



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE**



**LAÍS ROCHA LIMA**

**RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE BOMBAS DE EFLUXO EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Acinetobacter spp* EM TERESINA-PI**

**TERESINA  
2018**

LAÍS ROCHA LIMA

**RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE BOMBAS DE EFLUXO EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Acinetobacter spp* EM TERESINA-PI**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde.

**Área de concentração:** Planejamento e Gestão em Saúde – Área II.

**Linha de pesquisa:** Análise de situações de saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Viriato Campelo

**Co-orientadora:** Prof. Dra Josie Haydée Lima Ferreira.

TERESINA  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco  
Divisão de Processos Técnicos

L732r

Lima, Laís Rocha.

Resistência aos antimicrobianos e presença de bombas de efluxo em isolados clínicos de *Acinetobacter spp* em Teresina-PI / Laís Rocha Lima. -- 2018.

88 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde, Teresina, 2018.

“Orientação: Prof. Dr. Viriato Campelo.”

“Coorientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Josie Haydée Lima Ferreira.”

1. Infecção hospitalar - Resistência bacteriana. 2. Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS). 3. *Acinetobacter spp*.

I. Título.

CDD 616.0143 2

LAÍS ROCHA LIMA

**RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE BOMBAS DE EFLUXO EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Acinetobacter spp* EM TERESINA-PI**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí, para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde

Área de concentração: Planejamento e Gestão em Saúde – Área II.

Data de aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Viriato Campelo (Orientador)  
Universidade Federal do Piauí/UFPI  
Presidente da Banca

---

Prof. Dr. Daniel Dias Rufino Arcaño  
Universidade Federal do Piauí  
Examinador 1

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Liline Maria Soares Martins  
Universidade Estadual do Piauí- UESPI  
Examinador 2

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Girlene Soares de Figueirêdo  
Universidade Federal do Piauí - UFPI  
Suplente

Dedico este trabalho a Deus, por se fazer presente na minha vida. À minha mãe Bernadete e aos meus familiares. Aos meus orientadores Dr. Viriato Campelo e Dra. Josie Haydée Lima Ferreira. Ao Dr. Humberto Medeiros Barreto, professor colaborador da pesquisa, e aos meus poucos e sinceros amigos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por sempre guiar meus passos, mantendo-me firme e acompanhando-me na caminhada em busca das minhas realizações, conquistas, por nunca me deixar desistir ou fraquejar e me mostrar que a fé é essencial na vida de qualquer ser humano.

À minha mãe Maria Bernadete do Nascimento Rocha por me amar incondicionalmente, por ser minha fonte de inspiração, por sempre me incentivar e apoiar minhas escolhas, se fazendo presente em todos os momentos e por ser a melhor parceira de vida.

A meu orientador Dr. Viriato Campelo, pelo incentivo, apoio, mostrando-se sempre paciente e por ser um exemplo de profissional.

A Dra. Josie Haydée Lima Ferreira (Co-orientadora) pelo apoio, carinho, incentivo e dedicação, além de mostrar-se sempre disposta a ajudar e pelo exemplo de docente.

A Dra. Girlene Soares de Figueirêdo, pelo apoio e colaboração com o trabalho, mostrando-se sempre à disposição.

Ao Dr. Humberto Medeiros Barreto por sua colaboração, sempre disposto a ajudar, buscando as melhores soluções para os contratempos desta pesquisa e por ser um exemplo de docente.

Aos meus amigos que se fizeram presente nesse momento, apoiando e incentivando.

Aos meus familiares que sempre apoiaram e vibraram com minhas conquistas, em especial minha mãe, meu irmão e minha avó, a qual sempre se mostrou acolhedora e com palavras sábias para todos os momentos e fases da vida.

A todos, os meus sinceros agradecimentos!

