

Resistência da *Pseudomonas aeruginosa* isolada de canal dentário a antibióticos comerciais

Resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from Dental Canal to Commercial Antibiotics

Júlia Souza Côrtes¹, Ricardo Wagner Dias Portela², Ana Rita Sokolonski Antòn^{3*}

¹Cirurgiã-dentista, Mestranda do Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Universidade Federal da Bahia (UFBA); ²Doutor em Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Professor Adjunto de Imunologia, Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Universidade Federal da Bahia (UFBA); ³Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Professora Adjunta de Bioquímica, Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Resumo

Introdução: *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa oportunista amplamente presente no ambiente hospitalar, no solo e na água. Conhecida por sua multirresistência a antimicrobianos. Comumente associada a pneumonias, infecções urinárias e queimaduras. **Objetivo:** analisar o perfil de sensibilidade de isolados clínicos orais de *P. aeruginosa* a antibióticos comerciais. **Metodologia:** os isolados clínicos orais de *P. aeruginosa* foram cultivados em Ágar Nutriente e ajustadas para o padrão 0,5 McFarland. A suscetibilidade a antibióticos comerciais foi testada utilizando o teste de difusão em disco. Placas de Ágar Mueller-Hinton foram inoculadas com as cepas bacterianas e, em seguida, discos impregnados com diferentes antibióticos comerciais foram colocados nas placas. Após incubação a 37°C por 18-24 horas, as zonas de inibição ao redor dos discos foram medidas em milímetros. Os resultados foram interpretados conforme os critérios do CLSI para classificar as cepas como resistentes (R), sensíveis (S) ou sensíveis com exposição aumentada (SA). **Resultados:** os isolados de *P. aeruginosa* demonstraram sensibilidade ao Ciprofloxacino e Ceftazidima, apresentando zonas de inibição dentro dos parâmetros considerados sensíveis e sensíveis com exposição aumentada pelo BrCAST-EUCAST. Já para a Amikacina apresentaram resultados controversos sendo os isolados (S), (SA) e (R). Os isolados foram resistentes a Amoxicilina, Azitromicina e o Aztreonam. A polimixina não pode ser avaliada segundo os critérios da BrCAST. **Discussão:** a resistência múltipla da *Pseudomonas aeruginosa* a antibióticos compromete o tratamento de infecções exigindo uso racional e vigilância genômica. **Conclusão:** Os resultados mostraram resistência a diferentes antibióticos, destacando a complexidade do tratamento das infecções causadas por essas bactérias.

Palavras-chave: Infecções por *Pseudomonas*; testes de sensibilidade microbiana; resistência a medicamentos.

Abstract

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic gram-negative bacterium widely in hospital environments, soil, and water. It is known for its multidrug resistance to antimicrobials. It is commonly associated with pneumonia, urinary tract infections, and burns. **Objective:** to analyze the sensitivity profile of oral clinical isolates of *P. aeruginosa* to commercial antibiotics. **Methodology:** oral clinical isolates of *P. aeruginosa* were cultured on Nutrient Agar and adjusted to 0.5 McFarland standard. Susceptibility to commercial antibiotics was tested using the disk diffusion test. Mueller-Hinton Agar plates were inoculated with the bacterial strains, and disks impregnated with different commercial antibiotics were placed on the plates. After incubation at 37°C for 18-24 hours, the inhibition zones around the disks were measured in millimeters. Results were interpreted by CLSI criteria to classify strains as resistant (R), susceptible (S), or susceptible with increased exposure (SA). **Results:** *P. aeruginosa* isolates demonstrated sensitivity to Ciprofloxacin and Ceftazidime, presenting inhibition zones within the parameters considered sensitive and sensitive with increased exposure by BrCAST-EUCAST. For Amikacin, they presented controversial results, such as the isolates (S), (SA), and (R). The isolates were resistant to Amoxicillin, Azithromycin, and Aztreonam. Polymyxin could not be evaluated according to the BrCAST criteria. **Discussion:** multiple resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics compromises the treatment of infections, requiring rational use and genomic surveillance. **Conclusion:** the results showed resistance to different antibiotics, highlighting the complexity of treating infections caused by these bacteria.

