



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE



**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E PADRÃO DE RESISTÊNCIA A DROGAS DE
Acinetobacter baumannii ISOLADOS EM PACIENTES INTERNADOS EM UM
HOSPITAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

EDLAINNY ARAUJO RIBEIRO

**GOIÂNIA-GO
2019**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE



EDLAINNY ARAUJO RIBEIRO

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E PADRÃO DE RESISTÊNCIA A DROGAS DE
Acinetobacter baumannii ISOLADOS EM PACIENTES INTERNADOS EM UM
HOSPITAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

Área de Concentração: Ciências ambientais e Saúde

Linha de Pesquisa: Sociedade, Ambiente e Saúde

Orientador: Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho

Goiânia – GO
2019

FICHA CATALOGRÁFICA

R484e Ribeiro, Edlainny Araujo
Epidemiologia molecular e padrão de resistência a
drogas de Acinetobacter baumannii isolados em pacientes
internados em um hospital na Amazônia brasileira /
Edlainny Araujo Ribeiro.-- 2019.
80 f.: il.

Texto em português com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica
de Goiás, Goiânia, 2019
Inclui referências, f. 49-73

1. Acinetobacter. 2. Drogas - Resistência em micro-organismos.
3. Testes de sensibilidade bacteriana. 4. Infecção
hospitalar. I.Carmo Filho, José Rodrigues do. II.Pontifícia
Universidade Católica de Goiás. III. Título.

CDU: Ed. 2007 -- 579.84(043)



DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE
DEFENDIDA EM 27 DE FEVEREIRO DE 2019 E CONSIDERADA
APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA:

1)

Rodrigues
Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho / PUC Goiás (Presidente/Orientador)

2)

André Kipnis
Prof. Dr. André Kipnis / UFG (Membro Externo)

3)

Imtraut Araci Hoffmann Pfrimer
Profa. Dra. Imtraut Araci Hoffmann Pfrimer / PUC Goiás (Membro)

4)

Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Jr. / PUC Goiás (Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente:

À Deus, por toda a coragem, discernimento, determinação, controle e força na escolha da direção correta a tomar e por dar-me a oportunidade de conhecer tantas pessoas iluminadas que dedicaram um pouco do seu tempo para me ajudar nos últimos dias. Agradeço a ele todas as vitórias e conquistas alcançadas durante a minha vida.

À minha família, por todo suporte, amor, confiança e estímulo. Agradeço a minha mãe Sirley Silva Araujo pelo amor e cuidado em toda a minha vida. Por ter me estimulado mesmo com condições financeiras diminutas a estudar e crescer, por me dizer sempre que eu sou dona do meu futuro. Sou imensamente grata a minha irmã Suzanny Araujo Ribeiro, por deixar seus afazeres para viajar comigo para aulas do mestrado, somente para me ajudar com a asma e o meu medo de cidade grande, obrigada pelo cuidado. Aos meus irmãos mais novos pelo carinho e cuidado. Aos meus avós, tios, tias e ao meu pai, pelo incentivo e confiança.

Ao meu companheiro Rodrigo Ayres da Silva, pela paciência, suporte amor e carinho durante estes 24 meses. Obrigada por entender que meus anseios, meus sonhos, minhas pesquisas são partes de mim, são o que me completa. Obrigada por não me cobrar atenção nos finais de semana, por me obrigar a parar um pouco para me alimentar.

Aos meus amigos Juliana Moreira, Eric Araujo e sua mãe pela hospedagem e cuidado durante as aulas do mestrado.

A todos os meus amigos, especialmente Camilla Mota pelo estímulo e amor.

E em especial a minha avó Maria de Nazaré que não está mais neste plano, mas foi crucial para o desenvolvimento deste trabalho, por sempre estimular meus anseios e sonhos principalmente voltados aos meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Rodrigues do Carmo Filho, pela confiança em mim depositada sem julgamentos prévios, por exigir sempre o meu melhor. Por mesmo que distante se fazer sempre presente, por dedicar parte de seu tempo a me orientar e aconselhar. Foi muito mais que um orientador, um amigo, sou imensamente grata pela ajuda com a análise molecular, não teria conseguido sozinha.

Aos membros da banca de avaliação Dr^a Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer e Dr. André Kipnis pelas correções e sugestões realizadas.

À professora Dr. Ana Gales e toda equipe do Laboratório ALERTA, Universidade Federal de São Paulo, pela disponibilidade em colaborar com nosso estudo por ter realizado os testes moleculares.

Ao meu grande amigo Danilo Dias Coelho por me ajudar com as coletas das amostras e armazenamento dos isolados.

Ao professor Me. Rodrigo Alves de Oliveira e a professora Me. Georgia Miranda Tomich, por sempre acreditarem no meu potencial e colaborarem com meu crescimento profissional, colaborando com a revisão deste estudo.

À Pontifícia Universidade Católica de Goiás pelo apoio e suporte dados por todos os funcionários e professores.

A toda equipe do Hospital Regional, direção e equipe técnica todos os colaboradores que contribuíram de alguma forma para realização desta pesquisa.

RESUMO

RIBEIRO, E.A. **Epidemiologia molecular e padrão de resistência a drogas de *Acinetobacter baumannii* isolados em pacientes internados em um hospital na Amazônia brasileira. 2019. 80f.** Dissertação (Mestrado) – Mestrado de Ciências Ambientais e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC, GO, Goiânia, 2019.

Introdução: *Acinetobacter baumannii* é um dos principais microrganismos oportunistas associado às IRAS e surtos em todo o mundo, especialmente em pacientes com doença de base grave que estão em tratamento em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). **Objetivos:** Determinar as características fenotípicas e moleculares de isolados de *A. baumannii* multirresistentes em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia. **Materiais e Métodos:** Estudo do tipo descritivo transversal com abordagem quantitativa, foram analisados isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenems provenientes de colonizações/infecções em pacientes internados. O perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi determinado pelo método de difusão em disco, microdiluição para polimixina e E-test® para imipenem e meropenem. A pesquisa dos principais genes que configuram resistência foi realizada por *multiplex-PCR* e a relação clonal foi investigada por análise de *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE). **Resultados:** Dentre os 18 isolados 10 (55,6%) foram produtores de carbapenemases, possuíam simultaneamente os genes *blaOXA-23* e *blaOXA-51* e pertenciam ao mesmo clone. **Conclusão:** Os resultados desse estudo indicaram que a resistência aos carbapenems foi comum a todos os isolados de *A. baumannii* os quais foram MDR. A detecção dos genes *blaOXA-23* e *blaOXA-51* foi comum a todos os isolados produtores de carbapenemases e pertenciam ao mesmo clone, revelando a possível disseminação cruzada desse microrganismo no hospital de estudo e reforçando que a resistência bacteriana é um problema emergente grave.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; Resistência a Medicamentos; Testes de Sensibilidade Microbiana; Carbapenemases; *blaOXA-23-like*; Disseminação Clonal.

ABSTRACT

RIBEIRO, E.A. **Molecular epidemiology and pattern drug resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients admitted to a hospital in the Brazilian Amazon region. 2019. 78f.** [Masters Dissertation] – Mestrado de Ciências Ambientais e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC, GO, Goiânia, 2019.

Introduction: *Acinetobacter baumannii* is one of the leading opportunistic microorganisms associated with nosocomial infections and outbreaks worldwide, especially in patients with severe underlying disease who are being treated in Intensive Care Unit (ICU). **Objectives:** To determine the phenotypic and molecular characteristics isolates of multiresistant *A. baumannii* in a hospital of medium and high complexity in the Amazon region. **Materials and Methods:** Cross-sectional descriptive study with a quantitative approach. Carbapenems resistant *A. baumannii* isolates from colonization / infections in hospitalized patients were analyzed. The antimicrobial susceptibility profile was determined by the disc diffusion method, microdilution for polymyxin and E-test® for imipenem and meropenem. Research for antimicrobial resistance genes that set resistance was performed by multiplex-PCR and the clonal relationship was investigated by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) analysis. **Results:** Among the 18 isolates 10 (55.6%) were carbapenemase producers, had the blaOXA-23 and blaOXA-51 genes and belonged to the same clone. **Conclusion:** The results of this study indicated that resistance to carbapenems was common to all isolates of *A. baumannii* which were MDR. Detection of the blaOXA-23 and blaOXA-51 genes was common to all carbapenemase-producing isolates and belonged to the same clone, revealing the possible cross-dissemination of this microorganism in the study hospital and reinforcing that bacterial resistance is a serious emerging problem.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*; Drug Resistance; Antimicrobial Susceptibility Testing; Carbapenemases; blaOXA-23-like; Clonal Dissemination.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados para detecção de genes de resistência em isolados de <i>A. baumannii</i>	29
Tabela 2. Perfil de suscetibilidade de <i>A. baumannii</i> frente aos antimicrobianos.....	43
Figura 1. Similidade genética entre os isolados de <i>A. baumannii</i> (PFGE).....	44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS:

%	Porcentagem
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual
<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
MDR-AB	<i>Acinetobacter baumannii</i> resistente a múltiplas drogas
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CHDLs	β-Lactamases classe D Hidrolisadoras de Carbapenem, do inglês Carbapenem-Hydrolysing class D β-lactamases
CIM	Concentração Mínima Inibitória
CLED	Ágar de Cistina Lactose Deficiente em Eletrólitos do inglês, <i>Cystine Lactose Electrolyte Deficient</i>
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais do inglês, <i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleicodo do inglês, Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i>
Ma	Média aritmética
MDR	Multi-drogas resistentes
MβL	Metallo-β-lactamase
OXA	Oxacilinase
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDR	Pan-resistentes a drogas
PFGE	Eletroforese em Gel de Campo Pulsado, do inglês <i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>
Sd	Desvio padrão
TSB	Caldo Triptona Soja do inglês, <i>Caldo Tryptic Soy</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
WHO	Organização Mundial da Saúde do inglês, <i>World Health Organization</i>
XDR	Extensivamente resistentes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Agente etiológico	15
2.2 Fatores de virulência do <i>Acinetobacter baumannii</i>	15
2.3 Resistência aos betalactâmicos	18
2.4 Carbapenemases em <i>Acinetobacter baumannii</i>	19
2.5 Oxacilinases em <i>A. baumannii</i>	21
2.6 Epidemiologia.....	23
3 OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos	26
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Tipo, localização e período do estudo.....	27
4.2. População do estudo, procedimento técnico para coleta, detecção e determinação fenotípica de suscetibilidade dos isolados	27
4.3 Identificação fenotípica de Carbapenemases	29
4.4 Extração do DNA e amplificação gênica por multiplex PCR	29
4.5 Tipagem molecular	31
4.6 Organização e análise dos dados	32
4.7 Considerações éticas	32
5.0 RESULTADOS	33
5.1 Artigo	33
REFERÊNCIAS	58
ANEXO A.....	75
ANEXO B.....	76

1 INTRODUÇÃO

Acinetobacter baumannii é um dos principais microrganismos oportunistas associado às infecções nosocomiais e surtos em todo o mundo, especialmente em pacientes com doença de base grave admitidos/hospitalizados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (ANTUNES et al, 2014). Além disso, dentre as espécies pertencentes a este gênero *A. baumannii* é a mais importante, pois apresenta vários fatores de virulência, que podem ser transmitidos para outras espécies (ANTUNES et al, 2014). Por suas características fenotípicas e genotípicas de resistência aos antimicrobianos que resultam em altas mortalidades, o *A. baumannii* foi considerado pela Organização Mundial Saúde (OMS) como uma das espécies de bactérias prioritárias e críticas para o desenvolvimento e pesquisa de novas opções terapêuticas (WHO, 2017; JAMAL et al, 2018).

A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de saúde pública global, e está associada ao uso inadequado de antimicrobianos resultando em consequências clínicas e prejuízos econômicos (SUTHERLAND e BARBER, 2017). A prevalência das infecções causadas por bactérias resistentes aos antimicrobianos é elevada e tem como consequência a limitação nas opções de tratamento, o prolongamento das internações, e a elevada taxa de mortalidade (FOUNOU, 2017).

Estima-se em todo o mundo, que 700 mil mortes estão associadas às infecções causadas por microrganismos multirresistentes (MDR) (SUTHERLAND e BARBER, 2017). A perda econômica mundial, também é elevada. Avalia-se que até 2050 o déficit decorrente dessas infecções poderá ser entre 60 e 100 trilhões de dólares em todo o mundo, se a disseminação e as infecções causadas por patógenos multirresistentes não forem controladas (SUTHERLAND e BARBER, 2017).

As consequências das infecções causadas por este patógeno são bem descritas em diversos estudos (SUTHERLAND e BARBER, 2017; SILEEM et al, 2017). Foi demonstrado em uma pesquisa que a mortalidade atribuída a pacientes internados em UTI diagnosticados com algum tipo de infecção por *Acinetobacter sp.* foi de 50% e de outro grupo com colonizados foi de 13,6%, com mortalidade total de 30% (SILEEM et al, 2017). Pesquisa desenvolvida na Índia, sobre mortalidade relacionada com patógenos MDR, indentificou que a taxa de mortalidade geral dos pacientes foi de 13,1% (n = 581) e houve uma relação significativa entre MDR e mortalidade. Infecções por *E. coli* MDR e extensivamente resistentes (XDR), como *K. pneumoniae* XDR e *A. baumannii* MDR foram associadas com uma mortalidade 2-3 vezes maior (GANDRA et al, 2018).

A colonização de pacientes por microrganismos MDRs tem impacto na sua evolução clínica. Pacientes colonizados/infectados por *A. baumannii* MDR apresentam maior probabilidade de irem a óbito, como demonstrado em um estudo no qual pacientes com culturas positivas na admissão da UTI foram mais propensos a morrer durante a hospitalização (24,4%) do que os negativos (18,7%) e os pacientes colonizados apresentaram 1,4 vezes mais chances de falecerem durante a internação do que os negativos (BLANCO et al, 2018).

Isolados MDRs geram ônus para o sistema de saúde, em uma pesquisa verificou-se que infecções por *A. baumannii* MDR resultam em cerca de US \$ 1,627 bilhão de dólares por ano nos Estados Unidos. Ajustando essas estimativas para o viés dependente do tempo, variaram de US \$ 481 milhões para US \$ 856 milhões de dólares (NELSON et al, 2016). Por fim, a mortalidade anual nos Estados Unidos para infecções causadas por esses microrganismos foi de 1.330 mortes/ano (NELSON et al, 2016).

A. baumannii é um microrganismo versátil por ser capaz de expressar diferentes mecanismos de resistência. A ineficácia dos carbapenêmicos está relacionada dentre outros mecanismos, principalmente com a produção de β -lactamases de classe D (oxacilinas) que os inativam (EVANS e AMYES, 2014). Já foram descritos mais de 400 tipos de oxacilinas em diferentes países, dentre elas destacam-se as OXA-23-like, OXA-24-like, OXA-58-like e OXA-51-like por sua relevância clínica e por serem as mais prevalentes (RASMUSSEN e HOIBY, 2006; LAHEY, 2018). A OXA-51 intrínseca é frequentemente codificada por gene cromossomal e as famílias OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143 e OXA-235 são adquiridas (RASMUSSEN e HOIBY, 2006).

Isolados nosocomiais de *A. baumannii* são frequentemente resistentes à maioria dos antimicrobianos atualmente disponíveis e as taxas de resistência aos carbapenêmicos variam entre países. Na América Latina, o Brasil e a Argentina possuem as maiores prevalências de resistência (50%) (RODRÍGUEZ et al, 2018). Especificamente no Brasil, as taxas de resistência aos carbapenens são elevadas e variam de 23% a 86% e o seu crescimento é rápido, como foi demonstrado nos resultados do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY, a resistência a carbapenens de isolados brasileiros de *A. baumannii* aumentou cerca de 60% entre os anos de 1977-1999 (12,6%) e 2008-2010 (71,4%) (GALES et al, 2012; FONSECA et al, 2013; MOREIRA et al, 2018).

Na América Latina e no Brasil, outras carbapenemases foram descritas OXA-23, OXA-51, OXA-58, OXA-143, IMP-1, KPC-2 e KPC-3 e NDM-1, o que reforça a importância da identificação desses genes para que se possa evitar sua disseminação por meio de medidas de controle de infecção nosocomial (RIBEIRO et al, 2016; ROCHA et al, 2017; ORTIZ et al, 2017;

CAYÔ et al, 2018). O *A. baumannii* produtor de OXA-23 é frequentemente detectado em infecções/colonizações resultantes de contaminações cruzadas, apresentando altas taxas de similaridade genética. Em um hospital universitário observou-se 90% de similaridade entre os isolados (AL ATROUNI et al, 2016; NEVES et al, 2016).

Portanto, considerando alta mortalidade associada a isolados de *A. baumannii* multirresistentes, os custos, a disseminação desse microrganismo entre os pacientes internados e a escassez de pesquisas sobre essa temática na região norte do Brasil, é relevante a realização deste estudo para que se conheçam suas características fenotípicas, genotípicas e o modo de disseminação entre os pacientes. Em face a esses conhecimentos é possível, a implementação de medidas para controle de infecções/colonizações efetivas, quebra da cadeia epidemiológica de transmissão desse microrganismo, mitigação dos índices de resistência bacteriana, redução da morbimortalidade e melhora na qualidade da assistência, visto que se trata de um hospital de referência da região sudeste do estado. Além disso, será possível contribuir com dados para literatura nacional sobre a detecção de isolados multirresistentes na região amazônica.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo determinar as características fenotípicas e genotípicas de isolados de *A. baumannii*, demonstrar sua disseminação entre os pacientes, caracterizar a resistência a carbapenens para a presença de carbapenemases e demonstrar a similaridade genética entre os isolados multirresistentes em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente etiológico

Acinetobacter sp. são bactérias que se apresentam como cocobacilos gram-negativos imóveis, catalase positivos, oxidase-negativos e não fermentadores de glicose. Pertencem à família *Moraxellaceae*, da ordem *Gammaproteobacteria*. O gênero *Acinetobacter* é subdividido em dois grupos: as espécies que oxidam a glicose, *A. baumannii* é a mais comum e as espécies que não oxidam a glicose, *A. lowffii* e *A. haemolyticus* (TORTORA, 2017).

