13 on a novel IncP-7 plasmid in XDR VIM-2-positive *Pseudomonas aeruginosa* belonging to the global high-risk clone ST235 in an agricultural ecosystem [Carta]. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 30, p. 403-405, 2022.

LUO, Ting L. *et al.* Recurring acquisition of carbapenemase genes and global emergence of *Pseudomonas aeruginosa* ST-1047, a lineage shaped by geopolitical conflicts. **mBio**, v. 16, n. 11, p. e02020-25, 2025.

MA, Yiqun *et al.* Tracing the evolutionary trajectory of the IncP-2 plasmid co-harboring blaIMP-45 and blaVIM-1: an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* co-producing IMP-45 and VIM-1 carbapenemases in China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, p. 1623241, 2025.

MA, Wei *et al.* Characterization of the chromosomally located metallo- β -lactamase genes blaIMP-45 and blaVIM-2 in a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. **Microbial Drug Resistance**, v. 30, n. 10, p. 422-431, 2024.

MICHAELIS, Claudia; GROHMANN, Elisabeth. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 328, 2023.

MOHAMED, Salma *et al.* Co-occurrence of Carbapenemase Genes blaNDM, blaVIM, blaKPC, and blaOXA-48 in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. **International Journal of Biomedicine**, v. 13, n. 3, p. 123-126, 2023.

OLAYIWOLA, Olusola John *et al.* Occurrence of the blaNDM-1 and blaOXA-48 producing *Pseudomonas* spp. Isolated from the Urine of the Out-patients.

PALLARES-VEGA, Rebeca *et al.* Temperature and nutrient limitations decrease transfer of conjugative IncP-1 plasmid pKJK5 to wild *Escherichia coli* strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 656250, 2021.

POIREL, L.; NORDMANN, P. Carbapenem resistance in Enterobacterales: a major concern worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 28, n. 2, p. 227-235, 2022.

PROTONOTARIOU, Efthymia *et al.* Rapid reversal of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* epidemiology from blaVIM- to blaNDM-harbouring isolates

in a Greek tertiary care hospital. **Antibiotics**, v. 13, n. 8, p. 762, 2024.

QI, Qin *et al.* Identification of integrons and gene cassette-associated recombination sites in bacteriophage genomes. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1091391, 2023.

QIN, Shugang *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 199, 2022.

RAMATLA, Tsepo *et al.* Global prevalence and antibiotic resistance profiles of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* reported from 2014 to 2024: A systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1599070, 2025.

RODRIGUES, Yan Corrêa *et al.* Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Antibiotics**, v. 13, n. 10, p. 983, 2024.

ROLO, Marta *et al.* Clinical impact of time-to-positivity of blood cultures on mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 30, p. 269-275, 2022.

RUEDAS-LÓPEZ, Alba *et al.* Selection of AmpC β -lactamase variants and metallo- β -lactamases leading to ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam resistance during treatment of MDR/XDR *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, n. 2, p. 02067-21, 2022.

DE SOUSA, Telma *et al.* BlaGES-6 producing *Pseudomonas aeruginosa* ST235 is involved in resistance to different β -lactams. **Microbial Pathogenesis**, p. 107962, 2025.

STOIKOV, Ivan *et al.* Genomic characterization of IMP-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Bulgaria reveals the emergence of IMP-100, a novel plasmid-mediated variant coexisting with a chromosomal VIM-4. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, p. 2270, 2023.

SUN, Long *et al.* Genomic and phylogenetic analysis of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST463 strain co-carrying blaKPC-2, blaOXA-246, and blaOXA-486 in China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 33, p. 301-303, 2023.

TSILIPOUNIDAKI, Katerina *et al.* First detection and molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* blaNDM-1 ST308 in Greece. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, p. 2159, 2023.

VALIATTI, Tiago Barcelos *et al.* Genomic analysis of a *Pseudomonas aeruginosa* strain harbouring blaKPC-2 and blaOXA-129 belonging to high-risk clone ST235 in Brazil. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 37, p. 69-71, 2024.

VIÑES, Joaquim *et al.* Emergence of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST179 producing both IMP-16 and KPC-2: a case study of introduction from Peru to Spain. **Microbiology Spectrum**, v. 12, n. 6, p. e00614-24, 2024.

WANG, Maofeng *et al.* Loss of OprD function is sufficient for carbapenem-resistance-only but insufficient for multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **BMC Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 218, 2025.

WANG, Min-Ge *et al.* Retrospective data insight into the global distribution of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 548, 2021.

WANG, Xiaoli *et al.* Transmission of nonconjugative virulence or resistance plasmids mediated by a self-transferable IncN3 plasmid from carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 4, p. 01364-22, 2022.

XIAO, Shuzhen *et al.* Incidence, antimicrobial resistance and mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections among hospitalized patients in China: a retrospective observational multicenter cohort study from 2017 to 2021. **Frontiers in Public Health**, v. 11, p. 1294141, 2024.

YOON, Eun-Jeong; JEONG, Seok Hoon. Mobile carbapenemase genes in *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 614058, 2021.

YUAN, Min *et al.* Characterization of blaKPC-2-carrying plasmid pR31-KPC from a *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated in China. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1234, 2021.

ZHENG, Lin *et al.* Genomic features and fitness cost of co-existence of blaKPC-2 and blaVIM-2 plasmids in ICU-derived pan-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, p. 1617614, 2025.

ZHONG, Yu-Xia *et al.* First report of chromosomal co-occurrence of blaAFM-3 and blaIMP-45 genes in a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 45, p. 35-40, 2025.

ZHU, Shuyao *et al.* Augmented dissemination of antibiotic resistance elicited by non-antibiotic factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 262, p. 115124, 2023.

CAPÍTULO 2 - ANÁLISES GENÔMICAS E FENOTÍPICAS DA RESISTÊNCIA MEDIADA POR CARBAPENEMASES E DA DIVERSIDADE CLONAL DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* DO SUL DO BRASIL

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico Current Microbiology. *

Anexo 1, Capítulo 2 Análises genômicas e fenotípicas da resistência mediada por carbapenemases e da diversidade clonal de isolados clínicos de Pseudomonas aeruginosa do sul do Brasil Bruna Mezzomo Bejes¹, Marcelo Ricardo Vicari², Viviane Nogaroto², Larissa Bail³, Lavinia Nery Villa Stangler Arend⁴, Keite da Silva Nogueira⁵, Sônia Alvim Veiga Pileggi², Felipe Francisco Tuon⁶, Carmen Antonia Sanches Ito³, Luiz Ricardo Olchanheski⁷, Marcos Pileggi^{1,2}

1 Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2 Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética, Universidade Estadual de Ponta Grossa; 3 Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Estadual de Ponta Grossa; 4 Laboratório Central do Estado do Paraná; 5 Departamento de Patologia Básica do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná; 6 Laboratório de Doenças Infecciosas Emergentes, Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Rua Imaculada Conceição; 7 Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá.