Keywords: Microbial Sensitivity Tests; pseudomonas infection; drug resistance

INTRODUÇÃO

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa oportunista, associada a infecções bacterianas nosocomiais, além de ser uma das responsáveis por infecções agudas e crônicas em indivíduos imunocomprometidos,

Correspondente/Corresponding: *Ana Rita Sokolonski Antòn – Instituto de Ciências da Saúde (ICS) – Universidade Federal da Bahia – End: Av. Reitor Miguel Calmon, s/n Vale do Canela. CEP: 40110-100 Salvador/BA. – E-mail: anton@ufba.br

pacientes oncológicos, pacientes em pós-cirúrgico e com queimaduras extensas ou portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV)¹. Esta bactéria também é associada a infecções endodônticas secundárias ou persistentes e, reinfecções do canal radicular². Compõe o grupo de patógenos “ESKAPE” conjuntamente aos *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter spp.* Tais microrganismos são listados pela Organização Mundial da Saúde como patógenos prioritários no contexto da resistência antimicrobiana^{3,4}. E é neste contexto que se apresentam os 6 principais mecanismos de resistência a antimicrobianos da *P. aeruginosa*: alteração de porinas, sistemas de efluxos, produção de biofilmes, produção de betalactamases e de sideróforos e o Sistema de Secreção do Tipo III.

Para manter a resistência antimicrobiana destes patógenos, a parede celular da *P. aeruginosa* é composta por membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que colabora na resistência à fagocitose e à ação de agentes antimicrobianos⁵. Nesta estrutura estão presentes 26 porinas, que são proteínas de membrana presentes em bactérias Gram-negativas, que facilitam o transporte de nutrientes, de compostos hidrofílicos para o meio intracelular e ainda modulam a entrada de antibióticos nas bactérias⁶⁻⁸.

O sistema de efluxo presente provoca a extrusão de antibióticos do periplasma, reduzindo sua eficácia e constituindo-se como outro fator importante de resistência da *P. aeruginosa* à antibióticos de diferentes categorias^{9,10}. Os sistemas de efluxo como o MexAB-OprM, são proteínas cruciais na resistência antimicrobiana deste microrganismo, pois expulsam uma ampla gama de antibióticos do periplasma e do citoplasma para o meio extracelular, reduzindo sua eficácia e contribuindo para perfis de multirresistência¹⁰.

Neste contexto, a formação de biofilmes é um mecanismo crítico na persistência das infecções¹¹ à medida que promovem um ambiente protegido para as bactérias, atuando como barreira física contra os antimicrobianos, e permitindo a sobrevivência destes microrganismos em condições adversas, conferem ainda proteção contra estresses ambientais e inibem a fagocitose^{12,13}. A formação de biofilme predispõe a colonização bacteriana e dificulta a erradicação da infecção¹⁴. Em superfícies abióticas como dispositivos médicos, próteses, cateteres e tubos endotraqueais, estudos indicam que a *P. aeruginosa* é responsável por aproximadamente 28% das infecções nosocomiais, incluindo bacteremia de cateteres, pneumonia associada à ventilação mecânica e infecções do trato urinário¹⁵. Este mecanismo representa um desafio significativo na prática clínica hospitalar⁸.

Além desses fatores estruturais e adaptativos, destaca-se ainda a produção de betalactamases como um dos principais mecanismos moleculares de resistência da *P. aeruginosa*. Estas enzimas hidrolisam o anel betalactâmico de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas e

carbapenêmicos, comprometendo sua ação bactericida. A exemplo disto tem-se a betalactamase AmpC, codificada cromossomicamente, que está presente em quase todas as cepas, podendo ser super expressa sob pressão seletiva^{16,17}. A bactéria pode, ainda, adquirir genes de betalactamases de classes A, B e D através de elementos genéticos móveis, como as variantes GES, KPC, VIM, IMP, NDM e OXA, associadas à resistência ampliada, especialmente a carbapenêmicos^{18,19}. A presença simultânea desses mecanismos confere à *P. aeruginosa* um fenótipo de multirresistência que compromete a eficácia terapêutica e dificulta o controle das infecções hospitalares²⁰.

Ampliando estes mecanismos de resistência, temos a produção de pigmentos (sideróforos), que é uma característica marcante destes microrganismos²¹, tais como a piocianina e pioverdina, compostos de alta afinidade pelo íon Férrico (Fe^{3+}) que possibilitam à bactéria competir com o hospedeiro pelo nutriente essencial, garantindo viabilidade, virulência e capacidade de formar biofilmes mesmo em condições adversas e limitações nutricionais²². A piocianina, pigmento azul-esverdeado, interfere nos processos fisiológicos do hospedeiro por meio da indução de espécies reativas de oxigênio (EROs), que resulta em estresse oxidativo e danos às estruturas lipídicas, proteicas e ao DNA²³. Além disso, apresenta atividade imunossupressora, inibe a proliferação de linfócitos T e prejudica a resposta inflamatória efetiva, favorecendo a persistência da infecção²⁴. Já a Pioverdina, por sua vez, é um pigmento fluorescente verde-amarelado que atua como sideróforo primário de *P. aeruginosa*, com alta afinidade por íons férricos (Fe^{3+})²⁵. Sequestra o Ferro do ambiente intracelular do hospedeiro, tornando-o biodisponível para a bactéria e favorecendo sua multiplicação em ambientes limitantes²⁶. Além da função nutricional, a Pioverdina também regula a expressão de fatores de virulência, como produção de exotoxinas²⁷.