Espécies do gênero *Acinetobacter* sp. crescem bem em meio de cultura sólido como no ágar sangue, formando colônias branco-acinzentadas e no ágar MacConkey, formando colônias de coloração levemente rosa, convexas, translúcidas e opacas. Com o advento dos métodos de biologia molecular, 31 genoespécies foram identificadas, sendo que quatro espécies; *calcoaceticus*, *baumannii*, *pitti* e *nosocomialis* foram classificadas como sendo do complexo *A. baumannii-calcoaceticus* por apresentarem características fenotípicas análogas (PELEG et al, 2008; HOWARD et al, 2012).

Organismos pertencentes a este gênero são frequentemente considerados ubíquos na natureza. Fazem parte da microbiota da orofaringe de um pequeno número de indivíduos saudáveis e podem causar danos à saúde por causa da imunodepressão principalmente durante a hospitalização (ALLEN e HARTMAN, 2010; HOWARD et al, 2012).

O *A. baumannii* é um patógeno oportunista de grande importância, sendo comumente associado a surtos de infecções nosocomiais causam, infecções do trato urinário, pneumonias associadas à ventilação mecânica, bacteremias relacionadas ao uso de cateter venoso central, peritonites, meningites, principalmente em pacientes imunodeprimidos tornando um grave problema de saúde pública (MARTINS e BARTH, 2010; MARTINS et al, 2013).

2.2 Fatores de virulência do *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii já foi considerado um patógeno nosocomial de baixa virulência, todavia, estudos recentes demonstraram sua capacidade de se instalar em ambientes hospitalares. Esse microrganismo possui a capacidade de aderir e permanecer em superfícies inanimadas e geralmente são resistentes a alguns desinfetantes (PEREZ et al, 2007; MORGAN et al, 2010; SMANI et al, 2012). A formação de biofilme é essencial para a sua sobrevivência em ambientes

hostis e pode explicar sua resistência a antibióticos (RAO et al 2008; DONELLI e VUOTTO, 2014; LONGO et al, 2014).

O estudo de *quorum sensing* na regulação de alguns fatores de virulência, como adesão bacteriana, formação de biofilme, dentre outros, permite melhor compreensão da sua patogenicidade e da interação parasita hospedeiro, além de ser um alvo atraente para o desenvolvimento de novas terapias antibacterianas (GONZÁLEZ et al, 2009; BITRIAN et al, 2012).

A capacidade desse microrganismo de sobreviver a dessecação também deve ser mencionada, pois pode ser associada à sua capacidade de sobreviver sobre superfícies inanimadas em ambientes hospitalares (HARDING et al, 2018). A resistência a dessecação em *A. baumannii* está associada a presença da cápsula de lipolissacarídeo que além de protegê-lo da fagocitose pode reter água. A membrana externa também pode ser citada como um fator que predispõem este achado, dessa forma, cabe ressaltar que essa resistência é multifatorial e deve ser esclarecida (SCOTT et al, 2014; BOLL et al, 2015; ALMASAUDI, 2018).

Além disso, genes que configuram resistência aos antimicrobianos quase sempre fazem parte do DNA plasmidial e podem ser transferidos entre microrganismos. Também compõem parte de unidades de DNA, os *transposons* que se deslocam entre o cromossomo e plasmídeos (DOMINGUES et al, 2012). A transferência horizontal de genes contribui para a variabilidade genética em patógenos humanos, permitindo a adaptação ao ambiente do hospedeiro e pode levar a múltiplas alterações genéticas no genoma das células receptoras, com impacto significativo no perfil de resistência tornando-os menos suscetíveis a antimicrobianos (WRIGHT et al, 2017).

Elementos genéticos transferidos horizontalmente são associados à disseminação de genes que configuram resistência a antibióticos e conseqüentemente o aumento da virulência, contribuindo para emergência de isolados resistentes aos antimicrobianos mais potentes e de amplo espectro (JUHAS, 2015; HOLMES et al, 2016). Apesar da gravidade deste problema, o conhecimento sobre este assunto está longe de ser completo, porém, é evidente que as políticas públicas e estratégias de mitigação devem considerar o papel de muitos fatores, incluindo os mecanismos de resistência, espécie de microrganismo, o antimicrobiano utilizado, bem como os aspectos clínicos individuais dos pacientes (JUHAS, 2015; HOLMES et al, 2016).

Mecanismos que configuram resistência aos antimicrobianos são descritos como os principais fatores de virulência para o *A. baumannii*, podem ter origem intrínseca ou adquirida e conferem resistência a quase todos os antimicrobianos de uso terapêutico. Mutações ou

alterações e aquisições de material genético exógeno do microrganismo podem facilitar a sua resistência (ZAVASCKI et al, 2007; MANGONI et al, 2014).

A aquisição de genes de resistência pode resultar na expressão de diferentes mecanismos de resistência, simultâneos ou não, como a alteração da permeabilidade da membrana, bomba de efluxo e a produção de enzimas que inativam os antimicrobianos como as betalactamases, sendo este último um dos principais mecanismos descritos para essa espécie (DAI et al, 2014; VIEIRA E PICOLI, 2015).

Dessa forma, essa bactéria apresenta-se resistente a vários antimicrobianos como os aminoglicosídeos devido a alteração dos sítios de ligação no ribossomo, a alteração na permeabilidade e a modificação enzimática da droga. A resistência aos aminoglicosídeos é codificada principalmente pelo gene *aph (3')-VIa* e do gene *aac (3')-II* no qual seu produto são enzimas que modificam grupos aminos e hidroxilos dos antibióticos (RAMOS E VELILLA, 2012).

Já as quinolonas inibem a atividade da DNA *girase* ou topoisomerase II. Ao inibir a atividade da DNA *girase*, a molécula de DNA passa a ocupar grande espaço no interior da bactéria e suas extremidades livres determinam síntese descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, determinando a morte das bactérias. Elas também inibem, *in vitro*, a topoisomerase IV, porém não é conhecido se este fato contribui para a ação antibacteriana (REECE e MAXWELL, 1991).

Os mecanismos de resistência às quinolonas envolvem mutações nos genes cromossômicos bacterianos como alteração da subunidade A da DNA *girase* ou topoisomerase IV, ou por alteração da permeabilidade à droga pela membrana celular bacteriana (GALES et al, 1997; VISCONTI et al, 2002; MARTÍNEZ, 2005; HERNÁNDEZ et al, 2015; FRASÃO et al, 2015).

Segundo Magiorakos et al (2012) a multi-droga-resistência (MDR) é definida como não suscetibilidade a pelo menos um agente em três ou mais categorias antimicrobianas, a Amplamente resistente a drogas (XDR) é caracterizada como não suscetibilidade a pelo menos um agente em todos, exceto dois ou menos categorias antimicrobianas (ou seja, os isolados bacterianos permanecem suscetível a apenas uma ou duas categorias). Pan-resistentes a drogas (PDR) é definido como não suscetibilidade a todos os agentes em todas as categorias antimicrobianas (isto é, nenhum agente testado como suscetível a esse organismo).

A multi-droga-resistência em *A. baumannii* impacta diretamente na definição do esquema de tratamento com antibióticos. Nesta circunstância cabe destacar o papel das polimixinas e da tigeciclina que são consideradas boas opções terapêuticas. Apesar das

polimixinas serem consideradas uma das últimas opções terapêuticas principalmente quando há falha na terapia com carbapenens, alguns estudos identificaram a presença de *A. baumannii* resistentes a estes antimicrobianos determinada pelos genes *pmrA* e *pmrB*. Esses genes são responsáveis pela resistência dessa bactéria a colistina, ressaltando a importância de conhecer os mecanismos de resistência dessas bactérias às polimixinas (LEAN et al, 2014; SEPAHVAND et al, 2016).

A tigeciclina inibe a tradução protéica nas bactérias, ligando-se à subunidade ribossômica 30S e bloqueando a entrada de moléculas aminoacil *RNA*t no sítio do ribossomo. Apesar disso, já há evidências de resistência a tigeciclina associada a super-expressão de sistemas de efluxo (*AdeABC* e *AcrAB-TolC*) (YUHAN et al, 2016).

2.3 Resistência aos betalactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos inibem a síntese da parede celular bacteriana. A parede celular é constituída essencialmente por polímeros de peptidoglicano, responsável pela manutenção da forma e rigidez da parede celular. Esses antimicrobianos inibem o domínio transpeptidase (enzimas importantes para síntese do peptidoglicano) dos Receptores Ligantes de Penicilinas (PBPs), originando a não ligação das cadeias de péptidos, ou seja, impede o “cross-link” do peptidoglicano, se não há síntese de peptidoglicano, não tem controle osmótico, proteção e conseqüentemente a célula bacteriana pode lisar (SCHEFFERS et al, 2005).

Essa classe de antimicrobianos apresenta as seguintes subclasses, penicilinas e derivados, cefalosporinas, carbapenens e monobactamos. Os β -lactâmicos possuem em comum, no seu núcleo estrutural, o anel β -lactâmico que confere atividade bactericida, por interferir na síntese da parede celular bacteriana inibindo a transpeptidase (KONG et al, 2010). Esta classe também consegue ativar autolisinas, ou seja, enzimas produzidas pelas bactérias que permitem a sua autodestruição. Apresentam uma ação bactericida e amplo espectro de ação. Porém, cabe ressaltar que as bactérias Gram-negativas apresentam diversos mecanismos de resistência sendo o mais comum a produção de β -lactamases, que são enzimas capazes de inativar os beta-lactâmicos (MELETIS et al, 2016).

Três mecanismos básicos de resistência aos β -lactâmicos têm sido descritos: a alteração do sítio de ligação nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), a alteração da permeabilidade da membrana externa e a degradação da droga pela produção das β -lactamases (GUSSATI et al, 2009; CASTELLANOS et al, 2014).

As β -lactamases são largamente distribuídas em bactérias gram-positivas e gram-negativas. Podem ser identificados diferentes tipos de enzimas baseando-se em suas propriedades catalíticas e moleculares. Foram divididas em classe A (serino-beta-lactamases), B (metalo-beta-lactamases), C (beta-lactamases do tipo AmpC) e D (oxacilinas) (AMBLER, 1980).

Bush, Jacob e Medeiros incluíram nestas classificações novas beta-lactamases e sugeriram uma nova classificação, onde se relaciona o perfil dos substratos e dos inibidores com a sua estrutura molecular. O sistema atualizado inclui grupo 1 (cefalosporinas pertencente à classe C), grupo 2 (serino-beta-lactamases pertencentes às classes moleculares A e D) e grupo 3 (metalo-beta-lactamases) (BUSH et al, 1995; BUSH e JACOBY, 2010).

Estudos já demonstraram que a mesma bactéria, pode expressar diferentes mecanismos de resistência (COYNE et al, 2011; AKSOY et al, 2015; POURHAJIBAGHER et al, 2016). Foi identificado em uma pesquisa, na qual 52 isolados de *A. baumannii* foram resistentes a carbapenems e expressaram a produção de carbapenemases, metalo- β -lactamases e oxacilinas (AKSOY et al, 2015).

2.4 Carbapenemases em *Acinetobacter baumannii*

A partir do final da década de 1980, os antibióticos β -lactâmicos da classe dos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem e doripenem), foram instituídos como alternativa terapêutica de última escolha para o tratamento de infecções graves causadas principalmente por bactérias gram-negativas multirresistentes (SHAH, 2008; EL-GAMAL et al, 2017). Em comparação com as penicilinas e cefalosporinas, os carbapenems são mais eficazes, por serem mais resistentes à hidrólise pela maioria das β -lactamases, conferido por sua estrutura molecular única que apresenta o anel β -lactâmico, pelo carbono no lugar do átomo de enxofre do ácido 6-aminopenicilânico e pela sua insaturação. (ZHANEL et al, 2007; MELETIS, 2016; EL-GAMAL et al, 2017).

Porém, o uso abusivo dos antimicrobianos dessa classe resultou na seleção e disseminação de genes de resistência a esses antibióticos, principalmente, por meio da produção de carbapenemases (SHAH, 2008; GUPTA et al, 2011). Entre as carbapenemases, as metalo- β -lactamases (M β LS) diferem estruturalmente das outras betalactamases por necessitarem de dois íons divalentes, usualmente o zinco como cofator para sua atividade catalítica (BUSH e JACOBY, 2010).

As MβLs de acordo com a classificação proposta por Ambler (1980) pertencem à classe molecular B. Segundo o esquema de classificação proposto por Bush (1989), com base nas suas propriedades bioquímicas, essas enzimas foram classificadas no grupo 3, condição reforçada pela classificação funcional de Bush, Jacoby, Medeiros (1995).

A identificação de novas MβLs, resultou na proposta da divisão do grupo 3 em três novos subgrupos: o subgrupo 3a, que inclui as MβLs com amplo espectro de atividade, o subgrupo 3b, que compreende as enzimas que hidrolisam preferencialmente os carbapenens e o subgrupo 3c, composto pelas enzimas que hidrolisam fracamente os carbapenens (RASMUSSEM E BUSH, 1997).

As MβLs conferem resistência a todos os beta-lactâmicos, exceto ao aztreonam (BUSH, JACOBY e MEDEIROS, 1995). São conhecidas dez famílias de MβLs: imipenemase (IMP), Verona Imipenemase (VIM), São Paulo metalo-beta-lactamase (SPM), German imipenemase (GIM), Seoul imipenemase (SIM), Austrália imipenemase (AIM), Kioryn University Hospital metalo-beta-lactamase (KHM), Dutch imipenemase (DIM-1), New Delhi metalo-beta-lactamase (NDM-1) e Tripoli metall-β-lactamase (TMB-1). Já foram descritas 56 IMP, 46 VIM, 16 NDM-1 e 2 GIM (OSANO et al, 1994; LAURETTI et al, 1999; TOLEMAN et al 2002; POIREL et al, 2003; CASTANHEIRA et al, 2004; LEE et al, 2005; MENDES et al, 2006; YONG et al, 2009; YONG et al, 2012; SALABI et al, 2012).

Já as principais serina-carbapenemases são OXA (Oxacilinas), GES (Guiana- extend spectrum) e KPC (YIGIT et al, 2001; LAHEY, 2018; QUEENAN e BUSH, 2007). Vários estudos identificaram isolados de *Acinetobacter* sp. apresentando diferentes genes de resistência que expressam proteínas capazes de hidrolisarem os beta-lactâmicos, a exemplo *bla*OXA-23, 24, 51, 58, 64, *bla*NDM-1 e *bla*GES-11, indicando assim a grande variedade de genes que codificam resistência aos carbapenêmicos encontrados nesta bactéria (PINO et al 2007; TAKAGI et al 2009; PFEIFER et al, 2011; SHAHCHERAGHI et al, 2011; CORTIVO et al, 2015). Outros genes como *bla*IMP-1 e 2 e *bla*VIM-1 e 2, *bla*KPC e *bla*SPM, também foram descritos em *Acinetobacter* sp. (NIRANJAN et al, 2013; VILLALÓN et al, 2013; CHERKAOUI et al, 2015; AZIMI et al, 2015).

Os três tipos de MβLs mais frequentemente detectadas em enterobactérias em todo mundo são os tipos IMP, VIM e NDM. Vários estudos demonstraram disseminação crescente de MβLs na América Latina, e que a maior prevalência ocorre no Brasil e na Argentina. O *bla*NDM-1 foi isolado de bactérias em hospitais no México, Cuba, Honduras e Paraguai apresentando grande capacidade de disseminação clonal e de transferência interespecies (SADER et al, 2005; BERTONCHELI e HORNER, 2005; GALES et al, 2012; JONES et al,

2013; WATERMAN et al, 2013; PASTERAN et al, 2014; BARRIOS et al, 2014; GONZÁLEZ et al, 2015; BASTIAN et al, 2015).

Acinetobacter sp. portadores de genes que codificam diferentes metalo- β -lactamases, foram isolados em diferentes países de diversos continentes. Em face a disseminação, rápida de genes de resistência, é importante que cada estabelecimento de saúde conheça os microrganismos e seus mecanismos de resistência para que aperfeiçoem as práticas de controle de infecção hospitalar e estabeleçam programas para controle do uso de antimicrobianos (ESPINAL et al, 2011; CHEN et al, 2011; POIREL et al, 2012; DECOUSSER et al, 2013; AHMED et al, 2015; CHANG et al, 2015).

No Brasil, o primeiro relato de isolados produtores de M β Ls ocorreu em 2002, e as mais frequentes, foram IMP, SPM, NDM e VIM. Como ocorre em outros países, uma diversidade de genes, isolados de *Acinetobacter* spp. que codificam diferentes enzimas, estão distribuídos por diversos estados da federação (PEREIRA et al 2015; MACIEL et al 2017; FERREIRA et al, 2017; KALLUF et al, 2017; YONG et al, 2012).

2.5 Oxacilinases em *A. baumannii*

Dentre as quatro classes moleculares, a classe D apresenta maior diversidade de enzimas, possuem perfis de hidrólises de espectros estreito ou ampliado, que podem ser resultantes de mutações pontuais. Essas enzimas são frequentes em *A. baumannii* e hidrolisam oxacilina mais eficientemente do que as benzilpenicilinas, a meticilina, amoxicilina e algumas cefalosporinas (TURTON et al, 2006; POIREL e NORDMANN, 2006; SHAHCHERAGHI et al, 2011).

As primeiras oxacilinases foram classificadas de acordo com seus pontos isoelétricos, por Sykes e Matthew sendo denominadas OXA-1, OXA-2 e OXA-3. Os genes que expressavam essas enzimas estavam localizados em componentes móveis, aumentando as chances de disseminação de resistências para outras espécies (DALE e SMITH, 1995; OUELLETTE et al, 1987; MOSSAKOWSKA et al, 1989; EVANS e AMYES, 2014; LAHEY, 2018).