*“La resistencia a antimicrobianos como un fenómeno per se no es una sorpresa. Tampoco es algo nuevo. Aún así, de nuevo nos preocupa ya que la resistencia crece aceleradamente, mientras que las herramientas que el mundo cuenta para combatirla disminuyen en poder y número.”*

***Joshua Lederberg, Prêmio Nobel.***

## RESUMO

*Acinetobacter spp* é um grupo de patógenos oportunistas causadores de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), especialmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Suas crescentes taxas de resistência a múltiplas drogas representam um grave problema de saúde pública. O presente estudo teve como objetivos analisar o perfil epidemiológico de 106 pacientes com IRAS causadas por bactérias do gênero *Acinetobacter spp* internados no Hospital de Urgência de Teresina, Piauí, Brasil, bem como investigar o perfil de resistência aos antimicrobianos desses isolados clínicos e a identificação do mecanismo de resistência por bomba de efluxo. A identificação e a determinação do perfil de resistência de *Acinetobacter* foram realizadas pelo método automatizado no BD PHOENIX 5.1. Para determinar a ocorrência de mecanismo de resistência mediado por bomba de efluxo, a concentração inibitória mínima de diferentes antibióticos foi determinada na presença e na ausência do Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona. Observou-se que a maioria dos pacientes era do sexo masculino (68,9%), entre 20 a 60 anos (56,6%) e com infecções do trato respiratório (77,4%). Dos 106 isolados, 101 eram *A. baumannii* e 5 *Acinetobacter spp*. Entre os isolados clínicos verificou-se um elevado percentual (90,6%) de cepas multirresistentes, com maior prevalência de resistência à gentamicina (98,0%), ceftriaxona (94,3%), ceftazidima (92,0%), ciprofloxacina (90,5%) e levofloxacina (90,5%). Por outro lado, todas as cepas foram sensíveis à colistina. A ocorrência de resistência mediada por bomba de efluxo foi verificada em 26,4%, 16% e 8,5% das cepas resistentes à ceftazidima, amicacina e ciprofloxacina, respectivamente. Estes resultados alertam para a necessidade da implementação de medidas preventivas visando reduzir a prevalência de cepas de *Acinetobacter spp* multirresistentes no ambiente hospitalar.

**Palavras-chave:** *Acinetobacter spp*, Infecções relacionadas à assistência à saúde, Resistência bacteriana.



## ABSTRACT

*Acinetobacter spp* is an opportunistic pathogen which causes healthcare-associated infections, especially in intensive care units (ICUs). The increasing rate in multiple drug resistance represents a serious public health problem. The present study aimed to analyze the epidemiological profile of 106 patients with healthcare -associated infections, caused by bacteria from the *Acinetobacter* genus, hospitalized at an emergency hospital in Teresina, Piauí, Brazil, as well as to investigate the resistance profile to antimicrobials of these clinical isolates. Identification and resistance profile determination of the *Acinetobacter* was performed by an automated method using the BD PHOENIX 5.1. To determine the occurrence of efflux pump-mediated resistance mechanism, the minimum inhibitory concentration of different antibiotics was determined in the presence and absence of carbonylcyanide m-chlorophenylhydrazone. The majority of the patients were male (68.9%), aged 20-60 years old (56.6%), with respiratory tract infections (77.4%). From the 106 isolates, 101 were *A. baumannii* and the remaining 5 were from other species. A high percentage of multiresistant strains (90.6%) with a greater resistance prevalence to gentamicin (98.0%), ceftriaxone (94.3%), ceftazidime (92.0%), ciprofloxacin (90.5%) and levofloxacin (90.5%) being observed among clinical isolates. On the other hand, all the strains were sensitive to colistin. The occurrence of efflux pump-mediated resistance was verified in 26.4%, 16% and 8.5% of ceftazidime, amikacin and ciprofloxacin resistant strains, respectively. These results point to a need for implementing preventive measures aimed at reducing the prevalence of multiresistant *Acinetobacter spp* strains in hospital environments.