RESUMO

Pseudomonas aeruginosa é um importante patógeno oportunista associado à alta morbidade em pacientes hospitalizados devido aos seus mecanismos de resistência intrínseca e adquirida. A resistência aos carbapenêmicos, frequentemente mediada pela produção de carbapenemases, representa um desafio terapêutico crítico em todo o mundo. Este estudo investigou a organização genômica, a diversidade molecular e a disseminação mediada por plasmídeos dos genes da carbapenemase em isolados de *P. aeruginosa* de hospitais no Paraná e Santa Catarina, Brasil, e explorou sua correlação com os perfis fenotípicos de resistência. Oito isolados (80%) foram classificados como extensivamente resistentes a medicamentos (XDR), apresentando ampla resistência a β -lactâmicos, carbapenêmicos e combinações de β -lactâmicos/inibidores de β -lactamase. A tipagem de sequência multilocus revelou uma estrutura clonal heterogênea, sendo o ST1560 o tipo predominante (30%). Múltiplos genes de β -lactamase foram identificados, incluindo variantes cromossômicas de *blaPDC*, *blaOXA-50*, e genes de carbapenemase *blaSPM-1*, *blaIMP-16*, *blaIMP-39*, *blaVIM-2*, *blaKPC-2* e *blaNDM-1*. Notavelmente, 40% dos isolados carregavam genes de carbapenemases plasmidiais, indicando um potencial para transferência horizontal de genes. O isolado 20783 exibiu alta resistência apesar da ausência de genes adicionais de carbapenemases, sugerindo mecanismos alternativos como efluxo ou perda de porinas. A predominância de *P. aeruginosa* XDR, que abriga diversas carbapenemases, incluindo determinantes mediados por plasmídeos, ressalta a complexidade da resistência antimicrobiana em hospitais brasileiros. A coexistência de múltiplos mecanismos de resistência, juntamente com

a heterogeneidade clonal, destaca a necessidade urgente de vigilância genômica integrada e estratégias de controle de infecção direcionadas para mitigar a disseminação de *P. aeruginosa* multirresistente em ambientes clínicos.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana; vigilância genômica; resistência mediada por plasmídeos; sequenciamento de genoma completo.

2.1 INTRODUÇÃO

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria Gram-negativa não fermentadora que pode formar biofilmes e produzir fatores de virulência, incluindo exotoxina A, elastase, proteases e piocianina, que contribuem para danos teciduais e evasão imunológica (Pajaro-Castro; Diaz-Morales; Hoyos, 2025). Clinicamente, está associada a pneumonia, infecções do trato urinário, infecções do sítio cirúrgico, endocardite e septicemia, particularmente em pacientes imunocomprometidos ou com uso prolongado de cateter, levando a alta morbidade e internações hospitalares prolongadas (Pajaro-Castro; Diaz-Morales; Hoyos, 2025, Schwartz *et al.*, 2024).

Sua linhagem exibe resistência intrínseca por meio de baixa permeabilidade da membrana externa, bombas de efluxo, perda de porinas e enzimas inativadoras de antibióticos, e pode adquirir genes de resistência adicionais, incluindo β -lactamases de espectro estendido e carbapenemases, limitando ainda mais as opções de tratamento (Khan; Khan; Khan, 2025).

As STs resistentes a todos os agentes antipseudomonas de primeira linha são classificadas como *P. aeruginosa* com resistência de difícil tratamento (DTR-PA) e (Cosentino; Viale; Giannella, 2023), abrangendo β -lactâmicos/inibidores de β -lactamase, cefalosporinas de espectro estendido, carbapenêmicos e fluoroquinolonas (Walker *et al.*, 2025, Tamma *et al.*, 2024). Os carbapenêmicos são agentes de última linha para *P. aeruginosa* multirresistente. Ainda assim, a resistência aumentou devido à produção de carbapenemases, incluindo metalo- β -lactamases de classe A (*blaKPC*), classe D (*blaOXA*) e classe B (*blaVIM*, *blaIMP*, *blaNDM*, *blaSPM*), que são frequentemente carregadas em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, *integrans* e *transposons* (Dos Santos *et al.*, 2023; Zheng *et al.*, 2025).

A detecção desses genes geralmente requer técnicas moleculares avançadas,

como PCR multiplex ou sequenciamento de genoma completo, que nem sempre estão prontamente disponíveis na prática clínica de rotina. Este estudo visa examinar as relações entre organização genotípica, diversidade genética e padrões de resistência antimicrobiana, com foco em potenciais adaptações evolutivas impulsionadas por pressões clínicas seletivas. A investigação utiliza o modelo de produção de carbapenemase em isolados de *P. aeruginosa* obtidos de ambientes hospitalares.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Coleta de isolados de CRPA

Isolados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos foram coletados entre janeiro de 2014 e setembro de 2018 em instituições de saúde nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. A identificação bacteriana foi realizada por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF VITEK® MS, bioMérieux), seguindo as instruções do fabricante. Um total de 300 isolados bacterianos foram obtidos com sucesso, dos quais 10 foram selecionados para perfil de suscetibilidade antimicrobiana e análises genômicas.

A autorização para acesso aos recursos genéticos, em conformidade com a legislação brasileira, está registrada sob o número SISGEN A2F33C6. Os genomas completos das linhagens foram depositados no banco de dados GenBank/NCBI sob o número de acesso PRJNA1347049.

2.2.2 Teste de suscetibilidade antimicrobiana

As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) foram determinadas utilizando o método de microdiluição em caldo, de acordo com a diretriz M07-A10 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2015), empregando caldo Mueller-Hinton ajustado com cátions (BD Difco™, Sparks, MD). Os seguintes antimicrobianos foram testados: meropenem (MER), imipenem (IMI), cefepima (CFP), ceftazidima (CAZ), amicacina (AMI), aztreonam (ATM), ciprofloxacina (CIP), colistina (COL), piperacilina/tazobactam (PIP/TAZ), polimixina B (PLB), ceftazidima/avibactam (CAZ/AVI), ceftolozano/tazobactam (CTZ/TAZ) e imipenem/relebactam (IMI/REL).