Para hidrolisar os carbapenens, as oxacilinases realizam uma ligação não covalente da enzima ao antibiótico formando um complexo intermediário. Em seguida o anel β -lactâmico é atacado pelo grupo hidroxila ligado ao resíduo de serina do sítio ativo da enzima formando um grupo acil-éster. A hidrólise desse éster resulta na liberação da droga inativa. Cabe salientar que

essas enzimas são resistentes a inibição por clavulanato e tazobactam (LIVERMORE, 1995; POIREL et al, 2010; JEON et al, 2015; SGRIGNANI et al, 2016).

Quando comparadas com as MβLs, essas enzimas têm menor atividade enzimática. Entretanto, podem ser superexpressas quando associadas com elementos móveis como o *ISAbal* (*Insertion Sequence Acinetobacter baumannii*) resultando no aumento da resistência aos antimicrobianos em *A. baumannii* (TURTON et al, 2006; POIREL e NORDMANN, 2006). As *IS* são sequências de inserção menores e mais abundantes para disseminação de informações gênicas. Estes elementos podem conter fortes promotores que desempenham um papel importante na expressão dos genes de resistência a antibióticos (KOBBS et al, 2016; DOMINGUES et al, 2018).

A. baumannii produtores de oxacilinas são responsáveis por surtos em todo mundo. Atualmente já foram descritos 498 tipos de oxacilinas. Com base na sua sequência de aminoácidos, as carbapenemases de classe D foram recentemente reclassificadas em 12 subgrupos: OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-51, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 e OXA-235 (EVANS e AMYES, 2014; JEON et al, 2015; LAHEY, 2018).

Dentre essas, o subgrupo de OXA-23 *ISAbal* tem sido detectada em todo o mundo e apontado como a carbapenemase predominante em espécies de *Acinetobacter*. Outros genes que expressam oxacilinas também foram identificados em *Acinetobacter* (RODRÍGUEZ et al, 2018; LESHIO et al 2016; JOSHI et al, 2017; UWINGABIYE et al, 2017; CHEN et al, 2017; WANG et al, 2018).

No Brasil a primeira descrição de *A. baumannii* produtora de *bla*OXA-23 foi em Curitiba no ano de 2003, a partir de isolados de pacientes com infecção nosocomial (COSTA et al, 2003). Posteriormente em outros estados, como em Goiânia no qual foi o mais prevalente 55,1% com um percentual de resistência associada de 76,8%. Em Minas, Paraná, Rio de Janeiro e Maranhão observou-se percentuais de 86,9%, 57,5%, 23% e 86,6%, respectivamente (CASTILHO et al, 2017). Na região norte verificou-se escassez de estudos sobre essa temática (FONSECA et al, 2013; ROYER et al, 2015; MOREIRA et al, 2018; RODRÍGUEZ et al, 2018).

No Recife foram identificados dois casos de *A. baumannii* produtoras do gene OXA-72 em dois hospitais, com grandes semelhanças aos isolados no Estado de São Paulo. Este gene também foi detectado em *A. pittii* isolados em Belém e no Espírito Santo, destacando a relevância de outras espécies para sua disseminação. Este fato reforça a importância do mapeamento destes genes para que se possa evitar sua disseminação e consequentemente a

redução nas opções terapêuticas (CAVALCANTI et al, 2013; CHAGAS et al, 2017; BRASILIENSE et al, 2018).

Rocha et al, (2017), relataram a detecção do gene o *blaOXA-23-like* em 87% dos isolados. Identificaram também 12 (13%) isolados produtores de *blaOXA-24-like* do Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo. Em um estudo realizado em um hospital universitário brasileiro analisou-se isolados de *A. baumannii* provenientes de pacientes infectados/colonizados internados na UTI, verificou-se que 59,0% dos pacientes morreram durante a internação hospitalar e resistência aos carbapenêmicos foi associada à alta prevalência dos genes *blaOXA-23* 51,2% (NEVES et al, 2016).

Desta forma, é possível afirmar que as oxacilinas são distribuídas no Brasil, e são associadas ao aumento da mortalidade entre pacientes internados devido correlação com altos índices de resistência (SONG et al, 2011; GUSSATTI et al, 2012; CORTIVO et al, 2015; LIU et al, 2016; MAVROIDI et al, 2017; CAVALCANTI et al, 2017).

Atualmente esse microrganismo é responsável por surtos de difícil controle, devido sua ampla gama de fatores de virulência. A disseminação dos genes *blaOXA* em espécies de *Acinetobacter* sp. é considerada uma preocupação crescente uma vez que, as linhagens que possuem estes genes, apresentam resistência a quase todos os antibióticos (TURTON et al, 2006; SARI et al, 2013). O monitoramento periódico da epidemiologia molecular e dos mecanismos de resistência de *A. baumannii* são imprescindíveis. No entanto, a maioria dos dados publicados são referentes a situações epidemiológicas das regiões sul e sudeste do país, ressaltando a importância de estudos nas demais regiões do país (TIAN et al, 2018; SAAVEDRA et al, 2018).

2.6 Epidemiologia

A emergência de *A. baumannii* multirresistentes é um problema de saúde pública em todo o mundo, pois resulta na redução da disponibilidade de antibióticos com atividade contra este patógeno. Conseqüentemente, ocorre o aumento da morbidade e do índice de mortalidade associado a estas infecções (VIEIRA e PICOLI, 2015).

As principais infecções causadas por *A. baumannii* são no trato urinário, respiratório, cavidade peritoneal e são frequentemente associadas ao uso de dispositivos internos. A diferenciação de colonização/infecção é complexa de difícil de ser feita para esse microrganismo (JUNG E PARK, 2015).

As Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (IRAS)/colonizações, adquiridas em ambientes hospitalares foram responsáveis pela maioria dos óbitos. Os fatores de risco relacionados com o aumento de óbito entre os pacientes com IRAS foram, as co-morbidades, pneumonia associada ou não à ventilação mecânica, intubação orotraqueal e traqueostomia. A presença de resistência a múltiplas drogas em isolados de *A. baumannii* foi descrita como o principal fator de risco para mortalidade entre pacientes de uma UTI na Colômbia (LEMOS et al, 2011; SOUZA et al, 2015).

Surtos de *A. baumannii* resistentes a carbapenens são descritos em várias partes do mundo, e a disseminação desse patógeno ocorre por meio da transferência inter-hospitalar de pacientes colonizados, como os que ocorreram no Centro Clínico Universitário de Kosova e na Espanha (RAKA et al, 2009; MERINO et al, 2014) . Isso enfatiza a necessidade de se adaptar programas de vigilância e controle de infecções para prevenir colonização e infecção por *A. baumannii* multirresistentes em ambiente hospitalar (ZARRILLI et al 2009; MARTINS, 2012; MERINO et al, 2014; HALACHEV et al, 2014).

O *A. baumannii* foi descrito como a bactéria mais frequentemente isolada em infecções hospitalares seja ela resistente aos antimicrobianos ou não. Esta bactéria isolada de pacientes com IRAS, foi identificada com a responsável por endocardites, infecções urinárias associada ao uso de cateter e elevada incidência de pneumonias associadas a ventilação mecânica (OLIVEIRA et al, 2010; PATEL et al, 2015; SAMRAH et al, 2016; PROTIC et al, 2016; MOGHNIEH et al, 2016; CHEN et al, 2015).

Cabe ressaltar que as IRAS geram mais custos para o sistema de saúde, observando maiores gastos na internação em unidades de terapia intensiva (NANGINO et al 2012). A medida que aumenta a probabilidade de infecções por *A. baumannii* os custos para o hospital também se elevam; para uma probabilidade de infecção de 20%, o custo caso variou entre \$ 4.472 e \$ 8.246 dólares, se for aumentada a probabilidade para 70% aumentará o custo para valores entre \$ 15.977 e \$ 29.019 ± dólares (LEE et al, 2010; LEMOS et al, 2013; ASIM et al, 2016).

Em um hospital da Colômbia o custo médio total de hospitalização entre pacientes com *A. baumannii* resistente a carbapenem foi significativamente maior do que entre os pacientes com *A. baumannii* suscetível a carbapenem (custo ajustado: US \$ 11.359 dólares versus US \$ 7.049 respectivamente) (LEMOS et al, 2014).

Além de ser frequentemente isolado de paciente com IRAS, o *A. baumannii* multirresistente, também foi isolado de superfícies inanimadas e efluentes de esgotos hospitalares sendo responsáveis pela disseminação de genes resistência no meio ambiente, os

quais poderão ser transferidos para microrganismos da microbiota ambiental (GUSSATTI et al 2009; FERREIRA, 2010).

Portanto, considerando todos os prejuízos à saúde de pacientes internados e o risco aumentado de ocorrência de óbitos associados a IRAS bem como sua contaminação em efluentes hospitalares, torna-se relevante a implantação de estratégias de prevenção e esforços que visem a melhoria da qualidade da assistência à saúde.

A identificação do patógeno, o conhecimento de seus mecanismos de resistência, características fenotípicas e análise molecular destes isolados, irão direcionar diagnósticos e tratamentos corretos evitando maiores gastos ao sistema de saúde e possibilitar o conhecimento de sua disseminação no meio ambiente.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar as características fenotípicas e moleculares de isolados de *A. baumannii* multirresistentes em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o fenótipo da resistência de *A. baumannii* a carbapenêmicos;
- Demonstrar sua disseminação entre os pacientes internados;
- Detectar isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenens para a presença de carbapenemases;
- Determinar o perfil molecular de resistência aos carbapenêmicos de isolados de *A. baumannii*.
- Demonstrar a similaridade genética entre os isolados de *A. baumannii* em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Tipo, localização e período do estudo

Foi realizado um estudo do tipo descritivo transversal com abordagem quantitativa no período de setembro de 2017 a fevereiro de 2018, em um hospital público regional que presta serviços de média e alta complexidade em diferentes especialidades, e que atende uma população estimada de 541.000 habitantes, localizado no bioma amazônico, no estado do Pará (Brasil). A temperatura média anual é de 25,35 °C, a umidade relativa é elevada, com média anual de 78% e o índice pluviométrico anual médio é de 2.000 mm (IBGE, 2017, HRP, 2018).

O estudo foi desenvolvido em um hospital regional localizado na cidade de Redenção, ao sudeste do estado do Pará. Atualmente são disponibilizados 98 leitos, 21 na clínica médica, 36 na clínica cirúrgica, 12 na clínica pediátrica, 06 na clínica obstétrica, 09 na unidade de terapia intensiva (UTI) adulto, 05 na UTI neonatal, 05 na UTI pediátrica e 04 em leito dia (HRP, 2018).

Dentre as diversas especialidades destaca-se a nefrologia, onde o serviço de transplantes foi implantado em 2012. O HRP dispõe de serviço de Terapia Renal Substitutiva com 24 máquinas de hemodiálise e capacidade de atender a 167 pacientes distribuídos em quatro turnos (HRP, 2018).

4.2. População do estudo, procedimento técnico para coleta, detecção e determinação fenotípica de suscetibilidade dos isolados

Foram incluídas amostras de pacientes que estavam em tratamento no hospital com diagnóstico de IRAS/colonizações causadas por *A. baumannii*-MDR com resistência a carbapênicos, um isolado por paciente, entre os meses de setembro de 2017 a fevereiro de 2018. Os isolados analisados foram obtidos de amostras clínicas como secreções traqueais, hemoculturas, swabs de vigilância, ponta de cateter. Os isolados foram obtidos por indicação clínica do médico assistente, com finalidade diagnóstica.

As amostras clínicas foram cultivadas em Ágar Sangue por 24 horas à 35°C±2°C. Os isolados foram identificados pela coloração de Gram, posteriormente cultivados em Ágar MacConkey por 24 horas à 35°C±2°C. As colônias que cresceram em meio Ágar MacConkey, foram identificadas por meio de provas bioquímicas usando o painel Bactray I e II (Laborclin®). Esse teste utiliza dez diferentes substratos contidos em cada painel. As provas

consistem em, O-nitrofenol-beta-d-galacto-piranoside (ONPG), Sulfeto de Hidrogênio (H₂S), Indol (INC), Adontol (ADO), Sorbitol (SOR), Arginina Dehidrolase (ADH), Hidrolise (Uréia), Citrato (CIT), Salicina (SAL), Sacarose (SAC), Lisina Descarboxilase (LDC), Vogesproskauer (VP), Malonato (MAL), Arabinose (ARA), Manitol (MAN), Ornitina Descarboxilase (ODC), Fenilalanina (FD), Ramnose (RAM), Inositol (INO) e Rafinose (RAF).

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de difusão em disco, e interpretado de acordo com o *Clinical and Laboratorial Standards Institute* (CLSI, 2018) para os seguintes antimicrobianos: piperacilina-tazobactam (100/10µg), ceftazidime (30µg), cefotaxime (30µg), cefepime (30µg), gentamicina (10µg), amicacina (30µg), tetraciclina (30µg), ciprofloxacino (5µg), levofloxacino, trimetropim-sulfametoxazol, imipenem (10µg), meropenem (10 µg), aztreonam (30µg), amoxicilina-clavulanato (20/10 µg) e cefalotina (30µg). Para os antimicrobianos polimixina (0,125- 64 µg/mL), tigeciclina (1-2 µg/mL) realizou-se teste de microdiluição em caldo.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida pela fita de E-teste®, para os isolados classificados com resistência aos carbapenêmicos imipenem e meropenem pelo teste qualitativo. Como controle foi usado a cepa padrão *E. coli* ATCC 35218. A CIM para Tigeciclina foi determinada utilizando o aparelho *MicroScan AlkAway*®, e interpretadas de acordo com limites estabelecidos pelo FDA (sensível ≤ 2 µg/mL e resistente ≥ 8 µg/mL) (IDELEVICH et al, 2018; FDA, 2018). A multi-drogaresistência (MDR) foi definida como resistência a três ou mais classes das drogas testadas (MAGIORAKOS et al, 2012).

Na determinação da CIM para a polimixina B utilizou-se o método de microdiluição em caldo (Policimbac®- PROBAC), e a cepa de *E. coli* ATCC 35218 foi usado como controle. As concentrações testadas variaram de 0,125 até 64 µg/ml. Realizou-se uma suspensão ajustada para 10⁵ UFC/mL, sendo inoculado 100µl da suspensão na cavidade controle de crescimento (CC) e posteriormente nas cavidades contendo um gradiente de concentração da droga de 0,125 a 64 µg/ml. Sendo primeiramente administrada no poço CC do painel, e logo após nas cavidades de menor concentração para o de maior concentração. Em seguida os painéis de microdiluição foram recolocados nas embalagens originais e incubados por 24 horas em estufa a 35° ± 2°C.

Para realização da leitura, foi adicionado em cada cavidade 1 gota da solução reveladora, em seguida foram incubadas novamente na estufa por 1 hora. As concentrações que exibiram crescimento bacteriano ficaram com coloração avermelhada. As CIMs foram anotadas baseando-se na observação da concentração onde não houve crescimento bacteriano. Foram consideradas resistentes quando a CIM foi ≥ 4 µg/mL (CLSI, 2018).

4.3 Identificação fenotípica de Carbapenemases

Para detecção fenotípica de carbapenemases foram utilizados os kits Carbapenembac™ e Carbapenembac-Metalo™. Colônias isoladas foram suspensas em Caldo Mueller-Hinton Seletivo até obter um número aproximado de 3 bilhões de bactérias por mL por comparação à escala de Mc Farland nº 10. Sobre a fita Carbapenembac® foi aplicado 150 µL da suspensão bacteriana, e incubada a 35±2 °C por 60 minutos. Após adição de 200 µL da solução de Iodo, e mantida a placa em temperatura ambiente, foi feita a leitura após 15 a 30 minutos. A detecção de isolado carbapenemase positiva, pode ser feita através da visualização de bordas amarelas esbranquiçadas a branca total da fita. Esta mudança de cor se deve ao fato de que quando ocorre a hidrólise do anel β-lactâmico há liberação de ions que acidificam o meio, na presença de um ácido o composto amilose-iodo é quebrado e a tira fica clara (MARTINO et al, 2015; MARTINS et al, 2016).

Somente os isolados positivos na primeira etapa foram testados no Carbapenembac-Metalo™ para diferenciar entre as enzimas do tipo serino-carbapenemases e Metallo-β-lactamases a suspensão bacteriana foi feita na Solução Seletiva contendo EDTA. A mudança de cor da fita para branco indicou a presença de enzima do tipo serina-carbapenemases, pois as mesmas não são inibidas pelo EDTA. As fitas que permaneceram de cor roxa durante a prova indicaram a presença metalo-β-lactamases. Estes testes apresentaram elevada sensibilidade e especificidade (MARTINO et al, 2015; MARTINS et al, 2016).

Os isolados de *A. baumannii* produtores de carbapenemases (n=10) foram armazenadas em criotubos contendo 1mL de TSB caldo contendo 15% de glicerol, em seguida foram congeladas em freezer a -4°C. Os isolados permaneceram no biorrepositório até o término do projeto de pesquisa, por fim, foram autoclavados antes de serem descartados.

4.4 Extração do DNA e amplificação gênica por multiplex PCR

Todos os isolados positivos no teste fenotípico para carbapenemases (n=10) tiveram sua identificação confirmada por MALDI-TOF (ALMIRALL et al, 2017; CAMPANA et al, 2017) e rastreados para os genes *blaSPM*, *blaIMP*, *blaVIM*, *blaGIM*, *blaSIM*, *blaNDM*,

blaKPC, *blaOXA-23*, *blaOXA-24*, *blaOXA-51*, *blaOXA-58* e *blaOXA-143* seguindo protocolos já validados de multiplex PCR, com primers previamente descritos (Tabela 1).

O material genético bacteriano foi extraído pelo método de fervura. Em um tubo de microcentrífuga foi adicionado 350 µL de água Milli-Q® estéril (Millipore, Billerica, EUA) e 3 a 5 colônias bacterianas previamente isoladas em placas de MacConkey (Oxoid®, Basingstoke, Inglaterra).

A suspensão foi fervida por 15 minutos e, então, centrifugada por 5 minutos a 12.000 rpm em temperatura ambiente. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, sendo mantido a 4° C até o momento do uso. Esta metodologia foi aplicada para a extração do DNA de todas as amostras do estudo, que foram utilizadas como *template* nas reações de PCR realizadas.