**Keywords:** *Acinetobacter spp*, Healthcare-associated infections, Bacterial resistance.

## RESUMEN

*Acinetobacter spp* es un patógeno oportunista causante de infecciones relacionadas con la asistencia a la salud especialmente en unidades de terapia intensiva (UCI). Sus crecientes tasas de resistencia a múltiples drogas representan un grave problema de salud pública. El presente estudio tuvo como objetivos analizar el perfil epidemiológico de 106 pacientes con infecciones relacionadas con la asistencia a la salud causadas por bacterias del género *Acinetobacter* internados en el hospital de urgencias de Teresina, Piauí, Brazil, así como investigar el perfil de resistencia a los antimicrobianos de estos aislados clínicos. La identificación y la determinación del perfil de resistencia de *Acinetobacter* se realizaron mediante el método automatizado en BD PHOENIX 5.1. Para determinar la ocurrencia de mecanismo de resistencia mediado por bomba de eflujo, la concentración inhibitoria mínima de diferentes antibióticos se determinó en presencia y ausencia del Carbonilcianeto *m*-clorofenil-hidrazona. Se observó que la mayoría de los pacientes eran del sexo masculino (68.9%), entre 20 a 60 años (56.6%) y con infecciones del tracto respiratorio (77.4%). De los 106 aislados, 101 eran *A. baumannii* y 5 de otras especies, entre los aislados clínicos se verificó un elevado porcentual (90.6%) de cepas multirresistentes, con mayor prevalencia de resistencia a la gentamicina (98.0%), ceftriaxona (94.3%), ceftazidima (92.0%), ciprofloxacino (90.5%) y levofloxacino (90.5%). Por otro lado, todas las cepas fueron sensibles a la colistina. La presencia de resistencia mediada por bomba de eflujo fue verificada en el 26.4%, el 16% y el 8.5% de las cepas resistentes a la ceftazidima, amicacina y ciprofloxacino, respectivamente. Estos resultados advierte de la necesidad de aplicar medidas preventivas para reducir la prevalencia de cepas de *Acinetobacter spp* multirresistentes en ambiente de hospitales.

**Palabras clave:** *Acinetobacter spp*, Infecciones relacionadas con la asistencia salud, Resistencia bacteriana.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 01 - Fluxograma do teste de modulação..... 39
- Figura 02 - Incidência das cepas de *Acinetobacter* como agente causador de IRAS no Hospital de Urgência de Teresina – PI, no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018..... 41
- Figura 03 – Padrão de resistência da infecção por *Acinetobacter spp* em pacientes com quadro de IRAS, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina – PI, apresentadas no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018..... 47

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 01 – Distribuição por sexo, faixa etária e espécime clínico de pacientes com IRAS, causadas por *Acinetobacter spp*, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina-PI, no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018. ....42
- Tabela 02 – Perfil de resistência quanto aos fenótipos das cepas de *Acinetobacter spp*, isoladas de pacientes com quadro de IRAS internados no Hospital de Urgência de Teresina-PI, apresentadas no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018.....45
- Tabela 03 – Detecção do mecanismo de resistência por bomba de efluxo para ceftazidima, amicacina e ciprofloxacina em cepas de *Acinetobacter spp* em isolados clínicos de pacientes, com quadro de IRAS, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina-PI. Teresina, 2018. ...50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABC – transportadores de cassetes de ligação de ATP
- AFLP – Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado
- AMI – Amicacina
- ATP – Adenosina trifosfato
- AmpC – Adenosina monofosfato cíclico
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BGNMF – Bacilo Gram negativo não fermentador
- BGNMFG – Bactérias Gram Não Fermentador de Glicose
- BHI – Caldo Cérebro-Coração
- CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
- CCCP – Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona
- CDC – Centro de controle e prevenção de doenças
- CEF – Cefepime
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- CAZ – Ceftazidima
- CPM – Cefepime
- CRO – Ceftriaxona
- CIM – Concentração Inibitória Mínima
- CIP – Ciprofloxacina
- CTI – Centro de Terapia Intensiva
- CLSI – Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
- COL – Colistina
- Complexo ACB *Acinetobacter baumannii* – *Acinetobacter calcoaceticus*
- CTX – Ceftriaxona
- DAPI – 4',6-diamino-2-fenilindol
- DMT – Drug-Metabolite Transporter
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
- ESBL – Betalactamases de Espectro Ampliado
- EUA – Estados Unidos da América
- EARS – Rede Europeia de Vigilância de Resistência Antimicrobiana
- ENVIN – Estudo Nacional de Controle de Infecção Hospitalar