A ceftazidima e o avibactam foram fornecidos pela Pfizer Inc. (Peapack, NJ), e o tazobactam, o imipenem e o relebactam pela Merck & Co., Inc. (Kenilworth, NJ). Todos os outros antimicrobianos foram obtidos de fontes comerciais (Sigma Co., St. Louis, MO). Os critérios para classificar as STs como DTR-PA foram resistência à ceftazidima (≥ 32 mg/L), aztreonam (≥ 32 mg/L), piperacilina/tazobactam ($\geq 64/4$ mg/L), imipenem (≥ 8 mg/L) ou ciprofloxacina (≥ 2 mg/L). A determinação da suscetibilidade antimicrobiana foi realizada de acordo com a diretriz M100-Ed35 do CLSI (CLSI, 2025).

2.2.3 Detecção de genes de carbapenemase por qRT-PCR

Os genes que codificam carbapenemases foram identificados utilizando os protocolos descritos por Swayne *et al.* (Swayne *et al.*, 2013), com reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) empregada para detectar *blaSPM*, *blaIMP*, *blaVIM*, *blaKPC* e *blaNDM*. Duas reações multiplex foram realizadas: Multiplex 1 para *blaKPC*, *blaNDM* e *blaIMP*, e *multiplex 2* para *blaSPM* e *blaVIM*. Isolados que não apresentaram amplificação para nenhum dos genes-alvo foram classificados como não produtores de carbapenemase.

2.2.4 Sequenciamento de genoma completo e análise bioinformática

O DNA genômico foi extraído utilizando o *kit Wizard® HMW DNA Extraction* (Promega) a partir de culturas bacterianas cultivadas em caldo BHI, seguido de centrifugação para concentração e lavagem. A quantificação e avaliação da pureza do DNA foram realizadas utilizando um fluorômetro *Qubit (ThermoFisher Scientific, Mississauga, ON, Canadá)* para análise fluorométrica. As bibliotecas de sequenciamento foram preparadas utilizando o *kit Illumina DNA Prep (Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA)* de acordo com as instruções do fabricante, e o sequenciamento de genoma completo foi realizado na plataforma *Illumina NovaSeq 6000* (OGC, Oxford, Reino Unido) utilizando kits de reagentes *NovaSeq SP* (300 ciclos, leituras pareadas).

Aproximadamente 40 milhões de leituras pareadas de 100 bases foram geradas por isolado. A qualidade do sequenciamento foi avaliada utilizando o *FastQC v0.12.1* (ANDREWS *et al.*, 2010), e as leituras foram aparadas e filtradas utilizando

o *Trimmomatic* v0.39 (Bolger; Lohse; Usadel, 2014) com parâmetros que retêm leituras com $\geq 90\%$ das bases sequenciadas e pontuações Phred ≥ 33 .

As montagens do genoma foram realizadas usando o *Unicycler* v 0.4.8 (Wick *et al.*, 2017), e a qualidade da montagem foi avaliada com o *QUAST* v 5.2.0 (Mikheenko *et al.*, 2018). A tipagem de sequência *multilocus* (MLST) foi realizada a partir de genomas de rascunho montados usando o software MLST. Cada genoma de rascunho (formato FASTA) foi analisado em relação ao esquema MLST de *P. aeruginosa* obtido do banco de dados PubMLST (<https://pubmlst.org/organisms/pseudomonas-aeruginosa>).

O software identificou automaticamente os perfis alélicos para os sete genes de manutenção (*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* e *trpE*) e atribuiu o tipo de sequência (ST) correspondente com base na combinação alélica. Genomas com chamadas alélicas ambíguas foram inspecionados manualmente alinhando as regiões gênicas correspondentes aos alelos de referência usando *BLASTn*. Genes de resistência antimicrobiana foram identificados usando o banco de dados *ABRicate* v1.0.0 e a predição de plasmídeos foi realizada usando MOB-suite v3.1.9 (Robertson; Nash, 2018).

2.3 RESULTADOS

As 10 STs de *P. aeruginosa* selecionadas para caracterização genotípica, com base em seus perfis de resistência a CAZ/AVI, CEF/TAZ e IMI/REL, incluíram sete isolados resistentes e três sensíveis a pelo menos um desses antibióticos. Entre os isolados selecionados, 20% foram recuperados de pacientes do sexo feminino e 80% de pacientes do sexo masculino. A maioria dos pacientes (70%) tinha mais de 35 anos, enquanto 30% tinham entre 17 e 28 anos de idade.

Em relação ao tipo de amostra clínica, 40% dos isolados foram obtidos de aspirados traqueais, 30% de amostras de urina, 20% de amostras de sangue e 10% de lavado broncoalveolar. Todos os pacientes (100%) haviam recebido antibioticoterapia prévia antes do isolamento de *P. aeruginosa*.

2.3.1 Caracterização genômica e tipagem de sequência de isolados de *P. aeruginosa*

O sequenciamento e a montagem do genoma completo foram realizados para

todos os dez isolados de *P. aeruginosa*. Leituras pareadas de alta qualidade foram obtidas, com valores de Q20 superiores a 98% para todas as amostras, indicando alta precisão de sequenciamento. O número total de bases sequenciadas por isolado variou de aproximadamente 6,4 a 7,1 Mb, consistente com o tamanho esperado do genoma para *P. aeruginosa*, e o conteúdo de GC variou de 65,65% a 66,33% (Material Suplementar, Tabela S1).

As montagens do genoma demonstraram alta contiguidade e cobertura entre os isolados (Material Suplementar, Tabela S1), fornecendo profundidade suficiente para análises subsequentes confiáveis, incluindo tipagem de sequência *multilocus* e detecção de determinantes de resistência. A tipagem de sequência *multilocus* revelou que o ST1560 foi o tipo de sequência mais prevalente, representando 30% (3/10) dos isolados, seguido pelo ST274, representado por dois isolados.

Os demais tipos de sequência, ST1816, ST244, ST277, ST253 e ST532, foram representados por um único isolado cada. Essa distribuição indica uma população heterogênea de *P. aeruginosa* circulando entre os hospitais amostrados, com o ST1560 representando a linhagem dominante nessa coleção (Fig. 1a).