Para desorganizar os processos celulares essenciais, a *P. aeruginosa* apresenta o Sistema de Secreção do Tipo III (T3SS), mecanismo molecular especializado presente em bactérias Gram-negativas que forma uma estrutura semelhante a uma agulha, capaz de atravessar a membrana da célula hospedeira, permitindo a injeção direta de proteínas conhecidas como efetores^{28,29}.

Diante do amplo mecanismo de resistência antimicrobiana da *P. aeruginosa*, os quais reduzem ou neutralizam a eficácia dos antibióticos disponíveis, os tratamentos convencionais tornaram-se progressivamente menos eficazes³⁰⁻³². Associado a isso, a combinação desses mecanismos favorece o surgimento de cepas multirresistentes, representando um desafio terapêutico crescente, sobretudo em ambientes hospitalares³³. Nesse contexto, estratégias terapêuticas alternativas vêm ganhando destaque³⁰. Entre elas, destacam-se a inibição do *quorum sensing*^{34,35}, a inibição de lectinas bacterianas³⁶, a quelatação de ferro com agentes previamente aprovados³⁷, o desenvolvimento de vacinas³⁸ e o uso de nanopartículas com ação antimicrobiana e disruptiva de

biofilmes³⁹. Assim, é preciso verificar o perfil de resistência de isolados clínicos da *P. aeruginosa* para a correta prescrição medicamentosa, evitando o surgimento de cepas multirresistentes⁴⁰. Diante do crescimento prevalente de cepas multirresistentes, torna-se indispensável o uso racional e orientado dos antimicrobianos a fim de cessar o surgimento de variantes.

METODOLOGIA

Isolados Oraís

Os isolados clínicos orais de *P. aeruginosa* foram cedidos pela Microteca de Saúde do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Segundo os registros dessa Microteca, os isolados incluídos neste estudo foram coletados de tratamentos de canais radiculares dentários humanos por cirurgias dentistas habilitados.

Identificação das cepas

Para a correta identificação dos microrganismos foi realizada a técnica de espectrometria de massas MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight*), que identifica o microrganismo quanto ao gênero e espécie por marcadores proteômicos. Para tanto, uma colônia foi adicionada à placa-alvo e fixada com a solução de matriz (1μL) contendo ácido alfa-ciano-4-hidroxinâmico (α-CHCA), 50% de acetonitrila e 2,5% de ácido trifluoroacético (Brandão, 2023). Utilizou-se a proteína padrão da cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Após a aplicação, a placa-alvo foi deixada para secar em temperatura ambiente. O MALDI-Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi o equipamento empregado na análise. O escore espectral mínimo para identificação de bactérias quanto à espécie foi de $\geq 1,8$ ⁴¹.

Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA)

O perfil de sensibilidade das cepas foi definido por meio do teste de difusão em disco, seguindo a metodologia adaptada do protocolo *Clinical & Laboratory Standards Institute-CLSI*, em seu documento M2-A8 (2003)⁴².

Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* foram inicialmente cultivados em Ágar à 37°C por 24 horas. Após o crescimento bacteriano, preparou-se o inóculo, ajustando a turbidez para equivaler ao padrão 0,5 da escala de McFarland. O inóculo padronizado foi semeado com *swab* estéril na superfície de placas contendo Ágar Mueller-Hinton (Himedia, Mumbai, Índia), cobrindo uniformemente toda a superfície. Em seguida, os antibióticos foram posicionados com o auxílio de pinça estéril. As placas após a aplicação dos discos, foram incubadas à 37°C por 24 horas em estufa microbiológica. Após o período de incubação, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em milímetros. A interpretação dos resultados seguiu os critérios do BrCAST⁴³ (2025), classificando as cepas como sensíveis, sensível acentuada ou resistentes

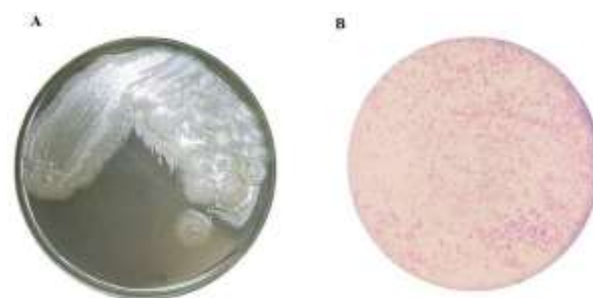
aos antimicrobianos testados.