Para a reação da PCR foram preparadas para cada reação, em fluxo laminar, uma mistura contendo 25 µL de *master mix* (TopTaq®- QIAGEN), 15,8 µL de água estéril (Water, Molecular Biology Grade, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha), 0,5 µL dos iniciadores VIM, SPM, GIM e SIM, 5 µL do iniciador degenerado IMP e 0,2 µL do iniciador do controle interno da reação. Os controles utilizados seguiram as recomendações descritas nas referências disponíveis na Tabela 1. Todos os iniciadores utilizados estavam a uma concentração inicial de 10 µM (Tabela 1). A mistura foi mantida a aproximadamente 4° C durante seu preparo e, após leve agitação 24 µL foi transferido para cada tubo de amplificação, ao qual foi adicionado 1 µL do DNA previamente extraído.

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados para detecção de genes de resistência em isolados de *A. baumannii*

Oligonucleotídeo	Sequência 5'-3'	Tamanho do fragmento (pb)	T _m (°C)	Referência
Multiplex SPM F	CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG	798	55,6	Mendes <i>et al.</i> , 2007
Multiplex SPM R	CCTTTTCCGCGACCTTGATC		56,3	
Multiplex IMP F	GAATAG(A/G)(A/G)TGGCTTAA(C/T)TCTC	188	49,2	Mendes <i>et al.</i> , 2007
Multiplex IMP R	CCAAAC(C/T)ACTA(G/C)GTTATC		45,5	
Multiplex VIM F	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	382	54,8	Mendes <i>et al.</i> , 2007
Multiplex VIM R	AATGCGCAGCACCAGGATAG		58,0	
Multiplex GIM F	TCAATTAGCTCTTGGGCTGA	72	54,9	Mendes <i>et al.</i> , 2007

Multiplex GIM R	CGGAACGACCATTGAATGG		54,3	
Multiplex SIM F	GTACAAGGGATTCCGGCATCG	569	55,9	Mendes <i>et al.</i> , 2007
Multiplex SIM R	TGGCCTGTTCCCATGTGAG		57,5	
Pré-NDM F	GGCGTTAGATTGGCTTACACC	1.146	56,1	Quiles <i>et al.</i> , 2015
Pré-NDM R	CTGGGTCGAGGTCAGGATAG		56,4	
KPC F	TCGCTAAACTCGAACAGG	785	51,9	Bratu <i>et al.</i> , 2005
KPC R	TTACTGCCCGTTGACGCCCAATCC		63,7	
Multiplex OXA-23 F	GATCGGATTGGAGAACCAGA	501	54,0	Woodford <i>et al.</i> , 2006
Multiplex OXA-23 R	ATTTCTGACCGCATTTCAT		52,5	
Multiplex OXA-24 F	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	246	54,9	Woodford <i>et al.</i> , 2006
Multiplex OXA-24 R	AGTTGAGCGAAAAGGGGATT		54,5	
Multiplex OXA-51 F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353	53,3	Woodford <i>et al.</i> , 2006
Multiplex OXA-51 R	TGGATTGCACTTCATCTTGG		53,0	
Multiplex OXA-58 F	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599	55,6	Woodford <i>et al.</i> , 2006
Multiplex OXA-58 R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		57,2	
Pré-OXA-143 F	AGTTAACTTTCAATAATTG	825	40,1	Higgins <i>et al.</i> , 2009
Pré-OXA-143 R	TTGAAAATTATATAATCCC		42,3	

Continuação tabela-1. Fonte: Autores da pesquisa

4.5 Tipagem molecular

A similaridade genética entre os isolados de *A. baumannii* portadores de OXA-23 e OXA-51 (n=10) foi determinada pela técnica de *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), como marcadores de pesos moleculares utilizou-se a escala *Lambda PFGE Ladder*® (GelSyringe™). Os isolados foram enviados para o Laboratório ALERTA da Universidade Federal de São Paulo. As preparações do DNA genômico foram feitas a partir de uma suspensão bacteriana digerida com a enzima de restrição *ApaI* (Uniscience, Miami, USA) e os fragmentos

de DNA foram separados em gel de agarose 1% (Invitrogen, Eragny, FR) com TBE 0,5X (Tris base ácido bórico EDTA e água destilada), no sistema CHEF-DR II (Bio-Rad Laboratories, California, USA) à temperatura de 14°C e utilizando corrente elétrica de 200 Volts (6V/cm) com switch time inicial de 5 e final de 35 segundos durante 19 horas.

O gel foi corado com UniSafe Dye[®] (Uniscience, Miami, USA) e fotografado sob luz ultravioleta. As fotos obtidas dos géis de PFGE foram analisadas pelo programa *BioNumerics* versão 5.0 (Applied Maths, Kortrijk, BE). Em todas as imagens, a definição de bandas foi realizada automaticamente pelo programa e depois conferida individualmente, por comparação visual. A interpretação foi realizada de acordo com o Coeficiente de Similaridade de Dice (DICE, 1945), e o dendrograma formado pelo método UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) (SNEATH e SOKAL, 1973). Tolerância nas posições de 0,8% e um limiar de similaridade de 80% foi utilizada para a divisão dos isoladas em grupos clonais.

4.6 Organização e análise dos dados

Os dados foram tabulados em tabelas do Excel (*Microsoft*, 2013) com o emprego de filtros e consolidados por meio da codificação apropriada de cada uma das variáveis no estudo e o programa *BioEst* 5.3. A análise foi realizada utilizando-se de testes de estatística descritiva por meio de distribuições absolutas e percentuais.

4.7 Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, com o registro de número 68277817.9.0000.0037 atendendo a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466, de 12 dezembro 2012. O armazenamento de amostras biológicas seguiu as recomendações da Resolução Conselho Nacional Saúde Nº 441, de 12 de maio de 2011 (Anexo A).

5.0 RESULTADOS

Os resultados deste estudo estão apresentados em forma de artigo que será encaminhado para a revista **Microbial Drug Resistance** (Qualis A2 para Interdisciplinar e B1 para Ciências biológicas III - ANEXO B).

5.1 Artigo

Artigo Principal

Title: Epidemiologia molecular e padrão de resistência a drogas de *Acinetobacter baumannii* isolados em pacientes internados em um hospital na Amazônia brasileira

Running title: *A. baumannii* multirresistente na Amazônia

Edlainny Araujo Ribeiro^{a*}

José Rodrigues do Carmo Filho^b

^a Discente Mestrado Ciências Ambientais e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Brasil

^b Docente Mestrado Ciências Ambientais e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Brasil

Abstract

Introdução: *Acinetobacter baumannii* é um dos principais microrganismos oportunistas associado às IRAS e surtos em todo o mundo, especialmente em pacientes com doença de base grave. **Objetivos:** Determinar as características fenotípicas e genotípicas de isolados de *A. baumannii*, demonstrar sua disseminação entre os pacientes, caracterizar a resistência a carbapenens para a presença de carbapenemases e demonstrar a similaridade genética entre os isolados multirresistentes em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia. **Materiais e Métodos:** Estudo do tipo descritivo transversal com abordagem quantitativa de isolados de *A. baumannii* provenientes de colonizações/infecções. O perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi determinado pelos métodos de difusão em disco, microdiluição para polimixina e tigeciclina e E-test®. A pesquisa dos principais genes que configuram

resistência aos carbapenems foi realizada por *multiplex-PCR* e a relação clonal foi investigada por *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE). **Resultados:** Dentre os 18 isolados 10 (55,6%) foram produtores de carbapenemases e desses 100% possuíam os genes *blaOXA-23* e *blaOXA-51* e pertenciam ao mesmo clone. **Conclusão:** Os resultados desse estudo indicaram que a resistência aos carbapenems foi comum a todos os isolados de *A. baumannii* os quais foram MDR. Dentre todos os antimicrobianos testados a tigeciclina apresentou melhor desempenho. Desta forma, cabe ressaltar que a resistência bacteriana é um problema grave emergente.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; Resistência a Múltiplos Medicamentos; Testes de Sensibilidade Microbiana; Carbapenemases; *blaOXA-23-like*; Disseminação Clonal.

Introdução

Acinetobacter baumannii é um patógeno oportunista que apresenta vários fatores de virulência que são associados a infecções nosocomiais e surtos em todo o mundo, especialmente em pacientes com doença de base grave e admitidos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI).¹ As infecções causadas por esse microrganismo são um problema de saúde pública global, cujo o principal fator relacionado à resistência é o uso inadequado de antibióticos.^{1,2} Cerca de 700 mil mortes em todo o mundo são associadas a microrganismos multirresistentes (MDR) e até 2050 no mundo pode haver uma perda econômica entre 60 e 100 trilhões de dólares se a multirresistência não for controlada.³

Por expressar diferentes mecanismos de resistência o *A. baumannii* foi considerado pela Organização Mundial Saúde (OMS) como uma das bactérias prioritárias e críticas para o desenvolvimento e pesquisa de novas opções terapêuticas.² Em infecções causadas por *A. baumannii* é comum a detecção de resistência a múltiplos agentes antimicrobianos de amplo espectro como carbapenems, isolados resistentes à polimixina e tigeciclina são raros, mas a ocorrência já foi relatada.^{4,5}

Análise do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY demonstrou que a resistência a carbapenems de isolados brasileiros de *A. baumannii* aumentou cerca de 60% entre os anos de 1977-1999 (12,6%) e 2008-2010 (71,4%).⁶ Surtos causados por *A. baumannii*, resistentes aos carbapenems classificados como multirresistentes (MDR), extensivamente resistentes (XDR) e mesmo pan-resistentes a drogas (PDR) foram relatados em todo o mundo.^{7,8}

Pacientes colonizados/infectados por *A. baumannii* MDR apresentam maior probabilidade de irem a óbito, como demonstrado em um estudo cuja a positividade para *A. baumannii* MDR na admissão da UTI aumentou a probabilidade de falecimento 24,4% versus 18,7% e os pacientes colonizados apresentaram 1,40 vezes mais chances de morrer durante a internação do que os negativos.⁹ A resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii* é frequentemente atribuída a produção de β -Lactamases Classe D hidrolisadoras de Carbapenem (CHDLs).⁵

Já foram descritos mais de 400 tipos oxacilinases em diferentes países, dentre elas destacam-se as OXA-23-like, OXA-24-like, OXA-58-like e OXA-51-like por sua relevância clínica e por serem as mais frequentes.^{10,11} Isolados nosocomiais de *A. baumannii* são frequentemente resistentes a maioria dos antimicrobianos atualmente disponíveis, na América Latina, o Brasil e a Argentina possuem as maiores prevalências de resistência a carbapenems (50%).¹²

A. baumannii positivo para *bla*OXA-23 é frequentemente detectado em contaminações cruzadas, apresentando alta similaridade genética.¹³ Em um hospital universitário observou-se 90% de similaridade entre os isolados, no qual 59,0% dos pacientes vieram a óbito durante a internação hospitalar e a resistência aos carbapenêmicos foi associada ao gene *bla*OXA-23 (51,2%).¹³

Além disso, cabe ressaltar que a colonização ambiental e de pacientes por *A. baumannii* MDR é um fator de risco para a disseminação desse patógeno entre pacientes e para o

desenvolvimento de infecções subsequentes.¹⁴ Essa bactéria permanece viável por longos períodos no meio ambiente, toleram a dessecação e são capazes de sobreviver em superfícies secas inanimadas por vários meses, favorecendo sua rápida disseminação por contaminação cruzada nos ambientes hospitalares.¹⁵

Portanto, considerando a alta mortalidade associada a isolados de *A. baumannii* multirresistentes, os custos, a disseminação desse microrganismo entre os pacientes internados e a escassez de pesquisas sobre essa temática na região norte do Brasil, é relevante a realização deste estudo para que se conheçam suas características fenotípicas, genotípicas e o modo de disseminação entre os pacientes. Em face a esses conhecimentos, possibilitar a implementação de medidas de controle de infecção/colonizações efetivas, a quebra da cadeia epidemiológica de transmissão desse microrganismo, mitigação dos índices de resistência bacteriana, redução da morbimortalidade e melhora a qualidade da assistência. Além disso, será possível contribuir com dados para literatura nacional sobre a detecção de isolados multirresistentes na região amazônica.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo determinar as características fenotípicas e genotípicas de isolados de *A. baumannii* resistentes a carbapenens, demonstrar sua disseminação entre os pacientes, caracterizar a resistência a carbapenens para a presença de carbapenemases e demonstrar a similaridade genética entre os isolados multirresistentes em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia.

Material e Métodos

Tipo, localização e período do estudo

Foi realizado um estudo do tipo descritivo transversal com abordagem quantitativa no período de setembro de 2017 a fevereiro de 2018, em um hospital público regional que presta serviços de média e alta complexidade de diferentes especialidades, e que atende uma

população estimada de 541.000 habitantes, localizado no bioma amazônico, no estado do Pará (Brasil). A temperatura média anual é de 25,35 °C, a umidade relativa é elevada, com média anual de 78% e o índice pluviométrico anual médio é de 2.000 mm.^{16,17}

O estudo foi desenvolvido em um hospital localizado na cidade de Redenção no sudeste do Estado do Pará, são oferecidos leitos para as especialidades clínicas: médica, cirúrgica, pediatria, obstetrícia, terapia intensiva para pacientes neonatais, pediátricos e adultos.¹⁷ Destacando a especialidade de nefrologia com a realização de transplante renal e o serviço de terapia renal substitutiva.¹⁷

População do estudo, procedimento técnico para coleta, identificação e teste de suscetibilidade

Foram incluídas amostras de pacientes que estavam em tratamento no Hospital Regional com diagnóstico de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)/colonizações causadas por *A. baumannii* resistentes aos carbapenems imipenem e meropenem (n=18), um isolado para cada paciente, entre os meses de setembro de 2017 a fevereiro de 2018. Os isolados analisados foram obtidos de amostras clínicas como secreções traqueais, hemoculturas, swab de ferida pós-operatória, ponta de cateter e swab inguinal. Os isolados foram obtidos por indicação clínica do médico assistente, com finalidade diagnóstica.

As amostras clínicas foram cultivadas em ágar sangue por 24 horas à 35°C±2°C. Os isolados foram identificados pela coloração de Gram, posteriormente, cultivados em ágar MacConkey por 24 horas à 35°C±2°C. Colônias que cresceram em meio ágar MacConkey, foram identificadas por meio de provas bioquímicas usando o painel Bactray I e II (Laborclin®).

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de difusão em disco, e interpretado de acordo com o *Clinical and Laboratorial Standards Institute*¹⁸ para os seguintes antimicrobianos: piperacilina-tazobactam (100/10µg), ceftazidime (30µg), cefotaxime (30µg), cefepime (30µg), gentamicina (10µg), amicacina (30µg), tetraciclina (30µg), ciprofloxacino (5µg), levofloxacino, trimetropim-sulfametoxazol, imipenem (10µg), meropenem (10 µg), aztreonam(30µg) e cefalotina (30µg). Para os antimicrobianos polimixina (0,125- 64 µg/mL), tigeciclina (1-2 µg/mL) realizou-se teste de microdiluição em caldo.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida pela fita de E-teste® (BIOMÉRIEUX), para os isolados classificados com resistência aos carbapenêmicos imipenem e meropenem pelo teste disco-difusão. Como controle foi usado a cepa padrão *E. coli* ATCC 35218. Na determinação do CIM para a polimixina B utilizou-se o método de microdiluição (Policimac®- PROBAC), e a ATCC 35218 foi a cepa controle. As concentrações testadas variaram de 0,125 até 64 µg/ml, foram consideradas resistentes quando a CIM foi ≥ 4 µg/mL (CLSI, 2018). A CIM para Tigeciclina foi determinado pelo *MicroScan AlkAway® 96 plus* (MIC panel type 40, Beckman Coulter, West Sacramento, USA) e foram interpretadas de acordo com limites estabelecidos pelo FDA (sensível ≤ 2 µg/mL e resistente ≥ 8 µg/mL).^{19,20} A resistência a múltiplas drogas foi definida como resistência a três ou mais classes das drogas testadas.⁷

Identificação fenotípica de Carbapenemases

Para detecção fenotípica de carbapenemases foram utilizados os kits Carbapenembac™ e Carbapenembac-Metalo™ (PROBAC®). Isolados carbapenemases positivos apresentaram mudança na coloração da fita para branca, esta mudança de cor se deve ao fato de que quando ocorre a hidrólise do anel β -lactâmico há liberação de íons que acidificam o meio, na presença de um ácido o composto amilose-iodo é quebrado e a tira fica clara.²¹

Isolados positivos no CarbapenembacTM foram submetidos ao teste Carbapenembac-MetaloTM (PROBAC[®]). A mudança da cor indicando positividade para serinocarbenemases, pois as mesmas não são inibidas pelo EDTA.²¹

Extração do DNA e amplificação gênica por multiplex PCR

Todos os isolados positivos no teste fenotípico para carbapenemases (n=10) tiveram sua identificação confirmada por MALDI-TOF.²² O DNA cromossomal foi extraído de 3 a 5 colônias após fervura por 15 minutos com posterior centrifugação a 12.000 rpm em temperatura ambiente. Os iniciadores utilizados para amplificações dos genes foram: blaVIM, blaSPM, blaGIM, blaIMP, blaSIM e blaOXA, blaNDM, blaKPC, blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51, blaOXA-58 e blaOXA-143 os quais foram descritos e validados previamente (Tabela 1). A PCR foi realizada em um volume final de 25 µL de *master mix* (TopTaq[®]- QIAGEN), contendo 25 ng de DNA e 0,5 µL de cada iniciador.