2.3.2 Caracterização fenotípica e genotípica da resistência a β -lactâmicos em *P. aeruginosa*

Todos os isolados foram identificados como *P. aeruginosa* e apresentaram alto nível de resistência a β -lactâmicos, bem como a diversas outras classes de antibióticos. Sete dos dez isolados (17744, 20589, 21715, 19331, 17683, 21675 e 20783) foram classificados como DTR-PA, apresentando não suscetibilidade a todos os agentes antipseudomonas de primeira linha testados (Fig. 1). Em contraste, os isolados 13697, 13050 e 18480 não atenderam aos critérios DTR, exibindo suscetibilidade ou respostas intermediárias a pelo menos um antibiótico de primeira linha (Fig. 1a, b; Material Suplementar, Tabela S2).

O perfil fenotípico revelou alta resistência a CAZ/AVI, CEF/TAZ e IMI/REL entre os sete isolados produtores de carbapenemase (Fig. 1). A análise fenotípica mostrou que cinco isolados abrigavam metalo- β -lactamases explicando sua resistência a novas combinações de β -lactâmicos/inibidores de β -lactamase. Três isolados (17744, SPM-1; 20589, NDM-1; 21715, VIM-2) foram classificados como DTR, enquanto dois isolados (13050, IMP-1; 18480, IMP-16) foram classificados

como não-DTR, permanecendo suscetíveis a aztreonam e ciprofloxacina, respectivamente.

Os isolados 19331 e 17683 carregavam o gene *blaKPC*; ambos eram DTR e demonstraram resistência a CAZ/AVI e IMI/REL. Três isolados foram negativos para carbapenemase, e CTZ/TAZ exibiu atividade contra todos os três (13697, 21675 e 20783). Entre eles, o isolado 13697 foi classificado como não-DTR. O isolado 21675 foi suscetível exclusivamente a CTZ/TAZ, enquanto o isolado 20783 foi suscetível a CAZ/AVI e IMI/REL. O isolado 13697 apresentou resistência intermediária a IMI/REL e suscetibilidade a CAZ/AVI.

Preocupantemente, observou-se resistência às polimixinas em dois isolados, 20589 e 20783, ambos também resistentes à amicacina e pertencentes aos clones de alto risco epidêmico internacional ST253 e ST274, respectivamente. No entanto, para a cepa 20783, as novas combinações de β -lactâmico/inibidor de β -lactamase permaneceram opções de tratamento viáveis, enquanto nenhum desses agentes foi ativo contra a cepa 20589 devido à presença da enzima NDM. A cepa 20783 também carregava o gene *rmtD*, que confere resistência de alto nível a todos os aminoglicosídeos (Material Suplementar, Tabela S2).

A análise genotípica configurou a presença generalizada de genes que codificam β -lactamases, incluindo variantes cromossômicas de *blaPDC* (*blaPDC-1*, *blaPDC-2*, *blaPDC-5*, *blaPDC-7*, *blaPDC-9* e *blaPDC-10*), genes intrínsecos semelhantes a *blaOXA-50* e genes adicionais que codificam carbapenemases (SPM-1, NDM-1, VIM-2, IMP-1, IMP-16 e KPC) (Fig. 1c). A resistência a CAZ/AVI e IMI/REL nos dois isolados produtores de KPC (19331 e 17683) e em um isolado negativo para carbapenemase (21675) sugere o envolvimento de mecanismos alternativos, como perda de porina ou superexpressão da bomba de efluxo (Fig. 1b, c).

A classificação dos isolados como DTR ou não-DTR não previu com precisão a suscetibilidade às novas combinações de β -lactâmico/inibidor de β -lactamase. Notavelmente, os dois isolados produtores de IMP não foram classificados como DTR porque mantiveram a suscetibilidade ao aztreonam (13050) e à ciprofloxacina (18480). Além disso, dois isolados DTR negativos para carbapenemase (21675 e 20783) foram suscetíveis a CTZ/TAZ. Essas descobertas ressaltam a necessidade de revisar a classificação atual de DTR para incluir esses novos agentes e avaliá-los como potenciais opções terapêuticas. A análise da sequência do plasmídeo revelou

que vários isolados abrigavam genes de carbapenemase localizados em elementos genéticos móveis. Especificamente, o gene *blaIMP-1* foi detectado em um plasmídeo no isolado 13050, enquanto o gene *blaKPC-2* estava codificado em plasmídeo nos isolados 17683 e 19331. O isolado 18480 apresentou múltiplos determinantes de resistência em plasmídeos, incluindo *blaIMP-16*, *blaOXA-2* e o gene de resistência a sulfonamidas *sul1*. Os demais isolados (13697, 17744, 20589, 20783, 21675 e 21715) não apresentaram genes de carbapenemase em plasmídeos.

DISCUSSÃO

Neste estudo, realizamos análises genômicas e fenotípicas abrangentes de isolados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos obtidos de hospitais nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. Nossos resultados fornecem informações sobre a epidemiologia molecular, os perfis de resistência antimicrobiana e a disseminação mediada por plasmídeos de genes de carbapenemases em ambientes clínicos brasileiros.

Os isolados exibiram uma estrutura populacional heterogênea, conforme revelado pela tipagem de sequência *multilocus* (MLST). O ST1560 foi o tipo de sequência mais prevalente, representando 30% (3/10) dos isolados, seguido pelo ST274 com dois isolados. Os demais isolados pertenciam aos ST1816, ST244, ST277, ST253 e ST532. Essa diversidade destaca a presença de múltiplos clones circulantes nos hospitais amostrados, refletindo a complexa epidemiologia de *P. aeruginosa* nessas regiões.

Notavelmente, o ST1560 é menos frequentemente relatado em bancos de dados globais em comparação com clones de alto risco como ST235 e ST308, porém parece ser uma linhagem dominante nesta coleção, sugerindo adaptação local e potencial expansão clonal em instituições de saúde brasileiras (Magiorakos *et al.*, 2012; Flores-Vega *et al.*, 2025). A detecção de três isolados de *P. aeruginosa* pertencentes ao ST1560 é particularmente preocupante, pois abrigam carbapenemases clinicamente significativas: dois carregam KPC-2 e um carrega VIM-2, destacando a emergência desse tipo de sequência incomum como um possível reservatório de determinantes de resistência a múltiplos fármacos.

O ST1560 foi identificado no Brasil como uma linhagem endêmica emergente associada a fenótipos XDR e ao gene *blaKPC*. No entanto, sua origem geográfica e

o plasmídeo que abriga esse gene ainda não foram caracterizados, indicando que sua disseminação pode ser impulsionada por fatores locais relacionados à pressão antimicrobiana hospitalar (De Oliveira Santos *et al.*, 2019; Da Costa Lima; Ximenes; Maciel, 2022). Da mesma forma, o ST1816, inicialmente relatado no Japão e ligado às variantes *blaVIM-24*, *blaVIM-60* e *blaVIM-66*, foi posteriormente detectado no Brasil.