GEN – Gentamicina  
HUT – Hospital de Urgência de Teresina  
HUSM – Hospital Universitário de Santa Maria  
IC – Intervalo de Confiança  
IH – Infecção Hospitalar  
IPM – Imipenem  
IDSA – Sociedade de Doenças Infecciosas da América  
IRAS – Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde  
KSA – Reino da Arábia Saudita  
LEV – Levofloxacina  
LPS – Lipopolissacarídeos  
MYSTIC – Coleta de informações do teste de suscetibilidade anual Meropenem  
MALDI-TOF – Dessorção Ionizada por Laser Associada à Matriz - Tempo de Voo  
MATE – Extrusão de múltiplos fármacos e compostos tóxicos  
MBLs – Metallo-beta-lactamases  
MF – Mediador principal  
MG – Minas Gerais  
MDR – Multidroga resistente  
MER – Meropenem  
MFP – Proteína de fusão de membrana  
MFS – Superfamília Facilitadora Maior  
ML – Microlitros  
MLST – Digitação de Sequência MultiLocus  
AN – Ágar Nutriente  
NMP – (1-naftilmetil) -piperazina  
NNIS – Vigilância Nacional de Infecções Hospitalares  
OmpA – Proteína integrante de membrana  
OMPs – Proteínas de membrana externa  
OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde  
OXA – Oxacilinase  
PG – Página  
PAN – Phe-Arg - dicloridrato de naftilamida  
PAβN – fenilalanina-arginina-naftilamida  
PBPs – Proteínas ligadoras de penicilina

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PDR – Pandroga resistente

PPT – Piperacilina/tazobactam

PFGE – Eletroforese em Gel de Campo Pulsado

PH – Potencial Hidrogeniônico

PI – Piauí

Rede RM – Rede Nacional de Monitoramento de Resistência Microbiana em Serviços de Saúde

RNA- Ácido ribonucleico

RND – Divisão de Resistência-Nodulação

rRNA – RNA ribossômico

SCOPE – Vigilância e Controle de Patógenos de Importância Epidemiológica

SPP – Plural para várias espécies

SENTRY – Sistema de Vigilância Internacional da Resistência aos Antimicrobianos

SMR – Pequenas proteínas multirresistentes

SUT – Sulfametoxazol Trimetoprima

SFH – Hospital das Forças de Segurança

TIG – Tigeciclina

TRI\SUL – Sulfametoxazol –Trimetroprim

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFPI – Universidade Federal do Piauí

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

µg – Micrograma

µl – Microlitro

mL – Mililitro

XDR – Extremamente resistente

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2.0 OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
2.1 Objetivo Geral .....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
<b>3.0 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>19</b>
3.1 Infecção Relacionada à Assistência à Saúde .....	19
3.2 Gênero <i>Acinetobacter</i> .....	21
3.2.1 Características gerais .....	21
3.2.2 Fatores de risco, mecanismos de patogenicidade e virulência.....	23
3.2.3 Identificação laboratorial.....	25
3.3 Epidemiologia das infecções causadas por <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	27
3.4 Conduta terapêutica e resistência bacteriana .....	28
3.5 Mecanismo de resistência por bomba de efluxo .....	32
<b>4.0 METODOLOGIA.....</b>	<b>36</b>
4.1 Investigação Epidemiológica .....	36
4.2 Amostras Bacterianas .....	36
4.3 Identificação bacteriana e teste de sensibilidade pelo sistema automatizado BD PHOENIX	
5.1.....	37
4.4 Ensaio para a determinação da ocorrência de resistência mediada por bombas de efluxo	38
4.5 Análise Estatística .....	40
4.6 Procedimentos Éticos .....	40
<b>5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
5.1 Análise Epidemiológica .....	41
5.2 Perfil de susceptibilidade.....	45
5.3 Presença de bombas de efluxo como mecanismo da resistência a antibacterianos em cepas de <i>Acinetobacter spp</i> .....	49
<b>6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>



## 1.0 INTRODUÇÃO

Infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS) é toda e qualquer infecção atribuída à hospitalização, quando não se tem o conhecimento sobre o período de incubação do patógeno causador e não se possui dados clínicos ou laboratoriais que comprovem infecção no momento da internação ou o surgimento de qualquer sinal clínico de infecção que surja 72 horas após admissão do paciente no hospital (OLIVEIRA, SILVA e LACERDA, 2016). Também são considerados os casos em que o paciente, diagnosticado com infecção comunitária, manifeste um agravamento ou que tenha-se isolado um novo agente etiológico (NOGUEIRA et al., 2009). Fatores que potencializam as IRAS são: a utilização de drogas antimicrobianas, o não cumprimento dos procedimentos básicos de controle de infecção e a debilidade do sistema imunológico dos pacientes. Como exemplo pode-se observar o crescente número de casos de pneumonia nosocomial, como a segunda maior causa de IRAS correspondendo a 18% das mesmas (BOYE e SOW, 2007).