Os antibióticos testados para avaliação do perfil de sensibilidade das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram os seguintes: Polimixina B (POL 300 UI), Ciprofloxacino (CIP 5 μg), Amicacina (AMI 30 μg), Aztreonam (AZT 30 μg), Amoxicilina (AMO 25 μg), Azitromicina (AZI 15 μg) e Ceftazidima (CAZ 30 μg). Esses antibióticos foram escolhidos por sua relevância clínica no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas.

RESULTADOS

Foram analisados três isolados clínicos orais de *Pseudomonas aeruginosa* (23, 24 e 35) provenientes de condutos radiculares de humanos. Os isolados clínicos deste estudo foram caracterizados morfológica e fisiologicamente pela coloração de Gram como bactérias Gram negativas que manifestam o fenômeno *sheen* (iridescência), conforme demonstrado na figura 1. O teste de sensibilidade antimicrobiana foi avaliado por meio da difusão em disco com 07 antibióticos: Polimixina B, Ciprofloxacino, Amicacina, Aztreonam, Amoxicilina, Azitromicina e Ceftazidima. As cepas apresentaram diferentes padrões de susceptibilidade. A amoxicilina e a azitromicina foram incluídas devido à sua relevância clínica no tratamento de endocardite bacteriana⁴⁴, enquanto os demais antibióticos foram selecionados com base na tabela de referência do BrCAST⁴⁵ (2025).

Figura 1 - Morfologia de colônias e características microscópicas dos isolados bacterianos obtidos de canais dentários humanos. Podem ser observadas colônias de *P. aeruginosa* em placas de Petri. É possível observar o fenômeno Sheen manifestando iridescência através do brilho metálico (A). Após coloração de Gram, foram observadas em microscópio óptico, e os isolados apresentaram características de bactérias Gram-negativa (B).



Fonte: Acervo autoral.

De modo geral, as cepas demonstraram sensibilidade aos antimicrobianos Ciprofloxacino, Amicacina e Ceftazidima, conforme demonstrado na tabela 1, apresentando zonas de inibição dentro dos parâmetros considerados sensíveis pelo BrCAST- EUCAST⁴⁵. Por outro lado, observou-se na tabela 1 a resistência à Amoxicilina, Aztreonam e Azitromicina, refletindo a escolha inadequada desses antibióticos para o tratamento de

infecções causadas por *P. aeruginosa*. Para a polimixina B, não foi possível aplicar critérios interpretativos por disco-difusão, conforme recomendação do BrCAST⁴³,

sendo necessário aplicar outro método para resultados mais confiáveis.

Tabela 1- Perfil de sensibilidade a antibióticos de *P. aeruginosa*. Os resultados foram obtidos pelo teste difusão em disco, e realizados em duplicata (A e B). Os halos obtidos foram comparados com os pontos de corte sugeridos pelo BrCAST e EUCAST (2025)⁴⁵ e suas recomendações. Os isolados foram ditos como (S) sensíveis, (R) resistentes ou (SA) sensível aumentado.

Antibiótico	Diâmetro de halo (mm) e classificação		
	Cepa 23	Cepa 24	Cepa 35
Amicacina	(A) 25, (B) 27(S)	(A) 24, (B) 24(SA)	(A) 17, (B) 18 (R)
Amoxicilina	(A) 0, (B) 0 (R)	(A) 0, (B) 0 (R)	(A) 0, (B) 0 (R)
Azitromicina	(A) 0, (B) 0 (R)	(A) 0, (B) 0 (R)	(A) 0, (B) 0 (R)
Aztreonam	(A) 25, (B) 24 (R)	(A) 22, (B) 21 (R)	(A) 23, (B) 24 (R)
Ceftazidima	(A) 21, (B) 23 (SA)	(A) 25, (B) 25 (S)	(A) 21, (B) 22 (SA)
Ciprofloxacina	(A) 25, (B) 27 (SA)	(A) 28, (B) 27(S)	(A) 25, (B) 28 (SA)
Polimixina B	(A) 15, (B) 17 (NA ^a)	(A) 17, (B) 17 (NA ^a)	(A) 17, (B) 16 (NA ^a)

NA: não se aplica. (a) Não há pontos de corte estabelecidos para *P. aeruginosa* pelo método de difusão em disco.
Fonte: dados da pesquisa.

DISCUSSÃO

A resistência aos antibióticos por bactérias representa uma preocupação frequente, tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária e também na biologia, em virtude do potencial patogênico oportunista demonstrado pelos microrganismos⁴⁶. Os isolados clínicos empregados neste estudo são bactérias Gram negativas que manifestam o fenômeno *sheen* (figura 1), causado pelo acúmulo de 2-heptil-4-quinolona, que é atribuído a mutações no gene *lasR* da *P. aeruginosa*, implicando em microrganismos mais virulentos⁴⁷ e desafiadores que podem ser multirresistente a medicamentos (Multidrug-resistant-MDR) ou extensivamente resistente a medicamentos (extensively drug-resistant-XDR). A MDR tem sido considerada uma séria ameaça pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) nos Estados Unidos da América na última década, sendo responsável por 2.700 mortes e 767 milhões de dólares em custos de saúde⁴⁸.