Esse padrão provavelmente reflete a introdução clonal esporádica seguida de circulação local limitada, sem evidências atuais que sustentem a disseminação global sustentada (Qi *et al.*, 2020). Além disso, o ST308 foi observado no Brasil, e sua presença pode ser atribuída à circulação regional, visto que esse ST já foi relatado anteriormente na Colômbia e em várias regiões da América do Sul, América do Norte, Europa e Ásia (Rada *et al.*, 2021).

Em contraste, clones como ST274, ST235 e ST244 demonstram ampla disseminação internacional e são frequentemente associados à aquisição de genes de β -lactamase por meio de transferência horizontal de genes mediada por *integrons* de classe 1 (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2025). O clone epidêmico ST274, caracterizado por fenótipos XDR, está distribuído pela América do Norte e do Sul, Europa, Ásia, África e Oceania, e está associado a genes de β -lactamase, incluindo *blaIMP*, *blaPDC* e *blaOXA* (Rodrigues *et al.*, 2024).

O clone ST235, uma linhagem pandêmica provavelmente originária da Europa no final da década de 1990, emergiu em isolados de *P. aeruginosa* associados a hospitais e possui uma ampla gama de genes de β -lactamase, incluindo *blaKPC*, *blaSPM*, *blaIMP*, *blaNDM*, *blaVIM* e *blaOXA*. No Brasil, esse clone é reconhecido como um vetor significativo para a disseminação de enzimas carbapenemases (Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2025).

O ST532 foi identificado em isolados brasileiros das regiões Sudeste e Nordeste; no entanto, dados abrangentes sobre sua origem, disseminação e significado epidemiológico ainda são escassos (Rodrigues *et al.*, 2024). O ST244 foi inicialmente relatado na Colômbia e está associado a STs XDR/DTR, bem como a um plasmídeo que abriga o gene *blaKPC* (pBH6). Além do *blaKPC*, o ST244 pode carregar outros genes de resistência, incluindo *blaIMP*, *blaNDM*, *blaVIM* e *blaOXA*. Este tipo de sequência foi documentado em vários países da América do Norte e do Sul, Europa, Ásia e Oriente Médio, abrangendo regiões como o Golfo Pérsico e a

Índia (Da Costa Lima; Ximenes; Maciel, 2022, Karampatakis; Tsergouli; Behzadi, 2025). No Brasil, o ST244 representa o segundo clone de *P. aeruginosa* mais prevalente nas regiões Sudeste e Norte, superado apenas pelo ST277. Ele tem sido detectado predominantemente em ambientes não clínicos, incluindo efluentes hospitalares e estações de tratamento, em vários estágios do processo de tratamento, frequentemente em associação com genes de resistência como *blaVIM* e *blaKPC* (Rodrigues *et al.*, 2024).

No contexto brasileiro, o ST277 constitui o primeiro clone relatado e mais amplamente disseminado até o momento. Inicialmente identificado em um paciente oncológico no estado de São Paulo, este ST é reconhecido como um clone endêmico que está fortemente associado à disseminação do gene *blaSPM-1* em diversos ambientes clínicos. O ST277 desempenhou um papel fundamental na epidemiologia da resistência a carbapenêmicos no Brasil, particularmente entre isolados MDR e XDR. Sua ocorrência fora do Brasil permanece rara, limitada a relatos esporádicos do Japão, China e Reino Unido (Rodrigues *et al.*, 2024).

A análise fenotípica revelou uma predominância de *P. aeruginosa* com resistência de difícil tratamento (DTR-PA), com sete dos dez isolados classificados como DTR de acordo com as definições internacionais (Cosentino; Viale; Giannella, 2023). Esses isolados demonstraram resistência de alto nível a quase todos os β -lactâmicos testados, incluindo carbapenêmicos e novas combinações de β -lactâmico/inibidor de β -lactamase, como ceftazidima-avibactam e ceftolozano-tazobactam. O ceftolozano-tazobactam pareceu servir como um indicador útil da ausência de carbapenemases entre os isolados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos. No entanto, a coexistência de outras β -lactamases ou mecanismos de resistência pode comprometer sua eficácia clínica, ressaltando a necessidade de confirmação da suscetibilidade por meio de testes laboratoriais abrangentes.

Entre os isolados de *P. aeruginosa* não-DTR, o isolado 17744 apresentou os níveis de resistência mais elevados, com CIMs superiores a 128 mg/L para todos os β -lactâmicos. Este isolado pertencia ao ST277, endêmico no Brasil, e abrigava múltiplos genes de β -lactamase, incluindo *blaPDC-212*, *blaOXA-50*, *blaOXA-56* e a metalo- β -lactamase *blaSPM-1*, que juntos provavelmente explicam sua extrema resistência. Por outro lado, o isolado 13697, pertencente ao ST244, considerado de alto risco e frequentemente associado à multirresistência, representou o fenótipo

menos resistente, com CIMs dentro da faixa de suscetibilidade ou intermediária, e apresentou apenas *blaPDC-216* e *blaOXA-50*. Essas observações ilustram o amplo espectro de resistência presente mesmo entre isolados coletados no mesmo ambiente hospitalar.

Curiosamente, o isolado 20783 demonstrou resistência a todos os β -lactâmicos, apesar de não apresentar genes adicionais de carbapenemase além de *blaOXA-50* e *blaPDC-195*. Isso sugere o envolvimento de mecanismos alternativos de resistência, como perda de porina, superexpressão da bomba de efluxo ou outras mutações cromossômicas, que foram descritas como fatores que contribuem para a resistência a carbapenêmicos em *P. aeruginosa* (Amisano *et al.*, 2025; LI *et al.*, 2025). Essa descoberta destaca a importância de integrar testes fenotípicos com análises genômicas, uma vez que a ausência de genes de resistência conhecidos não indica necessariamente suscetibilidade.

A caracterização genotípica revelou uma gama diversificada de genes que codificam carbapenemases. Metallo- β -lactamases, incluindo *blaNDM-1* (20589), *blaVIM-2* (21715) e variantes de *blaIMP* (*blaIMP-16* em 18480 e *blaIMP-39* em 13050), foram detectadas, juntamente com carbapenemases de classe A (*blaKPC-2* em 17683 e 19331) e *blaSPM-1* (17744). Esses genes correlacionaram-se com a resistência a combinações de β -lactâmicos/inibidores de β -lactamase, consistentes com suas atividades bioquímicas conhecidas (Rodrigues *et al.*, 2024). Notavelmente, a detecção de *blaNDM-1* no isolado 20589, de uma linhagem na qual *P. aeruginosa* produtora de NDM era extremamente rara no Brasil antes da pandemia de COVID-19, representa uma descoberta clinicamente significativa. Estudos recentes de vigilância relataram um aumento notável na ocorrência de *blaNDM* entre isolados de *P. aeruginosa* no Brasil após 2020 (Perez; Carniel; Narvaez, 2022).