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificação de genes de resistência em isolados de *A. baumannii*

Oligonucleotídeo	Sequência 5'-3'	Tamanho do fragmento (pb)	Tm (°C)	Referência
Multiplex SPM F	CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG	798	55,6	Mendes <i>et al.</i> , 2007 ²³
Multiplex SPM R	CCTTTCCGCGACCTTGATC		56,3	
Multiplex IMP F	GAATAG(A/G)(A/G)TGGCTTAA(C/T)TCTC	188	49,2	Mendes <i>et al.</i> , 2007 ²³
Multiplex IMP R	CCAAAC(C/T)ACTA(G/C)GTTATC		45,5	
Multiplex VIM F	GTTTGTCGCATATCGCAAC	382	54,8	Mendes <i>et al.</i> , 2007 ²³
Multiplex VIM R	AATGCGCAGCACCAGGATAG		58,0	
Multiplex GIM F	TCAATTAGCTCTGGGCTGA	72	54,9	Mendes <i>et al.</i> , 2007 ²³
Multiplex GIM R	CGGAACGACCATTGAATGG		54,3	
Multiplex SIM F	GTACAAGGGATTCCGGCATCG	569	55,9	Mendes <i>et al.</i> , 2007 ²³

Multiplex SIM R	TGGCCTGTTCCCATGTGAG		57,5	
Pré-NDM F	GGCGTTAGATTGGCTTACACC	1.146	56,1	Quiles <i>et al.</i> , 2015 ²⁴
Pré-NDM R	CTGGGTCGAGGTCAGGATAG		56,4	
KPC F	TCGCTAAACTCGAACAGG	785	51,9	Bratu <i>et al.</i> , 2005 ²⁵
KPC R	TTACTGCCCGTTGACGCCCAATCC		63,7	
Multiplex OXA-23 F	GATCGGATTGGAGAACCAGA	501	54,0	Woodford <i>et al.</i> , 2006 ²⁶
Multiplex OXA-23 R	ATTTCTGACCGCATTTCAT		52,5	
Multiplex OXA-24 F	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	246	54,9	Woodford <i>et al.</i> , 2006 ²⁶
Multiplex OXA-24 R	AGTTGAGCGAAAAGGGGATT		54,5	
Multiplex OXA-51 F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353	53,3	Woodford <i>et al.</i> , 2006 ²⁶
Multiplex OXA-51 R	TGGATTGCACTTCATCTTGG		53,0	
Multiplex OXA-58 F	AAGTATTGGGGCTGTGCTG	599	55,6	Woodford <i>et al.</i> , 2006 ²⁶
Multiplex OXA-58 R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		57,2	
Pré-OXA-143 F	AGTTAACTTTCAATAATTG	825	40,1	Higgins <i>et al.</i> , 2009 ²⁷
Pré-OXA-143 R	TTGGAAAATTATATAATCCC		42,3	

Continuação tabela-1. Fonte: Autores da pesquisa

Tipagem molecular

A similaridade genética entre os isolados de *A. baumannii* foi determinada pela técnica de *Pulsed-field Gel Electrophoresis* (PFGE), como marcadores de pesos moleculares utilizou-se a escala *Lambda PFGE Ladder*® (GelSyringe™). Isolados foram enviados para o Laboratório ALERTA da Universidade Federal de São Paulo onde as preparações do DNA genômico foram desenvolvidas. A suspensão bacteriana foi digerida com a enzima de restrição *ApaI* (Uniscience, Miami, USA) e os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose 1% (Invitrogen, Eragny, FR) com TBE 0,5X (Tris base ácido bórico EDTA e água destilada),

no sistema CHEF-DR II (Bio-Rad Laboratories, California, USA) à temperatura de 14°C e utilizando corrente elétrica de 200 Volts (6V/cm) com switch time inicial de 5 e final de 35 segundos durante 19 horas. O gel foi corado com UniSafe Dye® (Uniscience, Miami, USA) e fotografado sob luz ultravioleta. As fotos obtidas dos géis de PFGE foram analisadas pelo programa *BioNumerics* versão 5.0 (Applied Maths, Kortrijk, BE). Em todas as imagens, a definição de bandas foi realizada automaticamente pelo programa e depois conferida individualmente, por comparação visual.

A interpretação foi realizada de acordo com o Coeficiente de Similaridade de Dice²⁸ e o dendrograma formado pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages)²⁹. Tolerância nas posições de 0,8% e um limiar de similaridade 80% foi utilizada para a divisão dos isoladas em grupos clonais.

Organização e análise dos dados

Os dados foram tabulados em tabelas do Excel (*Microsoft*, 2016) com o emprego de filtros e consolidados por meio da codificação apropriada de cada uma das variáveis no estudo e o programa *BioEst* 5.3. A análise foi realizada utilizando-se de testes de estatística descritiva por meio de distribuições absolutas e percentuais.

Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, com o registro de número 68277817.9.0000.0037 atendendo a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466, de 12 dezembro 2012 (Anexo A).

Resultados

No período entre setembro de 2017 a fevereiro de 2018 foram detectados 18 isolados de *A. baumannii*-MDR, resultantes de infecções nosocomiais/colonizações em 18 pacientes internados. Houve maior prevalência de positividade em homens 61,1% (n=11), cuja idade

C6	2	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C7	8	<0,5	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C8**	4	≥8	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C9**	8	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C10	8	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C11*	2	≥8	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C12**	NT	NT	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C13**	4	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C14*	2	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C15	4	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C16**	8	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C17**	8	≥8	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
→C18**	1	<1	≥32	≥32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

POL: Polimixina, AMI: amicacina, TGC: Tigeciclina, ATM: aztreonam, CFL: cefalotina, CPM: cefepime, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, CIP: ciprofloxacino, GEN: gentamicina, IMP: imipenem, MER: meropenem, PIT: Piperacillin-tazobactam, TET: tetraciclina. R: resistente; S sensível. NT: não testado; * Isolado fenotipicamente positivo para metalo-β-lactamase; ** Isolado fenotipicamente positivo para serino-carbapenemases; → Isolados positivos para *blaOXA-23* e *blaOXA-51*.

Os 10 isolados caracterizados como produtores de carbapenemases, possuíam simultaneamente os genes *blaOXA-23* e *blaOXA-51* e a ausência para os demais genes. A análise por PFGE revelou que os isolados positivos para produção de carbapenemases pertenciam ao mesmo clone (Figura 1).

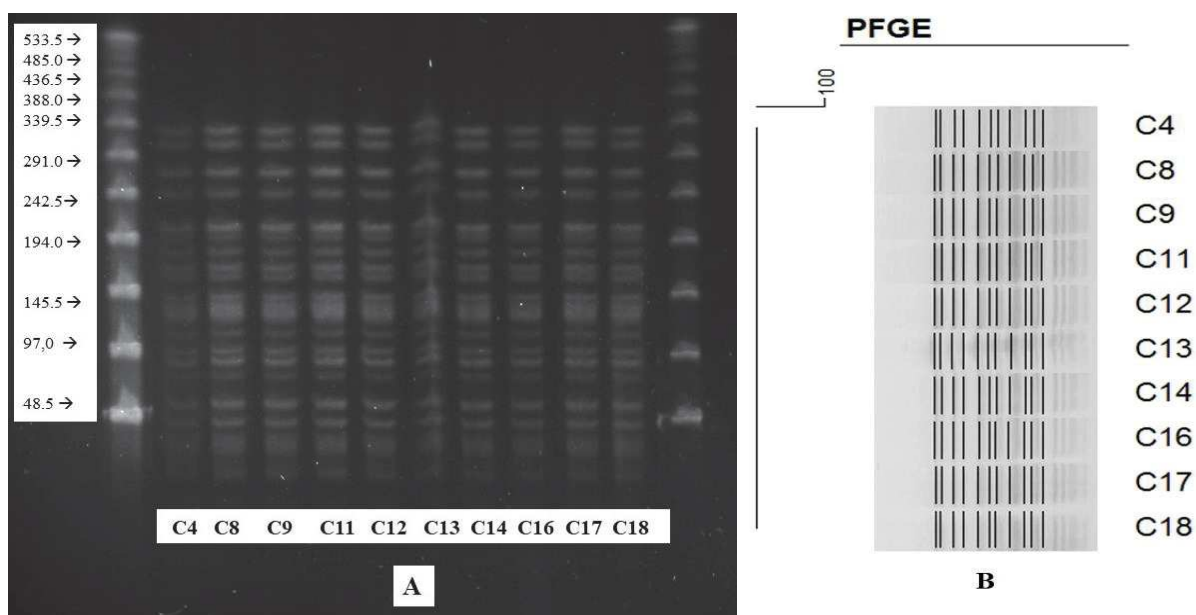


Figura 1 – A- PFGE demonstrando a similaridade entre isolados produtores de carbapenemases e positivos para bla-OXA-23. B- Dendrograma representando perfis de PFGE de isolados de *A. baumannii* produtoras de carbapenemases e isoladas de 10 pacientes em tratamento em um hospital na amazônia brasileira, Brasil. O número de identificação dos isolados pode ser encontrado à direita dos perfis.

Discussão

A. baumannii resistentes a múltiplas drogas (MDR-AB) são frequentemente isolados de pacientes colonizados e/ou acometidos por IRAS, em especial nos ambientes hospitalares (HUANG et al, 2018). Essas infecções ocorrem principalmente em pacientes, com doença de base severa e pior prognóstico que são submetidos a procedimentos invasivos, em uso de antibióticos de amplo espectro e internados em UTI.³⁰

Uma das principais características desse patógeno é a capacidade de expressar múltiplos mecanismos de resistência aos principais antimicrobianos, com destaque para a produção de Oxacilinases.^{31,32} As infecções causadas por bactérias produtoras de carbapenemases de classe D são um desafio para os clínicos, uma vez que configuram resistência a antimicrobianos como os carbapenens, frequentemente utilizados como uma das últimas opções para os tratamentos das infecções graves causadas por bactérias MDRs.³³

Tratar as infecções causadas por MDR-AB é complexo, principalmente quando a resistência é comum a todos os antimicrobianos frequentemente usados na prática clínica.³³ No presente estudo, todos os isolados apresentaram perfil de multirresistência com taxas de resistência para a polimixina elevadas, isso se deve provavelmente ao uso extensivo e ou inadequado das polimixinas para o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas MDRs.³³ Em um estudo realizado no Rio de Janeiro a maioria dos isolados foi resistente as polimixinas (81,5%), destacando a importância para o uso adequado de antimicrobianos.³⁴

Estudos locais e regionais, com uma amostra maior de isolados de *A. baumannii*, devem ser realizados para que os resultados reflitam melhor a característica epidemiológica local. Nesse estudo a maioria dos isolados foram sensíveis a tigeciclina, ressaltando que pode ser uma boa opção terapêutica para pacientes infectados por *A. baumannii* MDR.⁴ A tigeciclina foi licenciada para o tratamento de infecções em algumas topografias, mas tem sido amplamente utilizada para o tratamento de várias outras infecções causadas pelo *A. baumannii* resistente ao carbapenem.³⁵

O guideline da Sociedade Britânica de Quimioterapia Antimicrobiana recomenda para o tratamento das infecções causadas por cepas produtoras de carbapenemases, o uso da colistina com aminoglicosídeos ou tigeciclina quando são suscetíveis a esses agentes, mas resistentes ao meropenem.³⁶ Embora licenciada apenas para infecções intra-abdominais complicadas, infecções de tecidos moles da pele e pneumonia bacteriana adquirida na comunidade, tem sido amplamente utilizada para o tratamento de várias outras infecções causadas pelo *A. baumannii* MDR.³⁵

Dessa forma, estudo randomizado controlado evidenciou que a terapia combinada de meropenem e colistina não melhorou a resposta clínica em infecções graves por *A. baumannii* produtores de carbapenemases.³⁷ Outra pesquisa demonstrou que, a terapia combinada com doses elevadas de colistina e dose padrão de tigeciclina não foram associadas com menor

mortalidade por bacteremia causada por MDR-AB em pacientes criticamente enfermos.³⁸ O tratamento das infecções por *Acinetobacter* MDR parece ser controverso e indica que a questão da terapia combinada não está definitivamente estabelecida.

Sendo assim, o tratamento deverá ser individualizado, e a sua definição deverá ter como base a melhor evidência com abordagens combinadas.³⁸ O uso empírico da polimixina deve ser feito com moderação, considerando a prevalência da resistência local, que pode ser diferente entre regiões em um mesmo país.^{4,39}

A maioria dos isolados de *A. baumannii* deste estudo foi obtida de pacientes, colonizados e em tratamento na UTI. É preciso salientar que a colonização/infecção de pacientes por isolados MDR é uma importante fonte de disseminação de linhagens resistentes entre hospitais.⁴⁰ Pode elevar a transferência entre os pacientes colonizados e os suscetíveis e para o meio ambiente por meio da dispersão de aerossóis ou de instrumentos contaminados, também constituem um fator de risco para o desenvolvimento de infecções nosocomiais.¹⁴

Estudo realizado com 122 pacientes colonizados ou infectados por *A. baumannii* demonstrou que a mortalidade associada foi de 22% entre os pacientes colonizados e 27% entre os pacientes infectados. Em termos de mortalidade apresentaram relevâncias clínicas equivalentes.⁴¹ As consequências da colonização ou da infecção exigem o aprimoramento das medidas assistenciais, podendo reduzir o acometimento por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenens em UTIs.^{41,42}

O estudo fenotípico demonstrou que alguns isolados eram produtores de metalo- β -lactamases e serinocarbapenemases do tipo KPC, porém não foram detectados genes específicos para expressão dessas enzimas. Isso pode ser explicado pela característica molecular da OXA-23 que é um dímero na sua forma ativa, todavia o EDTA impede a dimerização da enzima e a perda da sua atividade contra os carbapenens.⁴³ A identificação errônea da resistência aos carbapenêmicos leva ao tratamento inadequado e à disseminação de genes de

resistência.⁴⁴ Portanto, resultados positivos em testes fenotípicos de triagem para detecção de Metallo- β -Lactamases em *A. baumannii*, devem ser confirmados por metodologia molecular.⁴⁴

Os genes *blaOXA-23* e *blaOXA-51* foram detectados por *multiplex*PCR em todos os isolados produtores de carbapenemases e foram associados com o fenótipo MDR. Esses genes são os tipos OXA carbapenemases mais comuns, que contribuem para a resistência ao imipenem e meropenem em isolados de *A. baumannii* e são endêmicos em vários Estados brasileiros.⁴⁵ O gene *blaOxa-23* é encontrado em plasmídeo dessa bactéria, facilitando sua transferência horizontal, enquanto o gene *blaOxa-51* é encontrado no cromossomo.⁵

A. baumannii produtores de genes do tipo *blaOXA* foram descritos em um estudo apresentando resistência a carbapenens de 90% e mortalidade associada de 73,91%.⁴⁶ Isolados MDR portadores do gene *blaOXA-23* e OXA-51 foram isolados em outros locais destacando a disseminação gênica.^{46,47}

A expressão de *OXA-type* carbapenemases é o mecanismo de resistência mais comum em *A. baumannii*, porém, menos efetivo que outros mecanismos enzimáticos.⁴⁸ Ainda assim, é conhecido que os isolados produtores de oxacilinases são resistentes a múltiplos antimicrobianos. Microrganismos que apresentam o gene *blaOxa-23* tem CIMs elevados para imipenem e meropenem, mas os que contem apenas o gene *blaOXA-51*, a CIM é menor em razão da reduzida atividade hidrolítica para os carbapenens.^{5,47} No entanto, a atividade hidrolítica das carbapenemases OXA-23 e OXA-51 é aumentada quando os genes *blaOxa-23* e *blaOxa-51* são superexpressos e portanto deverão ser mais elucidados como a presença do *ISAbal*.⁴⁹

O padrão de PFGE demonstrou alta similaridade e disseminação de cepas de *A. baumannii* produtoras de *blaOXA-23* e *51*. Condizendo com estudos em que isolados provenientes de UTI apresentaram 91,8 % e 100% de similaridade genética.^{50,51} Esse padrão de PFGE sugere que a transmissão dos isolados de *A. baumannii* relacionados com as

infecções/colonizações dos pacientes foi cruzada, cuja fonte de disseminação pode ter sido a equipe de saúde ou os equipamentos e fômites contaminados. Além disso, o fato de que os pacientes internados em clínicas médicas tinham sido transferidos da UTI, ressalta que a mesma pode ter sido o foco da transmissão cruzada desses isolados⁵²

A disseminação clonal de microrganismos requer adoção de esforços e medidas estratégicas de prevenção que visem à melhoria da qualidade da assistência à saúde por meio da execução das boas práticas de controle de infecção já conhecidas.⁵³ Podem ser citadas precauções de contato, culturas de vigilância ativa, monitoramento, auditoria e feedback de medidas, isolamento do paciente, higiene das mãos, limpeza ambiental e restrição do uso de antimicrobianos.^{53,54}

Além disso, surtos causados por *A. baumannii* MDR positivos para *bla*OXA-23 além de apresentarem altos índices de mortalidade associados, geram ônus de forma direta e indireta.⁵⁵ Em um estudo, um surto com duração de 17 semanas gerou gastos estimados em US \$ 474.474 dólares, se seguissem as recomendações para controle e prevenção de surtos os custos seriam de US \$ 190.265 dólares.⁵⁵

Nosso estudo teve algumas limitações. Primeiro, o número de isolados foi relativamente pequeno. Segundo os pacientes incluídos apresentavam diversas comorbidades, alguns foram submetidos a múltiplas internações e os dados secundários eram preenchidos de forma errônea o que dificultou a avaliação do impacto nos números relacionados à colonização/infecção.

Conclusão

Os resultados desse estudo indicaram que a resistência aos carbapenêmicos foi comum a todos os isolados de *A. baumannii* os quais foram MDR. A detecção dos genes *bla*OXA-23 e *bla*OXA-51 foi comum a todos os isolados produtores de carbapenemases que pertenciam ao mesmo clone, revelando a possível disseminação cruzada desse microrganismo no hospital de

estudo. Esses resultados reforçam a necessidade de se fazer o rastreamento dos pacientes colonizados/infectados e o treinamento frequente dos profissionais que prestam assistência aos pacientes, tanto na UTI quanto nas clínicas, pois a resistência bacteriana é um problema emergente e que necessita de máxima atenção e esforços que visem sua mitigação. Dentre todos os antimicrobianos testados a tigeciclina foi o que apresentou o melhor desempenho.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos a Ana Paula Streling e a Profa. Dra. Ana Cristina Gales, diretora do laboratório ALERTA/Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias/Universidade Federal de São Paulo, pela realização da PCR e do *Pulsed-Field Gel Electrophoresis*.