As IRAS no Brasil são um problema crescente, pois geram um elevado custo no tratamento dessas infecções se compararmos ao tratamento das infecções comunitárias. Em nosso país, os dados sobre infecções relacionadas à assistência à saúde são pouco divulgados, pois os mesmos não são mensurados nem consolidados corretamente, sendo necessário um maior controle das IRAS, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, atenção aos procedimentos invasivos, redução do período de internação, conduta adequada da equipe de saúde e o repasse de conhecimento à população quanto aos riscos biológicos (PADOVEZE e BRANCO, 2014). As pesquisas realizadas no estado do Piauí referentes às taxas de infecção hospitalar são escassas. Entretanto, merece destaque o trabalho de Moura e colaboradores (2007) que revelou uma taxa de 60,8% de IRAS em um hospital público de referência de Teresina–Piauí, um valor bem acima do índice registrado nos hospitais brasileiros (15,5%).

Diversos patógenos oportunistas estão envolvidos com o desenvolvimento de IRAS, com destaque para as bactérias, sendo agentes etiológicos de reconhecida importância no âmbito das infecções humanas. Dentre as bactérias causadoras de IRAS, os bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGNNF), apresentam uma importância indiscutível. Os representantes deste grupo de bactérias têm ampla distribuição na natureza, podendo ser encontrados no solo, na água e nas plantas. Apresentam como características: aeróbios, não formadores de endosporos e utilizam a via oxidativa na degradação dos carboidratos (GALES et al., 2005; MENEZES et al., 2004). De acordo com Falagas e colaboradores (2006), 120

espécies de BGNNF são classificadas como patogênicas, sendo responsáveis pela maioria das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Radice e colaboradores (2011) destacam as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia* como as mais importantes causadoras de IRAS.

O gênero *Acinetobacter*, de acordo com Whitman e colaboradores (2015), pertence à família *Moraxellaceae* e a classe Gammaproteobacteria. É composto por 31 espécies diferentes, porém 17 não foram nomeadas pelo fato de raramente serem isoladas em seres humanos (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). Apresentam as seguintes características: são cocobacilos Gram-negativos, sem motilidade, não-fermentadoras, catalase-positiva e oxidase negativa. Crescem bem em meio sólido, quando incubados a 37°C, formando colônias lisas branco acinzentadas, podendo apresentar muco. Entre as espécies mais importantes do ponto de vista clínico, destaca-se o *Acinetobacter baumannii*, espécie responsável por diversos tipos de infecções como: pneumonias, septicemias, urinárias, meningites e nosocomiais principalmente em pacientes imunocomprometidos (GIAMARELLOU, ANTONIADOU e KANELLAKOPOULOU, 2008). Essa diversidade de infecções causadas pelo *A. baumannii*, decorre da sua elevada capacidade de permanência no ambiente hospitalar e de seus fatores de virulência, os quais citam-se: a presença de fímbrias, lipopolissacarídeos (LPS), cápsula polissacarídica, sideróforos, produção de enzimas hidrolíticas e formação de biofilme (JOLY e GUILLOU, 2005).

Outra característica dessa espécie que contribui para a sua patogenicidade é o elevado potencial de resistência aos antimicrobianos, que pode ocorrer de duas formas: intrínseca ou adquirida. Para Li e Nikaido (2004) os mecanismos de resistência mais encontrados em *A. baumannii* são: perda da permeabilidade da membrana externa, produção de  $\beta$ -lactamases, inativação de drogas, alteração de alvos e efluxo ativo. De acordo com pesquisas realizadas, o *A. baumannii* já foi relatado por apresentar resistência às seguintes classes de antibacterianos: aminoglicosídeos (AGHAZADEH et al., 2013), carbapenêmicos (POIREL e NORDMANN, 2006), penicilinas, cefalosporinas de primeira e segunda geração, clorafenicol e tetraciclinas (BERGOGNE-BÉRÉZIN e TOWNER, 1996).