A análise de plasmídeos revelou que 40% dos isolados abrigavam genes de carbapenemase em elementos genéticos móveis, com *blaIMP-39* em 13050, *blaKPC-2* em 17683 e 19331, e múltiplos determinantes de resistência, incluindo *blaIMP-16*, *blaOXA-2* e *sul1* em 18480. A presença de genes de carbapenemase em plasmídeos ressalta o risco de transferência horizontal de genes entre STs e entre espécies em ambientes hospitalares, facilitando a rápida disseminação da resistência. A coexistência de múltiplos determinantes de resistência no mesmo plasmídeo, como observado no isolado 18480, ressalta o potencial para a

disseminação simultânea de resistência a múltiplos fármacos, o que representa desafios significativos para o controle de infecções e o uso racional de antimicrobianos (Wang *et al.*, 2017, Reyes *et al.*, 2020).

A distribuição da resistência entre os isolados não foi uniforme. Embora o DTR tenha mostrado cepas com alto nível de resistência a quase todos os β -lactâmicos, observou-se suscetibilidade intermediária a agentes mais recentes, como ceftazidima-avibactam e ceftolozano-tazobactam, em alguns isolados (20589, 21715, 21675 e 20783), sugerindo que esses medicamentos podem manter eficácia parcial contra cepas selecionadas. No entanto, as metalo- β -lactamases codificadas por plasmídeos provavelmente comprometem a atividade desses agentes em isolados portadores de variantes *bla*NDM-1, *bla*VIM-2 ou *bla*IMP, o que está de acordo com observações anteriores de eficácia reduzida de inibidores em *P. aeruginosa* produtora de MBL (Khan; Khan; Khan, 2025).

Nossos resultados também ilustram a relevância clínica do monitoramento de fenótipos de resistência, mesmo quando dados genotípicos estão disponíveis. A presença de isolados resistentes a carbapenêmicos sem genes de carbapenemase conhecidos (20783) reforça o conceito de que mecanismos alternativos de resistência podem levar a falhas no tratamento, particularmente em ambientes com alta pressão antibiótica. Além disso, isolados como 13697 e 21675, que apresentaram resistência limitada e não atenderam aos critérios para DTR, servem como lembretes importantes de que nem todas as cepas de *P. aeruginosa* circulantes em hospitais são altamente resistentes, e a vigilância deve capturar essa heterogeneidade para informar estratégias terapêuticas de forma mais eficaz.

No geral, essas descobertas destacam a notável adaptabilidade da *P. aeruginosa* na aquisição de resistência a antibióticos em múltiplas classes. A coexistência de múltiplas β -lactamases em isolados, combinada com a diversidade de sistemas de efluxo antimicrobiano, ressalta a complexidade dos mecanismos de resistência e a necessidade urgente de vigilância molecular contínua em ambientes clínicos. A diversidade de genes que codificam carbapenemases (SPM, KPC, VIM, NDM e IMP) detectada entre esses isolados, com 40% (4/10) dos isolados apresentando pelo menos um gene de carbapenemase plasmidial, destaca o potencial de transferência horizontal de determinantes de resistência no ambiente hospitalar. A coexistência de múltiplos genes de resistência no mesmo plasmídeo,

como observado no isolado 18480, ressalta ainda mais o risco de disseminação da multirresistência e reforça a importância da vigilância genômica contínua para monitorar a disseminação de carbapenemases mediadas por plasmídeos.

Do ponto de vista epidemiológico, a coexistência de diversos STs, múltiplos genes de resistência e determinantes mediados por plasmídeos indica um cenário genômico complexo em hospitais brasileiros. Ao contrário de clones internacionais de alto risco, como ST235, ST233 ou ST308, que são frequentemente associados a surtos na Europa e na Ásia (Woodford; Turton; Livermore, 2011; Livermore, 2011), nossos dados sugerem que linhagens locais, incluindo ST1560 e ST274, podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento da resistência nesse contexto. Isso destaca a necessidade de estudos de vigilância e epidemiologia molecular específicos para cada região, a fim de capturar a dinâmica das populações locais de *P. aeruginosa*.

CONCLUSÃO

De modo geral, nosso estudo destaca vários pontos críticos, como a predominância de *P. aeruginosa* resistente a múltiplos fármacos (DTRP) nos hospitais amostrados, com múltiplos isolados portadores de carbapenemases plasmidiais, a heterogeneidade dos fenótipos de resistência, incluindo a presença de cepas resistentes sem genes de carbapenemases conhecidos, o risco de disseminação horizontal de determinantes de resistência via plasmídeos e a importância da vigilância genômica e fenotípica integrada para orientar o controle de infecções e otimizar estratégias terapêuticas. Esses achados têm implicações importantes para o manejo clínico, o uso racional de antimicrobianos e as políticas de saúde pública no Brasil, ressaltando os desafios contínuos impostos pela *P. aeruginosa* multirresistente em ambientes hospitalares.

REFERÊNCIAS

AMISANO, Francesco et al. Outer membrane permeability of *Pseudomonas aeruginosa* through β -lactams: new evidence on the role of OprD and OpdP porins in antibiotic resistance. **Microbiology Spectrum**, v. 13, n. 4, p. e00495-24, 2025.

ANDREWS, Simon et al. **FastQC**. A quality control tool for high throughput sequence data, v. 370, 2010.

BOLGER, Anthony M.; LOHSE, Marc; USADEL, Bjoern. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard—tenth edition (CLSI document M07-A10). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - 35th ed. (CLSI document M100-Ed35). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2025.

COSENTINO, Federica; VIALE, Pierluigi; GIANNELLA, Maddalena. MDR/XDR/PDR or DTR? Which definition best fits the resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa*?. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 36, n. 6, p. 564-571, 2023.

DA COSTA LIMA, Jailton Lobo; XIMENES, Rafael Matos; MACIEL, Maria Amélia Vieira. Occurrence of blaKPC gene in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Brazil. **ABCS Health Sciences**, v. 47, p. e022306-e022306, 2022.