APOIO FINANCEIRO

Esta pesquisa foi realizada com recursos próprios.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse em relação à pesquisa.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram com a idealização do estudo, a análise e a interpretação dos dados e com a redação do manuscrito, aprovando a versão final publicada. Declaram ser responsáveis pelo conteúdo integral do artigo, garantindo sua precisão e integridade.

REFERÊNCIAS

1. Founou, R. C., Founou, L. L., e Essack, S. Y. 2017. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 12: 1-18
2. Jamal, S. Al Atrouni, A., Rafei, R., Dabboussi, F., Hamze, M., Osman, M. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*, with a special focus on its epidemiology in Lebanon. 2018. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 30:154-163.

3. Sutherland, N., Barber, S. 2017. O'Neill Review into Antibiotic Resistance. House of Commons Library, F1, Issue 1. Available at: <https://research.briefings.parliament.uk/ResearchBriefing/Summary/CDP-2017-0074>.
4. Castilho, S.R.A., Godoy, C.S.M., Guilarde, A.O., Cardoso, J.L., André, M.C.P., Junqueira, K.A.P., Kipnis, A. 2017. *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility profiles. PLoS One. 12: 1-13.
5. Evans, B.A., Amyes, S.G. 2014. OXA β -lactamases. Clin Microbiol Rev. 2:241-63.
6. Gales, A.C., Castanheira, M., Jones, R.N., Sader, H.S. 2012. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 73:354–360.
7. Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T., Monnet, D.L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin. Microbiol. Infect. 18:268-281.
8. Sileem, A.E, Said, A.M., Meleha, M.S. 2017. *Acinetobacter baumannii* in ICU patients: A prospective study highlighting their incidence, antibiotic sensitivity pattern and impact on ICU stay and mortality. Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis. 66:693–698
9. Blanco, N., Harris, A.D., Rock, C., Johnson, J.K., Pineles, L., Bonomo, R.A. Srinivasan, A., Pettigrew, M.M., Thom, K.A. 2017. Risk Factors and Outcomes Associated with Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* upon Intensive Care Unit Admission. Antimicrob. Agents Chemother. 62: 1-7.

10. Rasmussen, J.W., Hoiby, N. 2006. OXA-type carbapenemases. *J. Antimicrob. Chemother.* 57:373-383.
11. Lahey. 2017. Lahey clinic: β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes. 2017. Available from: <https://www.lahey.org/Studies/>.
12. Rodríguez, C.H., Nastro, M., Famiglietti, A. 2018. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Rev. Argent. Microbiol.* 50:327-33.
13. Neves, F.C., Clemente, W.T., Lincopan, N., Paião, I.D., Neves, P.R., Romanelli, R.M. 2016. Clinical and microbiological characteristics of OXA-23- and OXA-143-producing *Acinetobacter baumannii* in ICU patients at a teaching hospital, Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 20:556-563.
14. Landelle C, Legrand P, Lesprit P, Cizeau F, Ducellier D, Gouot C, Bréhaut, P., Altrach, S. S., Girou, E., Buisson, C.B. 2013. Protracted outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* after intercontinental transfer of colonized patients. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 34:119-124.
15. Harding, C.M., Hennon, S.W., Feldman, M.F. 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat. Rev. Microbiol.* 16:91-102.
16. Brazilian Institute of Geography and Statistics. 2018. IBGE: Panorama cidades. Available from: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/redencao/panorama>.
17. Regional Hospital of Araguaia. 2018. HSPA: Who we are. Available from: <http://hrpa.org.br/quem-somos/>.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI document M100-S28. Wayne: CLSI; 2018. 226 p.

19. Food and Drug Administration. FDA: TYGACIL®. 2018. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/021821s016lbl.pdf.
20. Idelevich, E.A., Freeborn, D.A., Seifert, H., Becker, K. 2018. Comparison of tigecycline susceptibility testing methods for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 91:360–362.
21. Martino, M.D., Koga, P.C., Pasternak, J., Doi, A.M., Ciola, C.S., da Silva, C.B. Araújo, M.R.E., 2015. Evaluation of a new rapid test for carbapenemase detection in carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*. *J. Microbiol. Methods*. 115:20-21.
22. Almirall, M.M., Cosgaya, C., Higgins, P.G., Van, A.A., Telli, M., Huys, G., Lievens, B., Seifert, H., Dijkshoorn, L., Roca, I., Vila, J. 2017. MALDI-TOF/MS identification of species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group revisited: inclusion of the novel *A. seifertii* and *A. dijkshoorniae* species. *Clin. Microbiol. Infect.* 23:1-9.
23. Mendes, R.E., Kiyota, K.A., Monteiro, J., Castanheira, M., Andrade, S.S., Gales, A.C., Pignatari, A.C.C., Tufik, S. 2006. Rapid Detection and Identification of Metallo-β-Lactamase-Encoding Genes by Multiplex Real-Time PCR Assay and Melt Curve Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 45:544–547.
24. Quiles, M.G., Rocchetti, T.T., Fehlberg, L.C., Kusano, E.J.U., Chebabo, A., Pereira, R.M., Gales, A. C., Pignatari, A.C.C. 2014. Unusual association of NDM-1 with KPC-2 and armA among Brazilian *Enterobacteriaceae* isolates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 48:174–177.
25. Bratu, S., Tolaney, P., Karumudi, U., Quale, J., Mooty, M., Nichani, S., Landman, D. 2005. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56:128–132.

26. Woodford, N., Ellington, M.J., Coelho, J.M., Turton, J.F., Ward, M.E., Brown, S., Amyes, S.G.B., Livermore, D. M. 2006. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 27:351-353.
27. Higgins, P.G., Poirel, L., Lehmann, M., Nordmann, P., Seifert, H. 2009. OXA-143, a Novel Carbapenem-Hydrolyzing Class D -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 53:5035–5038.
28. Dice, L.R. 1945. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology.* 26:297–302.
29. Sneath, P.H., Sokal, R.R. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman. 573-573.
30. Huang, H., Chen, B., Liu, G., Ran, J., Lian, X., Huang, X., Wang, N., Huang, Z. 2018. A multicenter study on the risk factors of infection caused by multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Infect. Dis.* 18:1-11.
31. Munoz-Price, L.S., Weinstein, R.A. 2008. *Acinetobacter* infection. *N. Engl. J. Med.* 358:1271-1281.
32. Asif, M., Alvi, I.A., Rehman, S.U. 2018. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect. Drug. Resist.* 21:1249-1260.
33. Davandeh, I., Eraç, B., Aydemir, S.Ş. 2017. Investigation of class-d beta-lactamases causing carbapenem resistance in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Turk. J. Med. Sci.* 47:1661-1666.
34. Genteluci, G.L., Gomes, D.B.C., Souza, M.J., Carvalho, K.R., Villas, B.M.H.S. 2016. Emergence of polymyxin B-resistant *Acinetobacter baumannii* in hospitals in Rio de Janeiro. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2:91-95.

35. Curcio, D. 2009. Off-label use of antibiotics in hospitalized patients: focus on tigecycline. *J. Antimicrob. Chemother.* 64:1344-1346.
36. Hawkey PM, Warren RE, Livermore DM, McNulty CAM, Enoch DA, Otter JÁ, Wilson, A. P. R. 2018. Treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy/Healthcare Infection Society/British Infection Association Joint Working Party. *J. Antimicrob. Chemother.* 73:78.
37. Paul, M., Daikos, G.L., Mangoni, E.D., Yahav, D., Carmeli, Y., Benattar, Y.D., Skiada, A., Andini, R., Eliakim-Raz, N., Nutman, A., Zusman, O., Antoniadou, A., Pafundi, P.C., Adler, A., Dickstein, Y., Pavleas, I., Zampino, R., Daitch, V., Bitterman, R., Zayyad, H., Koppel, F., Levi, I., Babich, T., Friberg, L.E., Mouton, J.W., Theuretzbacher, U., Leibovici, L. 2018. Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases.* 18:391–400.
38. Amat, T, Pizarra, AG, Machuca, I, Ahufinger, IG, Nadales, EP, Giménez, ÁT, Garnacho-Montero, J., Cisneros, J.M., Torre-Cisneros, J. 2018. The combined use of tigecycline with high-dose colistin might not be associated with higher survival in critically ill patients with bacteraemia due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection.* 24:630–634.
39. França, R.O., Costa, P.S., Milanez, G.L., Bomfim, M.R.Q., Gonçalves, R., Farias, L.M., Nobre, V., Santos, S.G. 2018. Molecular association of pathogenicity and resistance to multiple antimicrobials in *Acinetobacter baumannii* strains recovered from patients with diverse infectious diseases. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 54:288-295.

40. O'Neil, C.A., Li, J., Leavey, A., Wang, Y., Hink, M., Wallace, M., Biswas, P., Burnham, C.D., Babcock, H.M. 2017. Characterization of Aerosols Generated During Patient Care Activities. *Clin. Infect. Dis.*65:1335-1341.
41. Aspas, A.M., Sánchez, F.M.G., Colchero, F.G., Rodríguez, S.R., González, J.A.G. 2018. Differential characteristics of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: risk factors, clinical picture, and mortality. *Infect. Drug. Resist.* 6:861-72.
42. Rutala, W.A., Kanamori, H., Gergen, M.F., Nelson, L.P.K., Bennett, E.E.S., Chen, L.F., Anderson, D.J., Sexton, D.J., Weber, D.J. 2018. Prevention Epicenters Program. Enhanced disinfection leads to reduction of microbial contamination and a decrease in patient colonization and infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 39:1118-1121.
43. Martins, A.F., Borges, A., Pagano, M., Dalla-Costa, L.M., Barth, A.L. 2013. False-positive results in screening for metallo- β -lactamase are observed in isolates of *Acinetobacter baumannii* due to production of oxacilinases. *Braz. J. Infect. Dis.* 17:500-501.
44. Vogne, C., Prod'hom, G., Jaton, K., Decosterd, L.A., Greub, G. 2014. A simple, robust and rapid approach to detect carbapenemases in Gram-negative isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: validation with triple quadrupole tandem mass spectrometry, microarray and PCR. *Clin. Microbiol. Infect.* 20:1106-1112.
45. Rocha, L., Pagano, M., Campos, J.C., Sampaio, J.L.M., Martins., A.F., Barth, A.L. 2017. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil: susceptibility profile and diversity of oxacillinases. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 53:358-361.
46. Schuertz, K.F., Tuon, F.F., Palmeiro, J.K., Conte, D., Telles, J.P.M., Trevisoli, L.E., Dalla-Costa, L.M. 2018. Bacteremia and meningitis caused by OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* - molecular characterization and susceptibility testing for alternative antibiotics. *Braz. J. Microbiol.* 1:199-204.

47. Royer, S., de Campos, P.A., Araújo, B.F., Ferreira, M.L., Gonçalves, I.R., Batistão, D.W.D.F., Brígido, R.T.E.S., Cerdeira, L.T., Machado, L.G., de Brito, C.S., Gontijo-Filho, P.P., Ribas, R.M. 2018. Molecular characterization and clonal dynamics of nosocomial blaOXA-23 producing XDR *Acinetobacter baumannii*. PLoS One. 13: 1-14.
48. Pogue, J.M., Mann, T., Barber, K.E., Kaye, K.S. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. Expert Rev. Anti. Infect. Ther. 11:383-393.
49. Salimizand, H., Noori, N., Meshkat, Z., Ghazvini, K., Amel, S.J. 2015. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* harboring ISAbal/bla OXA-23-like family in a burn center. Burns. 41:1100-1106.
50. Dettori, M., Piana, A., Deriu, M.G., Lo Curto, P., Cossu, A., Musumeci, R., Cocuzza C., Astone, V., Contu, M.A., Sotgiu, G. 2014. Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit. New Microbiol. 37:185-191.
51. Gokmen, T., Akcimen, B., Kayar, B., Marzi, M., Koksall, F. 2016. The outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 and OXA-51 type carbapenemases in a state hospital. Journal of Experimental and Clinical Medicine. 33:157-161.
52. Deborah, H.L.N.G., Marimuthu, K., Lee, J.J., Khong, W.X., Ng, O.T., Zhang, W., Poh, B.F., Rao, P., Raj, M.D.R., Ang, B., De, P.P. 2018. Environmental colonization and onward clonal transmission of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) in a medical intensive care unit: the case for environmental hygiene. Antimicrob. Resist. Infect. Control. 7:1-8.
53. Centers for Disease Control and Prevention. 2018. CDC: What CDC is Doing: Antibiotic Resistance (AR) Solutions Initiative. 2018. Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/solutions-initiative/index.html?>

54. Tomczyk, S., Zanichelli, V., Grayson, M.L., Twyman, A., Abbas, M., Pires, D., Allegranzi, B., Harbarth, S. 2018. Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* in Healthcare Facilities: A Systematic Review and Reanalysis of Quasi-experimental Studies. *Clin. Infect. Dis.* 1: 1-12.
55. Gagnaire, J., Gagneux, B.A., Pouvaret, A., Grattard, F., Carricajo, A., Favier, H., Mattei, A., Pozzetto, B., Nuti, C., Lucht, F., Berthelot, P., Botelho-Nevers, E. 2017. Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*: An outbreak report with special highlights on economic burden. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 47:279–285.

REFERÊNCIAS

AHMED, M.G.S. et al. High Prevalence of blaNDM-1 Carbapenemase-Encoding Gene and 16S rRNA armA Methyltransferase Gene among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in Egypt. J. ASM, v.59, n.6, p. 3602-3605, jun, 2015.

AKSOY, M. D; ÇAVUŞLU, S; TUĞRUL, H. M. Investigation of Metallo Beta lactamases and Oxacilinases in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Inpatients. Balkan. Med. J. Colorado, v.32, n. 1, p.79-83, 2015.

AL ATROUNI, A. et al. Wide spread of OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to clonal complex II in different hospitals in Lebanon. Int J Infect Dis, v.52, n.1, p.29-36, 2016.

ALLEN, D. M; HARTMAN, B. J. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010.

ALMIRALL, M. M. et al.. MALDI-TOF/MS identification of species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group revisited: inclusion of the novel *A. seifertii* and *A. dijkshoorniae* species. Clin Microbiol Infect, v.23, n.3, 1-9, 2017.

ALMASAUDI, S.B. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. Saudi J Biol Sci, v.25, n.3, p.586-596, 2018.

AMBLER, R. P. The structure of β -lactamases. Phil. Trans. R. Soc. Lond, Londres, v. 16, n. 1036, p.321-331, mai, 1980.

ANTUNES, L.C; VISCA, P; TOWNER, K, J. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. Pathog Dis, v.71, n.3, p.292-301, 2014.

ASIM, P; NAIK, N. A; VARSHA, A. P. Clinical and economic outcomes of *Acinetobacter* vis a vis non-*Acinetobacter* infection in an Indian teaching hospital. Perspect. Clin. Res. Karnataka, v. 7, n.1, p.28–31, jan-mar, 2016.

AZIMI, L. et al. Characterization of Carbapenemases in Extensively Drug Resistance *Acinetobacter baumannii* in a Burn Care Center in Iran. Int. J. Mol. Cell. Med. Winter, v.4, n.1, p.46-53, jan, 2015.

BARRIOS, H. et al. Detection of a NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST22) Clinical Isolate at a Pediatric Hospital in Mexico. Pediatr Infect Dis J, v.33, n.3, p.335, 2014.

BASTIAN, S. et al. First case of NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* in Caribbean islands. *Int J Infect Dis*, v.34, n.1, p.53-54, 2015.

BERTONCHELI, C. M; HÖRNER, R. Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 4, p. 577-599, 2008.

BITRIAN, M. et al. Identification of virulence markers in clinically relevant strains of *Acinetobacter* genospecies. *International Microbiology*, v.15, n.1, p.79-88, 2012.

BLANCO, N, et al. Risk Factors and Outcomes Associated with Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* upon Intensive Care Unit Admission. *Antimicrob Agents Chemother*, v.62, n.1, p.1-7, 2018.

BOLL, J. M. et al. Reinforcing Lipid A Acylation on the Cell Surface of *Acinetobacter baumannii* Promotes Cationic Antimicrobial Peptide Resistance and Desiccation Survival. *ASM*, v.6, n.3, p. 1-11, 2015.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 441 de 2011. Aprova diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores. Brasília, DF. P.1-12, maio. 2011.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466 de 2012. Estabelece as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo Seres Humanos. Brasília, DF. P.1-12, dezembro. 2012.

BRASILIANSE, D. M. et al. Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter pittii* carrying the blaOXA-72 gene in the Amazon region, Brazil, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v.91, n.4, p.1-12, 2018.

BRATU, S. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.56, n.1, p.128–132, 2005.

BUSH, K. Characterization of β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother*, v.33, n.3, p.259-263, 1989.

BUSH, K; JACOBY, G. A; MEDEIROS, A. A. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 39, n. 6, p. 1211–1233, jun, 1995.

BUSH, K; JACOBY, G.A. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 3, p. 969–976, mar, 2010.

CAMPANA, E.H. et al. Carbapenem-resistant and cephalosporin-susceptible: a worrisome phenotype among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Brazil. *Braz J Infect Dis*, v.21, n.1, p.57-62, 2017.

CASTANHEIRA, M. et al. Molecular Characterization of a β -Lactamase Gene, blaGIM-1, Encoding a New Subclass of Metallo- β -Lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.48, n.12, p. 4654–4661, 2004.

CASTELLANOS, T. G; MARCHAL, A. C; RODRÍGUEZ, D. L. Mecanismos de resistência a betalactâmicos em bactérias gram-negativas. *Rev. Cubana Salud Pública*, v. 40, n.1, p. 1-5, 2014.

CASTILHO, S.R.A. et al. *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility profiles. *PLoS One*, v.12, n., p.1-13, 2017.

CAVALCANTI, F.L.S. et al. Emergence of extensively drug-resistant OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* in Recife, Brazil: risk of clonal dissemination? *Diagn Microbiol Infect Dis*, v.77, n.3, p.250-251, 2013.