Dentre os mecanismos de resistência citados anteriormente, destaca-se a bomba de efluxo eficaz para diversas classes de antimicrobianos. O mecanismo de bomba de efluxo atua aumentando o efluxo do antibiótico de forma que a droga em concentração usual não atinge a concentração necessária para eliminar o patógeno (BARKER, 1999). As bombas de efluxo são expressas nas células vivas, exercendo a função de proteção contra efeitos tóxicos de produtos químicos orgânicos, determinando a resistência bacteriana a diferentes classes de

antimicrobianos. A superexpressão dessas bombas funciona sinergicamente com a baixa permeabilidade da membrana externa. Até o momento descreveu-se seis famílias de bomba de efluxo, tanto para bactérias Gram-positivas, quanto Gram-negativas: ABC “ATP Binding Cassette”, MFS “Major Facilitator Superfamily”, SMR “Small Multidrug *Resistance*”, MATE “Multidrug and Toxic Compound Extrusion”, DMT “Drug-Metabolite Transporter” e RND “Resistance-Nodulation Division” (POOLE, 2002). Em *A. baumannii* já foram descritas a presença de algumas famílias de bombas de efluxo, em especial a família RND (RICHMOND et al., 2016).

Tendo em vista a importância clínica de *Acinetobacter spp* como patógeno causador de IRAS no Hospital de Urgências de Teresina – PI Prof. Zenon Rocha (HUT) Hospital de Urgência e Emergência do estado do Piauí que atende casos de média e alta complexidade, a realização desta pesquisa torna-se relevante por gerar subsídios a respeito da epidemiologia das infecções por esse agente e o perfil de resistência desse patógeno.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Investigar parâmetros epidemiológicos e a resistência aos antimicrobianos em cepas de *Acinetobacter spp* isoladas de infecções hospitalares no Hospital de Urgência de Teresina – PI e identificar a presença de bombas de efluxo como mecanismo de resistência desse patógeno.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Realizar um levantamento epidemiológico e clínico dos pacientes com infecções hospitalares causadas por *Acinetobacter spp*, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina – PI no período de julho de 2016 a julho de 2017.
- Descrever o perfil de resistência aos antimicrobianos utilizados no tratamento das infecções pelo *Acinetobacter spp*.
- Relatar a presença de bombas de efluxo como um possível mecanismo de resistência aos antimicrobianos.

### 3.0 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Infecção Relacionada à Assistência à Saúde

Os primeiros casos de IRAS surgiram no início do século XIX juntamente com a criação dos primeiros hospitais. Isso decorre de fatores como: o aglomerado de pessoas em um mesmo ambiente portando diversas patologias, a carência de métodos de combate à transmissão de doenças contagiosas e das precárias condições de higiene por parte da equipe de saúde e dos pacientes (STARLING, PINHEIRO e COUTO, 1993) Nesse período já se relatava a preocupação por parte dos profissionais da área da saúde com a transmissão de doenças infecciosas no ambiente hospitalar (LACERDA, 2002).

IRAS são causadas por patógenos, os quais podem ser adquiridos pelos indivíduos por via endógena e exógena. Essa aquisição ocorre por meio das mãos, secreção salivar, fluidos corpóreos, ar e materiais contaminados como, por exemplo, equipamentos e instrumentos utilizados em procedimentos médicos, sendo os mesmos de caráter invasivo, pois penetram as barreiras de proteção do corpo humano, aumentando o risco de infecção (BRASIL, 2004). A aquisição dessas infecções sofre influência de alguns fatores como: *status* imunológico do paciente, idade, sendo que recém-nascidos e idosos são mais vulneráveis, uso abusivo de antibióticos, imunossupressão e falhas nos procedimentos de controle de infecção (BRASIL, 2004). Elas são consideradas um grave problema para a saúde pública, por acarretar impactos como morbimortalidade em pacientes, o aumento do tempo de internação e gastos com procedimentos diagnósticos e terapêuticos (CHEN, CHOU e CHOU, 2005).