DE OLIVEIRA SANTOS, Ivson Cassiano et al. Epidemiology and antibiotic resistance trends in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Rio de Janeiro-Brazil: importance of mutational mechanisms over the years (1995–2015). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 73, p. 411-415, 2019.

DEL BARRIO-TOFIÑO, Ester; LÓPEZ-CAUSAPÉ, Carla; OLIVER, Antonio. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 56, n. 6, p. 106196, 2020.

DOS SANTOS, Pablio Antonny Silva et al. The prevalence of metallo-beta-lactamase-(M β L)-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Microorganisms**, v. 11, n. 9, p. 2366, 2023.

EID, Racha et al. Comparison of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care and non-intensive care units and its impact on treatment decisions. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 11288, 2025.

FLORES-VEGA, Verónica Roxana et al. High-risk *Pseudomonas aeruginosa* clones harboring β -lactamases: 2024 update. **Heliyon**, v. 11, n. 1, 2025.

KARAMPATAKIS, Theodoros; TSERGOULI, Katerina; BEHZADI, Payam. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*'s resistome: pan-genomic plasticity, the impact of transposable elements and jumping genes. **Antibiotics**, v. 14, n. 4, p. 353, 2025.

KHAN, Atiqur Rahman; KHAN, Sadiya Rehman; KHAN, Mohd Irshad. Global Emergence of Multidrug-resistant Bacteria: Mechanisms, Challenges, and Public Health Implications. **European Journal of Microbiology and Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 113-113, 2025.

LI, Wen-Ru et al. Efflux pumps of *Pseudomonas aeruginosa* and their regulatory mechanisms underlying multidrug resistance. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 202, p. 106096, 2025.

MAGIORAKOS, A.-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.

MIKHEENKO, Alla et al. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. **Bioinformatics**, v. 34, n. 13, p. i142-i150, 2018.

PAJARO-CASTRO, Nerlis; DIAZ-MORALES, Erick; HOYOS, Kenia. Genomic Characterization of Extremely Antibiotic-Resistant Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Patients of a Clinic in Sincelejo, Colombia. **BioTech**, v. 14, n. 1, p. 21, 2025.

PEREZ, Leandro Reus Rodrigues; CARNIEL, Eliana; NARVAEZ, Gabriel Azambuja. Emergence of NDM-producing *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients and impact on antimicrobial therapy during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 43, n. 9, p. 1279-1280, 2022.

QI, Huanhuan et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiling of generic amphotericin B colloidal dispersion in a rat model of invasive candidiasis. **Journal of**

Global Antimicrobial Resistance, v. 23, p. 113-119, 2020.

RADA, Ana M. et al. Genetic diversity of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying blaVIM-2 and blaKPC-2 genes that spread on different genetic environment in Colombia. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 663020, 2021.

REYES, Jorge Aníbal et al. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American Enterobacterales. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 24, n. 3, p. 231-238, 2020.

ROBERTSON, James; NASH, John H. E. MOB-suite: software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. **Microbial Genomics**, v. 4, n. 8, p. e000206, 2018.

RODRIGUES, Saulo Henrique et al. First report of coexistence of blaKPC-2 and blaNDM-1 in carbapenem-resistant clinical isolates of *Klebsiella aerogenes* in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1352851, 2024.

RODRIGUES, Yan Corrêa et al. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Antibiotics**, v. 13, n. 10, p. 983, 2024.

SAKAGIANNI, Aikaterini et al. The synergy of machine learning and epidemiology in addressing carbapenem resistance: a comprehensive review. **Antibiotics**, v. 13, n. 10, p. 996, 2024.

SCHWARTZ, Beth et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in clinical settings: a review of resistance mechanisms and treatment strategies. **Pathogens**, v. 13, n. 11, p. 975, 2024.

SWAYNE, Rosemary et al. Utility of a novel multiplex TaqMan PCR assay for metallo- β -lactamase genes plus other TaqMan assays in detecting genes encoding serine carbapenemases and clinically significant extended-spectrum β -lactamases. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, n. 4, p. 352-356, 2013.

TAMMA, Pranita D. et al. Infectious Diseases Society of America 2024 guidance on the treatment of antimicrobial-resistant gram-negative infections. **Clinical Infectious Diseases**, p. ciae403, 2024.

WALKER, Morgan K. et al. Using a difficult-to-treat resistance index to gauge imbalance between countries' antibiotic resistance prevalence and access to antibiotics: a scoping review and concept proposal. **Clinical Microbiology and**

Infection, v. 31, n. 7, p. 1126-1138, 2025.

WANG, Dongguo et al. Genetic characterization of novel class 1 integrons In0, In1069 and In1287 to In1290, and the inference of In1069-associated integron evolution in Enterobacteriaceae. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 84, 2017.

WICK, Ryan R. et al. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. **PLoS Computational Biology**, v. 13, n. 6, p. e1005595, 2017.

WOODFORD, Neil; TURTON, Jane F.; LIVERMORE, David M. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 35, n. 5, p. 736-755, 2011.

ZHENG, Lin et al. Genomic features and fitness cost of co-existence of blaKPC-2 and blaVIM-2 plasmids in ICU-derived pan-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, p. 1617614, 2025.