A múltipla resistência aos antimicrobianos apresentada pela *P. aeruginosa* dificulta o tratamento eficaz das infecções associadas a estes microrganismos⁴⁸. A resistência antimicrobiana apresentada pelos isolados deste estudo é consistente com estes achados, evidenciando a elevada capacidade adaptativa de *P. aeruginosa* frente aos antibióticos, especialmente aos β -lactâmicos (Amoxicilina e Aztreonam) e aminoglicosídeos (Amicacina)⁴⁹. Os isolados clínicos deste estudo demonstraram ser resistentes (R) a estes fármacos, conforme visto na tabela 1. Por outro lado, a literatura afirma que a *P. aeruginosa* é sensível ao Aztreonam, mas pode apresentar uma resistência multifatorial a este fármaco que envolveria a alteração de porinas e o sistema de efluxos bacterianos⁵⁰. Pesquisadores sugerem que a resistência a um betalactâmico antipseudomonas está associado a resistência a outros β -lactâmicos convencionais *in vitro*, entretanto a

resistência clínica ainda precisa ser determinada⁴⁸. Nestes casos, a monoterapia com novos inibidores de β -lactâmicos/ β -lactamase tais como a ceftazidima-avibactam ou cefiderocol é preferível à terapia combinada com agentes convencionais seguida de escalonamento ou desescalonamento de acordo com resultados de culturas *in vitro*⁴⁸. Neste sentido, a Ceftazidima no TSA por disco-difusão aplicados neste estudo demonstrou ser eficaz contra *P. aeruginosa* que foi sensível (S) ou sensível com exposição aumentada (SA) ao fármaco conforme os critérios atualizados de interpretação da suscetibilidade definidos pelo BrCAST-EUCAST^{45,51}. A classificação sensível (S) indica que a bactéria pode ser tratada com a dose padrão do antibiótico, já sensível aumentada à exposição (I), indica que o antibiótico ainda é efetivo contra o microrganismo, desde que haja ajustes, tais como doses mais altas, alteração na posologia ou modificação da via de administração. Em contrapartida, já há relatos na literatura de resistência a Ceftazidima quando há superprodução de betalactamase AMPc por *P. aeruginosa*⁵¹.

Tal fato é particularmente preocupante, pois betalactâmicos, aminoglicosídeos e macrolídeos são frequentemente utilizados como primeira escolha para tratamento de infecções causadas por esse patógeno, tanto em humanos quanto em animais⁵⁰. Neste contexto, a Amicacina é o aminoglicosídeo mais resistente as enzimas modificadoras de aminoglicosídeos⁵² e por isso foi escolhida para compor este estudo, entretanto a literatura relata que a *P. aeruginosa* é capaz de produzir uma Acetiltransferase mediada por plasmídeo (ACC 6') que confere resistência a Amicacina⁵². Corroborando os achados divergentes para os isolados clínicos deste estudo, a *P. aeruginosa* demonstrou sendo sensibilidade (S) (cepa 23), sensibilidade com exposição aumentada (SA) (Cepa 24) e resistência (R) (cepa 35), conforme descrito na tabela 1.

Na prática odontológica, além da Amoxicilina, a Azitromicina é amplamente prescrita no tratamento de infecções odontogênicas, como abscessos e periodontites, além de ser utilizada na profilaxia antibiótica em pacientes com risco de endocardite⁵³. Pertencente a classe dos macrolídeos, age inibindo a síntese proteica bacteriana. No entanto, o uso indiscriminado desse antimicrobiano, tem contribuído para o aumento da resistência bacteriana que seleciona cepas capazes de sobreviver à ação dos antibióticos, exigindo maior rigor na prescrição e uso racional deste fármaco na Odontologia⁵³. Infelizmente, os achados encontrados neste estudo reforçam a resistência bacteriana a Azitromicina já relatada à medida que os isolados clínicos foram resistentes (R) no teste de disco-difusão, conforme demonstrado na tabela 1. Por outro lado, a literatura também relata que a Azitromicina possui eficácia clínica no tratamento de biofilmes pulmonares de *P.aeruginosa*⁵².