CAVALCANTI, F. L.S. et al. High Frequency of OXA-253-Producing *Acinetobacter baumannii* in Different Hospitals in Recife, Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*, v.61, n.1, p. 1-3, 2017.

CAYÔ, R. et al. Occurrence of IMP-1 in non-*baumannii* *Acinetobacter* clinical isolates from Brazil. *J Med Microbiol*. v.67, n.5, p.628-630, 2018.

CHAGAS, PG. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter pittii* strain harboring bla (OXA-72) from Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v.88, n.1, p.93-94, 2017.

CHANG, Y. et al. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in a Chinese teaching hospital. *Front. Microbiol*, v.1, n.1, p.1-9, set, 2015.

CHEN, Q. et al. Bioprosthetic tricuspid valve endocarditis caused by *Acinetobacter baumannii* complex, a case report and brief review of the literature. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, v.10, n.149, p.1-4, 2015.

CHEN, Y. et al. Spread of the bla(OXA-23)-Containing Tn2008 in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates Grouped in CC92 from China. *Front Microbiol*, v.6, n.8, p.163, 2017.

CHEN, Z. et al. Coexistence of blaNDM-1 with the Prevalent blaOXA23 and blaIMP in Pan-drug Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates in China. *Clinical Infectious Diseases*, v.52, n. 5, p.692–693, 2011.

CHERKAOUI, A. et al. Characteristics of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Geneva during colonization or infection. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob*, v.14, n.42, p.1-7, 2015.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne. 2018; vol.38, n. 3, M100-S28.

CORTIVO, G.D. et al. Antimicrobial resistance profiles and oxacillinase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in Santa Catarina, Brazil. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop*, v.48, v.6, p.699-705, nov-dez, 2015.

COSTA, D. L. M. et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol*, v.41, n.7, p.3403-3406, 2003.

COYNE, S; PATRICE COURVALIN, P; PÉRICHON, B. Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in *Acinetobacter* sp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 55, n.3, p. 947–953, mar, 2011.

DAI, X.T. et al. The Epidemiology and Resistance Mechanisms of *Acinetobacter baumannii* Isolates from the Respiratory Department ICU of a Hospital in China. *Microbial Drug Resistance*, v.1, n.1, p. 1-5, 2014.

DALE, J. W; SMITH, J. T. R-factor-mediated beta-lactamases that hydrolyze oxacillin: evidence for two distinct groups. *J Bacteriol*, v.119, n.2, p.351-356, 1974.

DECOUSSER, J. W. et al. Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. *Euro Surveill*, v.18, n.3, p.1-4, maio, 2013.

DICE, LR. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*, v.26, n.1, p.297-302, 1945.

DOMINGUES, S. et al. ISAbal and Tn6168 acquisition by natural transformation leads to third-generation cephalosporins resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Infect Genet Evol*, v.63, n.1, p.13-16, 2018.

DOMINGUES, S; NIELSEN, K. M; SILVA, G. J. Various pathways leading to the acquisition of antibiotic resistance by natural transformation. *Mobile Genetic Elements*, v.2, n.6, p.257-260, 2012.

DONELLI, G; VUOTTO, C. Biofilm-based infections in long-term care facilities. *Future Microbiol*, v.9, n.2, p.175-188, 2014.

EL-GAMAL, M. I. et al. Recent updates of carbapenem antibiotics. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.131, n.1, p.185–195, 2017.

ESPINAL, P. et al. Dissemination of an NDM-2-Producing *Acinetobacter baumannii* Clone in an Israeli Rehabilitation Center. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.55, n.11, p. 5396–5398, nov, 2011.

EVANS, B.A; AMYES, S. G. OXA β -lactamases. *Clin Microbiol*, v.27, n.2, p.241-263, 2014.
FERREIRA, A.E. Caracterização molecular e detecção de genes de resistência em isolados de *Acinetobacter* spp. de amostras clínicas e de efluente hospitalar. Brasil. 2010. 129f. Tese (Doutorado em Microbiologia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2010.

FERREIRA, K.M. et al. First case of infection by metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.1, n.1, p.1-2, 2017.

FONSECA, S. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of carO alleles expression and blaOXA-23 gene. *BMC Microbiology*, v.13, n.1, p. 245, 2013.

FOUNOU, R.C. et al. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. v.21 n.12, p.1-25, 2017.

FRASÃO, B.S. et al. Detecção de resistência às fluorquinolonas em *Campylobacter* isolados de frangos de criação orgânica. *Pes. Vet. Bras*, v.35, n.7, p.613-619, jul, 2015.

GALES, A. C. et al. Avaliação da atividade in vitro dos novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenens contra 569 amostras clínicas de bactérias gram-negativas. *Rev. Ass. Med. Brasil*, v.43, n.2, p.137-44, 1997.

GALES, A.C. et al. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v.73, n.1, p.354–360, 2012.

GANDRA, S. et al. The mortality burden of multidrug-resistant pathogens in India: a retrospective observational study. *Clin Infect Dis*. v.1, n.1, p. 1-30, 2018.

GONZÁLEZ, P.T. et al. Outbreak Caused by Enterobacteriaceae Harboring NDM-1 Metallo-beta-Lactamase Carried in an IncFII Plasmid in a Tertiary Care Hospital in Mexico City. *Antimicrob Agents Chemother*, v.59, n.11, p.7080-7083, 2015.

GONZÁLEZ, R. H. et al. Quorum sensing signal profile of *Acinetobacter* strains from nosocomial and environmental sources. *Revista Argentina de Microbiología*, v.1, n.41, p.73-78, 2009.

GUPTA, Neil. et al. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and Prevention. *Clinical Infectious Diseases*, v.53, n.1, p.60–67, 2011.

GUSATTI, C.S. et al. Resistência a β -lactâmicos em *Acinetobacter* spp isolados de efluente hospitalar no sul do Brasil. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop*, v.42, n.2, p.183-187, mar-abr, 2009.

GUSATTI, C.S. et al. First occurrence of bla OXA-58 in *Acinetobacter baumannii* isolated from a clinical sample in Southern Brazil. *Braz J Microbiol*, v.43, n.1, p.243-246, 2012.

HALACHEV, M.R. et al. Genomic epidemiology of a protracted hospital outbreak caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Birmingham, England. *Genome Medicine*, v.6, n.70, p.1-13, 2014.

HARDING, C.M; HENNON, S.W; FELDMAN, M.F. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol*, v.16, n.2, p.91-102, 2018.

HERNÁNDEZ, D. A. A; MAYÉN, G. S. G; LÓPEZ, R. V. Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistência. *Rev. Chilena Infectol*, v.32, n.5, p.499-504, 2015.

HIGGINS, P. et al. OXA-143, a Novel Carbapenem-Hydrolyzing Class D β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.53, n.12, p.5035–5038, 2009.

HOLMES, A.H. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, v.9, n.387, p.176-87, 2016.

HOSPITAL REGIONAL PÚBLICO DO ARAGUAIA– HSPA. Portal HSPA. Página da internet. População atendida. Pará, 2016. Disponível em: < www.hrpa.org.br>. Acesso em: 20 março 2018.

HOWARD, A. et al. *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen. *Landes Bioscience*, v.3, n.3, p.243–250, maio-jun, 2012.

IDELEVICH EA, et al. Comparison of tigecycline susceptibility testing methods for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2018;91(4):360–62. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.03.011.

JAMAL, S. et al. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*, with a special focus on its epidemiology in Lebanon. *J Glob Antimicrob Resist*, v.30, n.15, p.154-163, 2018.

JEON, J. H. et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci*, v.16, n.5, p.9654-9692, 2015.

JONES, R.N. et al. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program. *Braz J Infect Dis*, v.17, n.6, p.672-781, 2013.

JOSHI, P. R. et al. Co-existence of bla(OXA-23) and bla(NDM-1) genes of *Acinetobacter baumannii* isolated from Nepal: antimicrobial resistance and clinical significance. *Antimicrob Resist Infect Control*, v.6, n.21, p. 1-7, 2017.

JUHAS, M. Horizontal gene transfer in human pathogens. *Crit Rev Microbiol*, Early Online, v.41, n.1 p.101-108, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Portal IBGE. Base de dados. Cidades. Pará, 2015. Disponível em:<<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=150840&search=pa>>. Acesso em: 25 março 2017.

JUNG, J; PARK, W. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.99, n.6, p.2533–2548, 2015.

KALLUF, et al. Molecular epidemiology of SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* by rep-PCR in hospitals in Parana, Brazil. *Infect Genet Evol*, v.49, n.1, p.130-133, 2017.

KOBS, V. C. et al. The role of the genetic elements bla oxa and IS Aba 1 in the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex in carbapenem resistance in the hospital setting. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, v.49, n.4, p.433-440, 2018.

KONG, K.F; SCHNEPER, L; MATHEE, K. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS*, v.118, n.1, p.1-36, 2010.

LAHEY. β -lactamase Classificação e Sequências de Aminoácidos para TEM, SHV e OXA de espectro estendido e enzimas Inhibitor Resistentes. Disponível em: <http://www.lahey.org/studies/>. Acesso em 20/09/2018.

LAURETTI, L. et al. Cloning and Characterization of blaVIM, a New Integron-Borne Metallo- β -Lactamase Gene from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 43, n.7, p. 1584–1590, 1999.

LEAN, S.S. et al. Prevalence and Genetic Characterization of Carbapenem- and Polymyxin-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from a Tertiary Hospital in Terengganu, Malaysia. *Hindawi Publishing Corporation*, v. 2014, n.1, p. 1-9, 2014.

LEE, B.Y. et al. Economic Impact of *Acinetobacter baumannii* Infection in the Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, v.31, n.10, p.1087–1089, 2010.

LEE, K. et al. Novel Acquired Metallo- β -Lactamase Gene, blaSIM-1, in a Class 1 Integron from *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.49, n.11, p. 485–4491, 2005.

LEMOS, E.V. et al. Costos en pacientes con infección por *Acinetobacter baumannii* en Colombia. *Infection*, v.17, n.4, p.185–192, 2013.

LEMOS, E. V. et al. Impact of carbapenem resistance on clinical and economic outcomes among patients with *Acinetobacter baumannii* infection in Colombia. *Clin Microbiol Infect*, v.20, n.2, p.174-80, 2014.

LEMOS, E.V. et al. Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Rev. Panam. Salud. Publica*, v.30, n.4, p.287–294, 2011.

LESHO, E. et al. The Challenges of Implementing Next Generation Sequencing Across a Large Healthcare System, and the Molecular Epidemiology and Antibiotic Susceptibilities of

Carbapenemase-Producing Bacteria in the Healthcare System of the U.S. Department of Defense. PLoS One, v.11, n.5, p.1-12, 2016.

LIU, C.P. et al. Risk factors of mortality in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. J Microbiol Immunol Infect, v.49, n.6, p.934-940, 2016.

LIVERMORE, D.M. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev, v.8, n.4, p. 557-584, 1995.

LONGO, F; VUOTTO, C; DONELLI, G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. New Microbiologica, v.37, n.1, p.119-127, 2014.

MACIEL, W.G. et al. Identification of São Paulo metallo-beta-lactamase-1- producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Central-West region of Brazil: a case study. Rev Soc Bras Med Trop, v.50, n.1, p.135-137, 2017.

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. Clin. Microbiol. Infect, v.18, n.1, p268–281, 2012.

MANGONI, E. D; UTILI, R; ZARRILLI, R. Combination therapy in severe *Acinetobacter baumannii* infections: an update on the evidence to date. Future Microbiol, v.9, n.6, p.773–789, 2014.

MARTÍNEZ, J. M. R. Mecanismos de resistência a quinolonas mediada por plásmidos. Enferm. Infecç. Microbiol. Clin, v.23, n.1, p.25-31, 2005.

MARTINO, M.D.V. et al. Evaluation of a new rapid test for carbapenemase detection in 3 carbapenem resistant Enterobacteriaceae. J Microbiol Methods, v.115, n.1, p.20-21, 2015.

MARTINS, Andreza Francisco; BARTH, Afonso Luis. Caracterização epidemiológica e Molecular de isolados de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos. Brasil. 2010. 174f. Tese (doutorado em Ciências Médicas)- Universidade Federal do Rio Grande do SUL. Rio Grande do SUL, 2010.

MARTINS, A.F. et al. High endemic levels of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitals in southern Brazil. American Journal of Infection Control, v.40, n. 2, p.108–112, mar, 2012.

MARTINS, N. et al. Emergence of *Acinetobacter baumannii* international clone II in Brazil: reflection of a global expansion. *Infect Genet. Evol*, v. 20, n.1, p. 1-6, dez, 2013.

MARTINS, W.M.B.S. Comparison of phenotypic tests for detecting BKC-1–producing Enterobacteriaceae isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v.84, n.3, p.246-248, 2016.

MAVROIDI, A. et al. Investigation of Extensively Drug-Resistant blaOXA-23-Producing *Acinetobacter baumannii* Spread in a Greek Hospital. *Microb Drug Resist*, v.23, n.4, p.488-493, 2017.

MELETIS, G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis*, v.3, n.1, p.15-21, 2016.

MENDES, R. E. et al. Rapid Detection and Identification of Metallo- β -Lactamase-Encoding Genes by Multiplex Real-Time PCR Assay and Melt Curve Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, v.45, n.2, p.544–547, 2006.

MENDES, R.E. et al. Metallo- β -lactamases. *J. Bras. Patol. Med. Lab*, v. 42, n. 2, p. 103-113, abr, 2006.

MERINO, M. et al. Nosocomial Outbreak of a Multiresistant *Acinetobacter baumannii* Expressing OXA-23 Carbapenemase in Spain. *Microb Drug Resist*, v.20, n.4, p.259-63, 2014.

MOGHNIEH, R. et al. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Lebanese intensive care unit: risk factors for acquisition and determination of a colonization score. *Journal of Hospital Infection*, v. 92, n.1, p.47-53, 2016.

MOREIRA , B. et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* OXA-23 in old and new intensive care units without transfer of colonized patients. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v.1, n.1 p. 1-3, 2018.

MORGAN, D.J. et al. Frequent Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Contamination of Gloves, Gowns, and Hands of Healthcare Workers. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol*, v.31, n.7, p.716–721, jul, 2010.

MOSSAKOWSKA, D. et al. Oxacillin-hydrolysing beta-lactamases. A comparative analysis at nucleotide and amino acid sequence levels. *Eur J Biochem*, v.180, n.2, p.309-318, 1989.

NANGINO, G.O. et al. Impacto financeiro das infecções nosocomiais em unidades de terapia intensiva em hospital filantrópico de Minas Gerais. *Rev. Bras. Ter. Intensiva*, v. 24, n.4, p.357-361, 2012.

NELSON, R.E. et al. Costs and Mortality Associated With Multidrug-Resistant Healthcare-Associated *Acinetobacter* Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, v.37, n.10, p.1212-1218, 2016.

NEVES, F. C. et al. Clinical and microbiological characteristics of OXA-23- and OXA-143-producing *Acinetobacter baumannii* in ICU patients at a teaching hospital, Brazil. *Braz J Infect Dis*, v.20, n.6, p.556-563, 2016.

NIRANJAN, D. K. et al. Multiple carbapenem hydrolyzing genes in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal of Medical Microbiology*, v.31, n. 3, p.237-241, jul, 2013.

OLIVEIRA, A. C; KOVNER, C. T; SILVA, R. S. Nosocomial Infection in an Intensive Care Unit in a Brazilian University Hospital. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*, v.18, n.2, p.233-239, 2010.

ORTIZ, R.A.M. et al. Genomic Epidemiology of NDM-1-Encoding Plasmids in Latin American Clinical Isolates Reveals Insights into the Evolution of Multidrug Resistance. *Genome Biol Evol.* v.9, n.6, p.1725-1741, 2017.

OSANO, E. et al. Molecular Characterization of an Enterobacterial Metallo- β -Lactamase Found in a Clinical Isolate of *Serratia marcescens* That Shows Imipenem Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 38, n.1, p. 71-78, 1994.

OUELLETTE, M; BISSONNETTE, L; ROY, P.H. Precise insertion of antibiotic resistance determinants into Tn21-like transposons: nucleotide sequence of the OXA-1 beta-lactamase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.84, n.21, p.7378-7382, 1987.

PASTERAN, F. et al. Emergence of genetically unrelated NDM-1-producing *Acinetobacter pittii* strains in Paraguay. *J Antimicrob Chemother*, v.69, n.9, p.2575-8, 2014.

PATEL, G. F. et al. Fulminant endocarditis and disseminated infection caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a renal-pancreas transplant recipient. *Transplant Infectious Disease*, v.17, n.1, p.289–296, 2015.

PELEG, A. Y; SEIFERT, H; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 21, n.3, p.538–582, jul, 2008.

PEREIRA, P.S. Draft genome sequences of three NDM-1-producing Enterobacteriaceae species isolated from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.10, n.4, p.580-582, 2015.

PEREZ, F. et al. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.51, n. 10, p. 3471–3484, out, 2007.

PFEIFER, Y. et al. Molecular characterization of bla NDM-1 in an *Acinetobacter baumannii* strain isolated in Germany in 2007. *Antimicrob Chemother*, v.66, n. 1, p.1998–2001, jun, 2011.

PINO, C.I. et al. Producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en hospitales de la VIIIª Región Chile. *Rev. Chil. Infect*, v.24, n. 2, p.137-141, 2007.

POIREL, L. et al. Emergence in *Klebsiella pneumoniae* of a Chromosome-Encoded SHV β -Lactamase That Compromises the Efficacy of Imipenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 47, n.2, p. 755–758, fev, 2003.

POIREL, L. et al. Tn125-Related Acquisition of blaNDM-Like Genes in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.56, n.2, p. 1087–1089, fev, 2012.

POIREL, L; NAAS, T; NORDMANN, P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, v.54, n.1, p.24-38, 2010.

POIREL, L; NORDMANN, P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*, v.12, n.9, p.826-836, 2006.

POURHAJIBAGHER, M. et al. Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter baumannii* to Imipenem in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Open Microbiol J*, v.29, n.10, p.32-42, 2016.