APÊNDICE A - GRÁFICOS E TABELAS UTILIZADOS

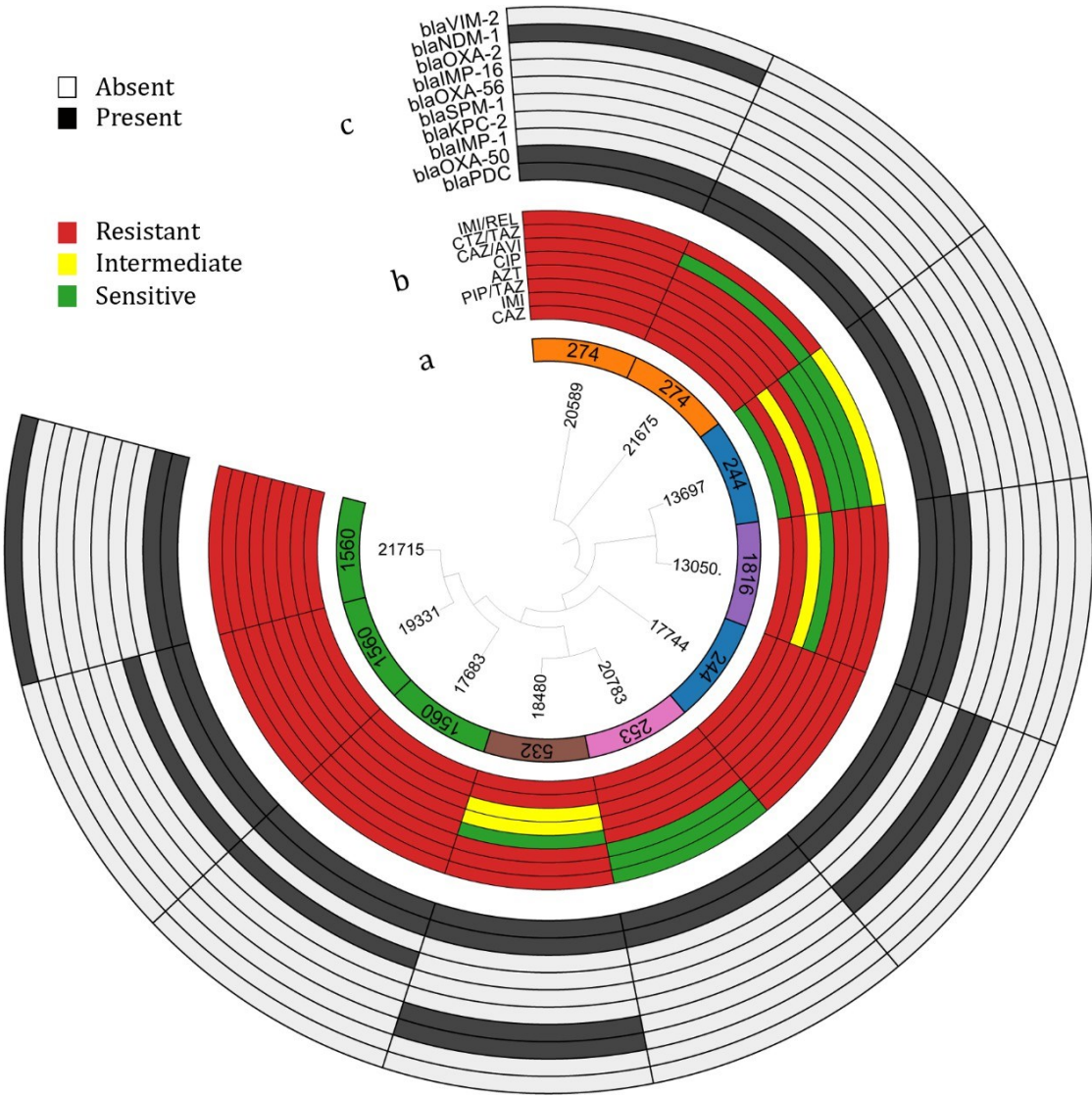


Figura 1. Relação filogenética, tipos de sequência (ST), perfis de resistência antimicrobiana (CLSI, 2025) e genes de resistência de dez isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* do Brasil. Em (a), o anel mais interno representa o ST de cada isolado. Em (b), o anel intermediário mostra o perfil de resistência fenotípica a β -lactâmicos selecionados e combinações de β -lactâmico/inibidor de β -lactamase, com cores indicando a suscetibilidade: verde = suscetível, amarelo = intermediário, vermelho = resistente. Em (c), o anel mais externo indica a presença de genes de β -lactamase e carbapenemases, incluindo genes cromossômicos e plasmidiais. A árvore filogenética no centro foi construída com base na Identidade Nucleotídica Média (ANI), ilustrando o parentesco genético entre os isolados. Esta visualização integrada destaca a correlação entre o tipo de sequência, a resistência antimicrobiana e a presença de determinantes de resistência específicos.

Tabela S1. Genomic statistics of sequenced clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Amostra Contigs*

Tamanho do genoma (bp) N50 (bp) GC % Coverage X

13050	32	6,809,043	645,601	66,04	424,2
13697	36	6,612,233	459,172	66,12	440,2
17683	123	7,146,924	179,791	65,65	683,4
17744	37	6,853,273	499,836	66,03	533,7
18480	79	6,906,970	230,128	65,7	487,9
19331	75	6,931,955	280,682	65,87	453,1
20589	51	6,909,516	428,517	66,09	362,2
20783	113	6,882,445	135,498	65,92	404,6
21675	61	6,434,588	258,550	66,33	615,0
21715	75	6,880,350	335,128	66,06	570,1

* Considerando apenas contigs com tamanho igual ou superior a 1.000 pb.

Tabela S2. Teste de suscetibilidade antimicrobiana. As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) foram medidas de acordo com as diretrizes do CLSI 2025. Vermelho = Resistente; Amarelo = Intermediário; Verde = Suscetível.

ID	RT-PCR	CFP	CAZ	IMI	MER	PIP/TAZ	AZT	CIP	COL*	POLB*	AMI	CAZ/AVI	CTZ/TAZ	IMI/REL
17744	SPM	>256	>128	>128	>128	>256	32	>16	0,5	0,5	>256	>128	>128	>128
20589	NDM	>256	>128	>128	>128	>256	64	>16	>32	16	>256	32	>128	>128
21715	VIM	64	64	>128	128	128	64	>16	2	2	256	64	>128	>128
19331	KPC+SPM	>256	64	>128	>128	>256	>256	>16	0,5	1	64	>128	128	>128
13697	IMP	16	4	16	32	32	64	0,5	1	1	2	4	1	4
13050	IMP	256	128	>128	128	32	4	>16	0,5	0,5	>256	>128	64	>128
17683	KPC	>256	>128	>128	>128	>256	>256	>16	1	1	>256	16	128	>128
18480	Negativa	256	>128	128	64	32	16	≤0,06	1	0,5	128	16	>128	128
21675	Negativa	32	32	32	128	64	128	2	0,5	0,5	32	32	2	8
20783	Negativa	256	>128	16	32	>256	128	>16	>32	>32	64	4	2	2

CLSI 2025 guidelines			MIC µg/mL		
Classes	ATM	A	S≤	I	R
Aminoglicosídeos	Amicacina	A	16	32	64
Cefalosporinas IV	Cefepima	C	8	16	32
Cefalosporinas III	Ceftazidima	C	8	16	32
Carbapenêmicos	Imipenem	I	2	4	8
	Meropenem	M	2	4	8
Monobactâmicos	Aztreonam	A	8	16	32
Agentes combinados β-lactâmicos	Ceftazidima/avibactam	-	8	-	16
	Ceftolozana/tazobactam	-	4	8	16
	Imipenem/relebactam	-	2	4	8
	Piperacilina-tazobactam	P	16	32	64
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino	C	0.	1	2
Lipopeptídeos	Polimixina B	-	-	2	4
	Colistina	-	-	2	4