Dos antibióticos testados, a Ceftazidima e o Ciprofloxacino demonstraram maior eficácia frente às cepas de *P. aeruginosa* avaliadas neste estudo. O ciprofloxacino é uma fluoroquinolona, com principal ação sob enzimas do DNA bacteriano - girase e topoisomerase, responsáveis pela transcrição e replicação dos microrganismos. Os isolados clínicos de *P. aeruginosa* de canais dentários de humanos mostraram-se sensíveis (S) e sensíveis com exposição aumentada (SA), conforme limites de sensibilidade e resistência definidos pelo BrCAST-EUCAST^{45,51}. Consonante com estes achados, a literatura destaca a Ceftazidima e o Ciprofloxacino como alternativas terapêuticas viáveis no manejo clínico das infecções⁵².

No caso da Polimixina B, que é um antibiótico da classe das polimixinas, utilizado em casos de infecções causadas por bactérias Gram-negativas, que age nos fosfolípidos presentes na membrana celular externa, levando à desorganização e posterior morte celular do microrganismo, o resultado deste estudo não pode ser representativo de sensibilidade ou resistência. Apesar da Polimixina B apresentar halo de inibição médio de 16,5mm no Teste de Sensibilidade a Antimicrobiano por disco difusão, a literatura relata que a Polimixina B não difunde adequadamente neste tipo de teste, por essa razão, não há pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST⁴³ para interpretar estes resultados. Desta forma, corroborando com a literatura, para testar a resistência antimicrobiana a Polimixina B outros testes devem ser aplicados.

Diante disto, os resultados aqui obtidos reforçam a complexidade envolvida no tratamento das infecções causadas por *P. aeruginosa*, uma vez que este patógeno reúne múltiplos mecanismos de resistência que dificultam a eliminação da infecção.

CONCLUSÃO

A realização dos testes de sensibilidade antimicrobiana por difusão em discos em isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* evidenciou o perfil multifatorial dessa

espécie, caracterizada por sua elevada capacidade de adaptação e resistência intrínseca e adquirida a múltiplos agentes antimicrobianos. Os resultados demonstram a resistência da *P. aeruginosa* a Amoxicilina, Azitromicina e ao Aztreonam e revelam a inadequação do Teste de sensibilidade antimicrobiana para a polimixina B.

Em um contexto no qual a resistência antimicrobiana apresenta crescimento contínuo, este estudo contribui para a compreensão do papel fundamental de *Pseudomonas aeruginosa* na disseminação de cepas multirresistentes em ambientes clínicos. Vale ressaltar a urgência de estudos futuros que visem monitorar, compreender e controlar a propagação da resistência em ambientes hospitalares e comunitários.

REFERÊNCIAS

- Sousa T de, Hébraud M, Dapkevicius MLNE, Maltez L, Pereira JE, Capita R, et al. Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Mol Sci. 2021 Nov 29;22(23):12892. doi: 10.3390/ijms222312892
- Di Santi BT, Ribeiro MB, Endo MS, Gomes BPF de A. Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbias facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico. Rev odontol UNESP [Internet]. 2015 Jul;44(4):200-6. doi: <https://doi.org/10.1590/1807-2577.0060>
- Campos JC de M, Antunes LC, Ferreira RB. Global priority pathogens: virulence, antimicrobial resistance and prospective treatment options. Future Microbiol. 2020 May;15:649-77. doi: 10.2217/fmb-2019-0333
- Oliveira DMP de, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020 May 13;33(3):e00181-19. doi: 10.1128/CMR.00181-19
- Tomas A, Amisano F, Mercuri P, Fanara S, Verlaine O, Motte P, et al. Outer membrane permeability of *Pseudomonas aeruginosa* through β -lactams: new evidence on the role of OprD and OpdP porins. Microbiol Spectr. 2024;12(1):e00495-24. doi: 10.1128/spectrum.00495-24
- Ude J, Tripathi V, Buyck JM, Söderholm S, Cunrath O, Fanous J, et al. Outer membrane permeability: Antimicrobials and diverse nutrients bypass porins in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Aug 3;118(31):e2107644118.
- Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. J R Soc Med. 2002;95(Suppl 41):22-6.
- Chevalier S, Bouffartigues E, Bodilis J, Maillot O, Lesouhaitier O, Feuilloley MGJ, et al. Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. FEMS Microbiol Rev. 2017 Sep;41(5):698-722. doi:10.1093/femsre/fux020
- Wu W, Huang J, Xu Z. Antibiotic influx and efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Regulation and therapeutic implications. Microb Biotechnol. 2024 May;17(5):e14487. doi: 10.1111/1751-7915.14487
10. Lorusso AB, Carrara JA, Barroso CDN, Tuon FF, Faoro H. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Mol Sci. 2022 Dec 13;23(24):15779. doi: 10.3390/ijms232415779
11. Chen YT, Lohia GK, Chen S, Riquelme SA. Immunometabolic Regulation of Bacterial Infection, Biofilms, and Antibiotic Susceptibility. J Innate Immun. 2024;16(1):143-58. doi: 10.1159/000536649
12. Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. Int J Mol Sci. 2020 Nov 17;21(22):8671. doi: 10.3390/ijms21228671