PROTIC, D. et al. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: Are We Losing the Battle?. *Surgical Infections*, v.17, n.2, p.1-7, 2016.

QUEENAN, A. M; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, v.20, n.3, p.440-58, 2007.

QUILES, M. G. et al. Unusual association of NDM-1 with KPC-2 and armA among Brazilian *Enterobacteriaceae* isolates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.48, n.2, p.174–177, 2014.

RAKA, L. et al. Molecular Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in Central Intensive Care Unit in Kosova Teaching Hospital. *BJID*, v. 13, n.1, p. 408-413, dez, 2009.

RAMOS, P. M. VELILLA, S. M. Resistencia a aminoglucósidos por los genes aph(3')-VIa y aac(3')-II en *Acinetobacter baumannii* aislados en Montería, Colombia. *Salud Uninorte. Barranquilla*, v.28, n.2, p.209-217, 2012.

RAO, S.R. et al. Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal of Medical Microbiology*, v. 26, n.4, p. 333-337, 2008.

RASMUSSEN, B.A.; BUSH, K. Carbapenem-hydrolyzing- β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, v.41, n.2, p.223-232, 1997.

RASMUSSEN, J. W; HOIBY, N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*, v.57, n.3, p.373-83, 2006.

REECE, R. J; MAXWELL, A. DNA gyrase: structure and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*, v.26, n.34, 335-375, 1991.

RIBEIRO, P.C.S. et al. Phenotypic and molecular detection of the bla (KPC) gene in clinical isolates from inpatients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect Dis*, v.16, n.1, p.737, 2016.

ROCHA, L. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil: susceptibility profile and diversity of oxacillinases. *J. Bras. Patol. Med. Lab*, v.53, n.6, p.358-361, 2017.

RODRÍGUEZ, C.H; NASTRO, M. FAMIGLIETTI, A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Rev Argent Microbiol*, v.50, n.3, p.327-333, 2018.

ROYER, S. et al. Spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* clones in patients with ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit at a university hospital. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.19, n.4, p.350–357, 2015.

SAAVEDRA, S.Y. et al. Early dissemination of OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* strain in Colombia: a case report. *Braz J Infect Dis*, v.18, n.6, p.678-680, 2014.

SADER, H.S. et al. Dissemination and diversity of metallo- β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.25, n.1, p.57–61, 2005.

SALABI, A.E. et al. Genetic and Biochemical Characterization of a Novel Metallo- β -Lactamase, TMB-1, from an *Achromobacter xylosoxidans* Strain Isolated in Tripoli, Libya. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.56, n.5, p. 2241–2245, 2012.

SAMRAH, S. et al. Impact of colistin-initiation delay on mortality of ventilator-associated pneumonia caused by *A. baumannii*. *J Infect Dev Ctries*, v.10, n.10, p.1129-1134, 2016.

SARI, A.N; BIÇMEN, M; GÜLAY, Z. The first report on the outbreak of OXA-24/40-like carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Jpn J Infect Dis*, v.66, n.5, p.439-442, 2013.

SCHEFFERS, D.J; PINHO, M.G. Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev*, v.69, n.4, p.585-607, 2005.

SCOTT, N.E. et al. Diversity within the O-linked protein glycosylation systems of *Acinetobacter* species. *Mol Cell Proteomics*, v.13, n.9, p.2354-2370, 2014.

SEPAHVAND, S. et al. Analyzing pmrA and pmrB genes in *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin in Shahid Rajai Shiraz, Ir an Hospital by PCR: First report in Iran. *Pak. J. Pharm. Sci.*, v.29, n.4, p.1401-1406, 2016.

SGRIGNANI, J; GRAZIOSO, G; DE AMICI, M. Insight into the Mechanism of Hydrolysis of Meropenem by OXA-23 Serine- β -lactamase Gained by Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Calculations. *Biochemistry*, v.55, n.36, p.5191-5200, 2016.

SHAH, P. M. Parenteral carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*, v.14, n.1, p. 175-179, 2008.

SHAHCHERAGHI, F. et al. Isolation and genetic characterization of metallo- β -lactamase and carbapenemase producing strains of *Acinetobacter baumannii* from patients at Tehran hospitals. *Iranian Journal of Microbiology*, v.3, n.2, p.68-74, jun, 2011.

SILEEM, A. E; SAID, A. M; MELEHA, M. S. *Acinetobacter baumannii* in ICU patients: A prospective study highlighting their incidence, antibiotic sensitivity pattern and impact on ICU stay and mortality. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, v.66, n.4, p.693–698, 2017.

SMANI, Y; MICHAEL, M. J. M; PACHÓN, J. Role of Fibronectin in the Adhesion of *Acinetobacter baumannii* to Host Cells. *Plos One*, v.7, n.4, p.330-337, 2012.

SNEATH, PHA; SOKAL RR. Numerical taxonomy: The principle and practice of numerical classification. W.F. Freeman & Co; San Francisco.1973, p.573.

SONG, J. Y. et al. Clinical and microbiological characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *J Med Microbiol*, v.60, n.5, p.605-611, 2011.

SOUZA, E.S. et al. Mortalidade e riscos associados a infecção relacionada à assistência à saúde. *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis, v.24, n.1, p.220-228, jan-mar, 2015.

SUTHERLAND, N; BARBER, S. O'Neill Review into Antibiotic Resistance. House of Commons Library, v.1, n.1, p. 1-41, 2017.

TAKAGI, E. H. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak at University hospital. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.40, n.1, p. 339-341, 2009.

TIAN, J. et al. Five novel carbapenem-hydrolysing OXA-type β -lactamase groups are intrinsic in *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother*, 2018.

TOLEMAN, M.A. et al. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.50, n.1, p. 673–679, 2002.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TURTON, J. F. et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* by Detection of the blaOXA-51-like Carbapenemase Gene Intrinsic to This Species. *Journal of Clinical Microbiology*, v.44, n.8, p. 2974–2976, ago, 2006.

UWINGABIYE, J. et al. Clonal diversity and detection of carbapenem resistance encoding genes among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from patients and

environment in two intensive care units in a Moroccan hospital. *Antimicrob Resist Infect Control*, v.26, n.6, 1-9, 2017.

VIEIRA, P. B; PICOLI, S. U. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos. *Rev. Bras. de Ciênc. da Saúde*, v.19, n.2, p.1151-156, 2015.

VILLALÓN, P. et al. Epidemiology of the *Acinetobacter*-derived cephalosporinase, carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo- β -lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain. *J Antimicrob Chemother*, v.68, n.1, p.550-553, 2013.

VISCONTI, R. T; GARRIGUES, T. M; CANTÓN, E. Mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas. *Revista Española de Quimioterapia*, v.15, n.1, p.1-7, mar, 2002.

WANG, T.H. et al. Prevalence of different carbapenemase genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* blood isolates in Taiwan. *Antimicrob Resist Infect Control*, v.7, n.123, p. 1-8, 2018.

WATERMAN, P.E. et al. Bacterial Peritonitis Due to *Acinetobacter baumannii* Sequence Type 25 with Plasmid-Borne New Delhi Metallo- β -Lactamase in Honduras. *Antimicrob Agents Chemother*, v.57, n.9, p.4584-6, 2013.

WOODFORD, N. et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.27, n.4, p.351–353, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global List of Priorities for Antibiotic Resistant Bacteria Sao Paulo, Geneva: World Health Organization, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>. Acessado em 10 de dezembro de 2018.

WRIGHT, M.S. et al. Transcriptome Remodeling of *Acinetobacter baumannii* during Infection and Treatment. *American Society for Microbiology*, v.8, n.2, p. 1-16, 2017.

YIGIT, H. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, v.45 n.4, p.1151-1161, 2001.

YONG, D. et al. Characterization of a New Metallo- β -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae*

Sequence Type 14 from India. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, v.53, n.12, p. 5046–5054, dez, 2009.

YONG, D. et al. Genetic and biochemical characterization of an acquired subgroup B3 metallo- β -lactamase gene, blaAIM-1, and its unique genetic context in *Pseudomonas aeruginosa* from Australia. *Antimicrob Agents Chemother*, v.56, n.12, p.6154-6159, 2012.

YUHAN, Y. et al. Over expression of AdeABC and AcrAB-TolC efflux systems confers tigecycline resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *Rev. Soc. Bras. de Med. Trop*, v.49, n.2, p.165-171, 2016.

ZARRILLI, R. et al. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J. Infect. Dev. Ctries*, v.3, n.5, p. 335- 341, 2009.

ZAVASCKI, A.P. et al. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother*, v.60, n.6, p.1206-1215, 2007.

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

ANEXO A

A- Comprovante submissão a plataforma Brasil e aprovação



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização genotípica do *Acinetobacter baumannii* isolados de amostras clínicas e efluente hospitalar na Amazônia

Pesquisador: Edlainny Araujo Ribeiro

Área Temática:

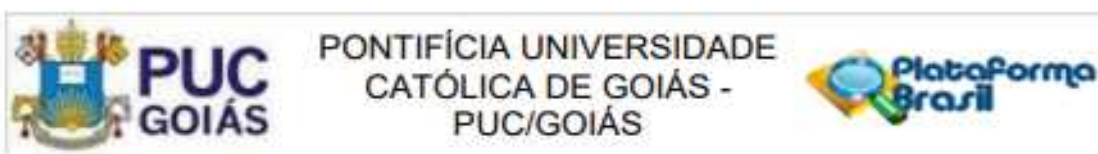
Versão: 3

CAAE: 68277817.9.0000.0037

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER



Continuação do Parecer: 2.248.511

Outros	Aceitedoorientador.pdf	19:54:58	Ribeiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaodecoparticipanteparaprontuarios.pdf	08/05/2017 19:52:04	Edlainny Araujo Ribeiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaodecoparticipanteger.pdf	08/05/2017 19:49:54	Edlainny Araujo Ribeiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 30 de Agosto de 2017

Assinado por:
Cejane Oliveira Martins Prudente
(Coordenador)

ANEXO B - Normas da revista Microbial Drug resistance

Disponível em: <https://home.liebertpub.com/publications/microbial-drug-resistance/44/for-authors> .

It is critical to ensure the accuracy of ALL authors' email addresses when uploading submissions to Manuscript Central to ensure the proper delivery of all email communications. Please read all the instructions to authors before submitting. Manuscripts should be submitted with the understanding that they have neither been published, nor are under consideration for publication elsewhere, except in the form of an abstract. Prior abstract publications should be described in the form of a footnote to the title. Published manuscripts become the sole property of the Journal and will be copyrighted by Mary Ann Liebert, Inc. By submitting a manuscript to the Journal, the author(s) agree(s) to each of the above conditions. In addition, the author(s) explicitly assign(s) any copyrighted ownership he/she (they) may have in such manuscript to the Journal. Upon acceptance of any manuscript, all authors will receive a follow-up email with instructions on how to complete our online Copyright Agreement form.

FAILURE BY ALL AUTHORS TO SUBMIT THIS FORM MAY RESULT IN A DELAY OF PUBLICATION.

The corresponding author is responsible for communicating with coauthors to make sure they have completed the online copyright form. Authors not permitted to release copyright must still return the form acknowledging the statement of the reason for not releasing the copyright.

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Submit text manuscript in Microsoft Word double spaced. On the first page, give the title of the article, name(s) of author(s), institutional affiliation(s), and the name and complete address, phone and fax numbers of the corresponding author. Following this, please include the introduction, materials and methods, results, discussion, acknowledgments, references, tables, and figure legends. Results and Discussion should be separate sections. Number pages consecutively; the first author's last name should appear on each page. Authors should review the style and clarity of their manuscripts with colleagues before submission. Please follow this protocol to avoid delay in publication. Authors should note that manuscripts may be edited if needed for grammar and usage. Be prepared to enter a running title of no more than 45 characters, as well as an abstract of about 200 words, stating the aims, results, and conclusions drawn from the study.

TABLES AND ILLUSTRATIONS

Number each table consecutively and give each table a title. Each table must be in its own file. Each table must stand alone, i.e., contain all necessary information in the caption, and the table itself must be understood independently of the text. Details of experimental conditions should be included in the table footnotes. Information that appears in the text should not be repeated in tables, and tables should not contain data that can be given in the text in one or two sentences. A legend should be supplied for each figure, and all legends numbered consecutively and provided (double spaced) in a separate file or as part of the text file. Figures should be numbered in the order cited in the text. Images should not show the name of a manufacturer or reveal patients' name(s). Please keep in mind that the figures will be reduced, so please do not submit large figures/graphs that contain small type, as the text within the figure will not be readable after reduction. Please follow these guidelines for submitting figures:

Do NOT embed art files into a Word or PDF document.

Line illustrations should be submitted at 1200 dpi.

Halftones and color should be submitted at a minimum of 300 dpi.

Save as either TIFF or EPS files.

Color art must be saved as CYMK - not RGB Black and White art must be submitted as grayscale – Do NOT submit PowerPoint, PDF, Bitmap or Excel files.

Please name your artwork files with the submitting authors name i.e. SmithFig1.tif, SmithTable2.tif etc. Authors who do not follow these guidelines may have their submission returned to them without being reviewed. You will be given directions on how to correct any files which do not pass. < ADDITIONAL INFORMATION ABOUT Converting Word or Excel files: Perhaps the best and easiest way to convert Word or Excel files into a format which is suitable for print is to scan them using the below guidelines: All files should be scanned at 100% size.

300 dpi/ Final color mode: cmyk/ save file as: .tif or .eps If you need directions on how to convert a Power Point slide to acceptable format go to <https://home.liebertpub.com/MEDIA/pdf/ppconvert.pdf> The Journal will publish color photographs, but the cost must be borne by the author. For further details, contact the Publishers. If no conflicts exist, the authors must state “No competing financial interests

exist."Disclosure StatementImmediately following the Acknowledgments section, include a section entitled "Author Disclosure Statement." In this portion of the manuscript, authors must disclose any commercial associations that might create a conflict of interest in connection with submitted manuscripts. This statement should include appropriate information for EACH author, thereby representing that competing financial interests of all authors have been appropriately disclosed according to the policy of the Journal. It is important that all conflicts of interest, whether they are actual or potential, be disclosed. This information will remain confidential while the manuscript is being reviewed and will not influence the editorial decision. Please see the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at <http://www.icmje.org/index.html#conflicts> for further guidance.

REFERENCES

Double space all references. Number each reference consecutively in the manuscript in order of citation. Number references consecutively (not alphabetically) in the reference section. Abbreviations of journal titles should follow MEDLINE. List the names of all authors—do not use et al. Accuracy of citation is the responsibility of the authors; remember that inaccurate references are highly frustrating to the reader, the cited author, and indexing services.

Use the following format:

Journal articles:

De Lencastre, H., M. Chung, and H. Westh. 2000. Archaic strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular and microbiological properties of isolates from the 1960s in Denmark. *Microb. Drug Resist.* 6:1-10.

Book:

Doyle, M.P., L.R. Beuchat, and T.J. Montville. 2001. *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. 2nd ed. ASM Press, Washington, DC.

Chapter in a book:

Tomasz, A. 1990. Auxiliary genes assisting in the expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. In R.P. Skurray and R.A. Novick (ed.), *Molecular biology of the staphylococci*. VCH Publishers, New York, pp. 565-583.

Abstract:

Scacheri, P., J. Crabtree, A. Kennedy, G. Swain, J. Ward, S. Marx, A. Spiegel, and F. Collins. 2006. V804 RET mutation in MEN2A: first report. *J. Int. Med.* 255:712 (abstract).

Proceedings:

Lavilla, S., J.J. González-López, M.N. Larrosa, R.M. Bartolomé, and G. Prat. 2008. Prevalence of the quinolone-modifying enzyme *aac(6')-Ib-cr* in extended-spectrum b-lactamase-producing enterobacterial isolates in Barcelona. Abstract presented at the 18th Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, April 19–22. Abstract no. P1523.

Website:

Health Protection Agency (HPA). 2005. Detection of *Campylobacter* species. National Standard Method F 21, Issue 2. Available at www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp.

When dates from an unpublished source are given, supply the researcher's name. If work is in press, give journal in which it is to be published. PERMISSIONS The author must obtain permission to reproduce figures, tables, and text from previously published material. Written permission must be obtained from the original copyright holder (generally the publisher, not the author or editor) of the journal or book concerned. An appropriate credit line should be included in the figure legend or table footnote, and full publication information should be included in the reference list. Written permission must be obtained from the author of any unpublished material cited from other laboratories. All permissions listings must be shown in the manuscript—they cannot be entered on proofs.

Manuscripts submitted to this Journal must not be under consideration elsewhere. Reprints may be ordered by following the special instructions that will accompany page proofs, and should be ordered at the time the corresponding author returns the corrected page proofs to the Publisher. Reprints ordered after an issue is printed will be charged at a substantially higher rates

STUDY DESIGN AND ETHICS

Human Subject

Patient Consent/Release

If applicable, it is incumbent upon the author(s) to obtain patient release statements of permission to reproduce any identifiable images of patients. The Journal does not provide a generic patient release form. Any identifying information should not be published in descriptions or photographs unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent/guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that an identifiable patient be shown the manuscript to be submitted. Authors should disclose to these patients whether any potential identifiable material might be available via the Internet as well as in print after publication.]] Nonessential identifying details should be omitted. Informed consent should be obtained if there is any doubt that anonymity can be maintained. For example, masking the eye region in photographs of patients is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are de-identified, the manuscript should contain assurances/statements that such changes do not distort scientific meaning. In keeping with patients' rights of privacy, the Journal does not require the submission of patient consent forms, but instead requires the author(s) to retain and archive all patient consent documentation. Upon submission of a manuscript for review, the authors must make a statement in a cover letter to the Editor/Journal which attests they have received and archived written patient consent.

PUBLISHER

Microbial Drug Resistance is published 10 times a year by Mary Ann Liebert, Inc., 140 Huguenot Street, New Rochelle 10801-5215 Telephone: (914) 740-2100; fax: (914) 740-2101.; E-mail: info@liebertpub.com Internet: www.liebertpub.com