Segundo Magill e colaboradores (2014), em uma pesquisa realizadas nos EUA, demonstraram que, 1 a cada 25 pacientes internados apresenta pelo menos uma infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS) e que cerca de 75 mil pacientes com IRAS vieram a óbito decorrente da hospitalização, sendo que a maiorias das infecções ocorreram fora das UTIs. Para Haseeb e colaboradores (2016) cerca de 5 milhões de pessoas (em média 5% a 10% dos pacientes hospitalizados) são acometidos por infecções nosocomiais, ocasionando cerca de 90.000 óbitos anuais e uma elevação no número de casos de morbidade, além de um custo elevado com tratamentos dessas infecções hospitalares. Em contrapartida, no Brasil pouco se divulga os dados sobre IRAS, tendo em vista que os hospitais não divulgam e nem consolidam seus dados o que torna difícil mensurar o problema a nível nacional (TURRINI, 2002).

Segundo o Ministério da Saúde, para prevenir e controlar as IRAS é necessário interação de toda a equipe de saúde e o compromisso com o cumprimento das normas de proteção ao paciente, onde inclui-se medidas como: lavagem adequada das mãos pelos profissionais com o objetivo de evitar a transmissão de microrganismos de um paciente para outro, uso de luvas para proteção individual, no intuito de reduzir o risco de microrganismos que estiverem nas mãos do profissional contaminarem o campo operatório, assim como a troca de luvas entre um paciente e outro, no intuito de reduzir a transmissibilidade de microrganismo, bem como o uso de aventais, máscaras ou proteção facial evitando assim o contato do profissional com material biológico do paciente (BRASIL, 2006). Para se mensurar a taxa de prevalência de IRAS nos hospitais, deve-se avaliar a proporção de pessoas que sofreram o evento ou doença, em um momento ou período de tempo delimitado. Essa taxa pode aumentar quando se tem um prolongamento da doença, aumento da sobrevivência, elevação da incidência, imigração de casos, mudança de método de diagnóstico e emigração de pessoas saudáveis. Já para a redução da taxa necessita que ocorra as seguintes situações: doença de curta duração, elevada letalidade, diminuição da incidência, imigração de pessoas saudáveis e emigração dos casos (COUTO, PEDROSA e NOGUEIRA, 2003).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), nos últimos anos tem tomado a frente no quesito controle das infecções em serviços de saúde. No ano de 2014, foi criado o “Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde”. Este Plano está organizado em três partes: plano estratégico, plano operacional e plano de monitoramento. Foi elaborado para ser executado nos próximos cinco anos, com previsão de avaliações anuais que indicarão os ajustes necessários (BRASIL, REDE RM, 2017). No entanto, necessita também da participação e empenho dos profissionais da saúde e para isso se faz necessário que as equipes de saúde inseridas nos hospitais contribuam na adesão a medidas para diminuir a disseminação desses microrganismos, aderindo ao que é preconizado pelas diretrizes propostas pelo Centro de Controle e Prevenção de doenças (CDC), as quais têm a finalidade de reduzir o risco de transmissão desses agentes, de pacientes infectados para pacientes saudáveis ou para os profissionais da saúde (SIEGEL et al., 2007).

Um dos principais problemas enfrentados pelas unidades de terapia intensiva (UTIs) no Brasil é a presença de bactérias Gram-negativas não fermentadoras de glicose (BGNNFG), que apresentam elevado potencial de resistência aos antimicrobianos, isso tornou-se um constante desafio para os profissionais da área da saúde. Diante disso, a chance desses pacientes adquirirem infecção é 5 a 10 vezes maior se comparado a outros pacientes, o que

pode representar cerca de 20% do total de casos de infecções ocorridas em um hospital (SALOMÃO et al., 2011). Nesse contexto podemos citar o *Acinetobacter spp* como um importante agente causador de IRAS, sendo uma das bactérias causadoras de quase todas as infecções adquiridas na UTI, acometendo principalmente o trato respiratório desses pacientes (RICAS; MARQUES e YAMAMOTO, 2013).