13. Elfadadny A, Ragab RF, AlHarbi M, Badshah F, Ibáñez-Arancibia E, Farag A, et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Front Microbiol.* 2024 Apr 5;15:1374466. doi: 10.3389/fmicb.2024.1374466
14. Bouhrour N, Nibbering PH, Bendali F. Medical Device-Associated Biofilm Infections and Multidrug-Resistant Pathogens. *Pathogens.* 2024 May 8;13(5):393. doi: 10.3390/pathogens13050393
15. Asker D, Awad TS, Raju D, Sanchez H, Lacdao I, Gilbert S, et al. Preventing *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms on Indwelling Catheters by Surface-Bound Enzymes. *ACS Appl Bio Mater.* 2021 Dec 20;4(12):8248-58. doi: 10.1021/acsabm.1c00794
16. Walker AS, Bouley DM, Brodbelt JS, Bonomo RA, Burnham C-AD, Chatterjee A, et al. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(3):e00044-20. doi:10.1128/CMR.00044-20
17. Zhang L, Mah TF, Husain M, Hancock REW. AmpC beta-lactamase regulation and its role in *Pseudomonas aeruginosa* resistance. *Front Microbiol.* 2020;11:582723. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582723>
18. Smith J, Oliveira E, Kumar S. Not all carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* are the same: implications for treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2024;37(1):15-23.
19. Oliver A, Arca-Suárez J, Gomis-Font MA, González-Pint L, López-Causapé C. Emerging resistance mechanisms to newer β -lactams in *Pseudomonas aeruginosa* [Internet]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2025 Mar [citado 25 jun 2];69(4):e01942-24. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40120758/>
20. Perez A, Lopez- Causapé C, Del Barrio-Tofiño E. High-risk *Pseudomonas aeruginosa* clones harboring β -lactamases: 2024 update. *J Infect Dis.* 2024 Sep;229(Suppl 1):S10-8. doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jidxxxx>
21. Cornelis P, Dingemans J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013 Nov 14;3:75. doi: 10.3389/fcimb.2013.00075
22. Dell'Anno F, Vitale GA, Buonocore C, Vitale L, Palma Esposito F, Coppola D, et al. Novel Insights on Pyoverdine: From Biosynthesis to Biotechnological Application. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11507. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms231911507>
23. Lau GW, Hassett DJ, Ran H, Kong F. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends Mol Med.* 2004 Dec;10(12):599-606. doi: 10.1016/j.molmed.2004.10.002
24. Allen L, Dockrell DH, Pattery T, Lee DG, Cornelis P, Hellewell PG, et al. Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* induces neutrophil apoptosis and impairs neutrophil-mediated host defenses in vivo. *J Immunol.* 2005 Mar 15;174(6):3643-9. doi: 10.4049/jimmunol.174.6.3643
25. Schalk IJ, Mislin GL, Brillet K. *Pseudomonas aeruginosa* and its multiple strategies to access iron. *Environ Microbiol.* 2023;25(4):1123-39. doi:10.1111/1462-2920.16328
26. Vollenweider V, Rehm K, Chepkirui C, Pérez-Berlanga M, Polymenidou M, Piel J, et al. Antimicrobial activity of iron-depriving pyoverdines against human opportunistic pathogens. *Elife.* 2024 Dec 18;13:RP92493. doi: 10.7554/Elife.92493
27. Lamont IL, Beare PA, Ochsner U, Vasil AI, Vasil ML. Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 May 14;99(10):7072-7. doi: 10.1073/pnas.092016999
28. Hauser AR. The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(9):654-65. doi:10.1038/nrmicro2199
29. Bohn E, Sonnabend M, Klein K, Autenrieth IB. Bacterial adhesion and host cell factors leading to effector protein injection by type III secretion system. *Int J Med Microbiol.* 2019 Jul;309(5):344-50. doi: 10.1016/j.ijmm.2019.05.008
30. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv.* 2019 Jan-Feb;37(1):177-92. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013
31. Chatterjee M, Anju CP, Biswas L, Anil Kumar V, Gopi Mohan C, Biswas R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *Int J Med Microbiol.* 2016 Jan;306(1):48-58. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.11.004
32. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T.* 2015 Apr;40(4):277-83.
33. Yin R, Cheng J, Wang J, Li P, Lin J. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: Challenges and strategies. *Front Microbiol.* 2022 Aug 26;13:955286. doi: 10.3389/fmicb.2022.955286
34. Reuter K, Steinbach A, Helms V. Interfering with Bacterial Quorum Sensing. *Perspect Medicin Chem.* 2016 Jan 18;8:1-15. doi: 10.4137/PMC.S13209
35. Rasmussen TB, Givskov M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int J Med Microbiol.* 2006 Apr;296(2-3):149-61. doi: 10.1016/j.ijmm.2006.02.005
36. Krachler AM, Orth K. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence.* 2013 May 15;4(4):284-94. doi: 10.4161/viru.24606
37. Herskho C. Iron chelators in medicine. *Mol Aspects Med.* 1992;13(2):113-65. doi: 10.1016/0098-2997(92)90013-p
38. Priebe GP, Goldberg JB. Vaccines for *Pseudomonas aeruginosa*: a long and winding road. *Expert Rev Vaccines.* 2014 Apr;13(4):507-19. doi: 10.1586/14760584.2014.890053
39. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* 2017 Feb 14;12:1227-49. doi: 10.2147/IJN.S121956
40. Rizek C, Fu L, dos Santos LC, leite G, Ramos J, Rossi F, et al. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2014;13:43. doi:10.1186/s12941-014-0043-3
41. Schulthess B, Brodner K, Bloemberg GV, Zbinden R, Böttger EC, Hombach M. Identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and a commercial database. *J Clin Microbiol.* 2013;51(6):1822-32. doi:10.1128/JCM.00120-13
42. CLSI. Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão: Norma Aprovada – (M2-A8). 8. ed. Pensilvânia: NCCLS; 2003. 58p.
43. BrCAST. Método de disco-difusão BrCAST-EUCAST: teste de sensibilidade aos antimicrobianos. *Versão 13.0 do EUCAST.* São Paulo: BrCAST; 2025 jan [acesso em 2025 jun 9]. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Metodo-de-Disco-Difusao-BrCAST-28-03-2025.pdf>

44. Sousa C, Pinto FJ. Endocardite Infecciosa: Ainda mais Desafios que Certezas. *Arq Bras Cardiol.* 2022 Mai;118(5):976-88. doi: 10.36660/abc.20200798
45. BrCAST. *Tabela de pontos de corte clínico BrCAST-EUCAST.* São Paulo: BrCAST; 2025 Feb [acesso em 2025 jun 7]. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-clinico-BrCAST-01-02-2025.pdf>
46. Resende RP, Freitas EA, Valadares Júnior EC, Costa PC, Siqueira MC, Rossi DA. Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* em água mineral. *Pubvet.* 2015;9(3):128-34. doi:10.22256/pubvet.v9n3.128-134
47. Diggle SP, Cornelis P, Williams P, Cámara M. 2-Heptyl- 4-quinolone signalling in *Pseudomonas aeruginosa*: old molecules, new perspectives. *Int J Med Microbiol.* 2006;296(2-3):83-91. doi:10.1016/j.ijmm.2006.01.031
48. Kunz Coyne AJ, El Ghali A, Holger D, Rebold N, Rybak MJ. Therapeutic strategies for emerging multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Dis Ther.* 2022 Apr;11(2):661-82. doi:10.1007/s40121-022-00591-2
49. Jorth P, McLean K, Ratjen A, Secor PR, Bautista GE, Ravishankar S, et al. Evolved Aztreonam Resistance Is Multifactorial and Can Produce Hypervirulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio.* 2017 Oct;8(5):e00517-17. doi: 10.1128/mBio.00517-17
50. Rubio AM, Kline EG, Jones CE, Chen L, Kreiswirth BN, Nguyen MH, et al. Suscetibilidade in vitro de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente após resistência emergente do tratamento com ceftolozana-tazobactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(6):e00084-21. doi: 10.1128/AAC.00084-21
51. Ramirez MS, Tolmasky ME. Amikacin: Uses, Resistance, and Prospects for Inhibition. *Molecules.* 2017 Dec;22(12):2267. doi: 10.3390/molecules22122267
52. Kumar M, Rao M, Mathur T, Barman TK, Joshi V, Chaira T, et al. Azithromycin Exhibits Activity Against *Pseudomonas aeruginosa* in Chronic Rat Lung Infection Model. *Front Microbiol.* 2021 Apr;12:603151. doi: 10.3389/fmicb.2021.603151
53. Bohn E, Sonnabend M, Klein K, Autenrieth IB. Bacterial adhesion and host cell factors leading to effector protein injection by type III secretion system. *Int J Med Microbiol.* 2019 Jul;309(5):344-50. doi: 10.1016/j.ijmm.2019.05.008

SUBMISSÃO: 06/04/2025
ACEITE: 22/07/2025