### 3.2 Gênero *Acinetobacter*

#### 3.2.1 Características gerais

O gênero *Acinetobacter* foi descoberto em 1911 pelo microbiologista holandês Beijerinck. Trata-se de um cocobacilo Gram-negativo não fermentador de glicose e outros carboidratos, oxidase-negativo, aeróbio estrito, imóvel, catalase positiva (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). O primeiro microrganismo desse gênero a ser descrito e nomeado foi o *Micrococcus calcoaceticus* o qual foi isolado de amostra obtida do solo pelo microbiologista holandês Martinus Willem Beijerinck em 1911 (HOWARD et al., 2012). Porém esse gênero só foi proposto no ano de 1954 por Brisou e Prevot para os microrganismos não móveis sendo inseridos dentro do gênero *Achromobacter*, o qual só foi aceito em 1968 (HOWARD et al., 2012). Somente no ano de 1971 o gênero *Acinetobacter* foi oficialmente aceito pelo subcomitê sobre a taxonomia de Moraxella, baseado nos resultados da publicação de 1968 de Baumann (HOWARD et al., 2012).

O gênero *Acinetobacter* (do grego *akinetos*: não móvel) é classificado como integrante da família *Moraxellaceae*, da ordem *Gammaproteobacteria*. Este gênero compreende 26 espécies nomeadas e 9 espécies genômicas (VIEIRA e PICOLI, 2015). As bactérias desse gênero apresentam versatilidade nutricional e metabólica, o que lhe permite uma boa adaptação a diferentes ambientes, sendo isoladas do solo, água, vegetais, animais, pele, trato gastrointestinal de seres humanos saudáveis e também no ambiente hospitalar, sendo encontradas em objetos inanimados como equipamentos de Raios-X, bancadas, leitos, ventiladores e sistemas de circulação de ar (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008; GIAMARELLOU, ANTONIADOU e KANELLAKOPOULOU, 2008; DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008; BERNARDS et al., 2004). A classificação completa desse gênero se enquadra no reino *Bacteria*, filo *Proteobacteria*, classe *Gammaproteobacteria*, ordem *Pseudomonadales* e família *Moraxellaceae* (VANEECHOUTTE et al., 2009).

Quanto à morfologia em meio sólido apresentam-se na forma de colônias lisas, geralmente mucóides, medindo 0,5-3,0 mm de diâmetro, convexas com bordas inteiras, coloração amarelo pálido ou branco acinzentado e membranas mucóides. Apresentam bom crescimento no meio Ágar MacConkey e produzem colônias rosa pálido (WEAVER e ACTIS, 1994). É um importante patógeno nosocomial oportunista e encontra-se distribuído na natureza e no ambiente hospitalar. Apresenta boa tolerância a condições físicas variadas (umidade, temperatura e PH), o que lhe permite a sobrevivência por períodos prolongados em superfícies úmidas e secas. Possui grande capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos e mecanismos para escapar do sistema de defesa dos hospedeiros e apresentam afinidade por alguns sítios como: pele de seres humanos saudáveis, mucosas úmidas do corpo, incluindo: orofaringe, mucosa nasal, axilas e períneo (KARLOWSKY et al., 2003; ABBO et al., 2005).

Entre as espécies desse gênero podemos citar *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* e *A. lwoffii*, como as mais comuns em infecções humanas, destacando-se a espécie *A. baumannii*. Trata-se de patógeno bacteriano oportunista emergente, estendendo-se a infecções na comunidade também (HOWARD et al., 2012; PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). É um importante colonizador da pele, trato respiratório, orofaringe (SEBENY; RIDDLE; PETERSEN, 2008). Apresenta elevado potencial patogênico que, ao associar a resistência aos antimicrobianos, torna difícil seu controle e eliminação (ANSTEY et al., 2002). No gênero *Acinetobacter*, a espécie *baumannii* é causadora de grande parte das IRAS, acometendo além do trato respiratório, trato urinário, feridas, sítios de cateterização, podendo progredir para septicemia. Além da presença da bactéria, outros fatores podem potencializar o surgimento dessas infecções sendo eles: permanência prolongada em UTIs, realização de procedimentos invasivos, tratamento com antimicrobianos, imunossupressão decorrente do uso de quimioterápicos usados no tratamento de neoplasias, ventilação mecânica, queimaduras, feridas cirúrgicas e existência de doenças de base (BLONDEL-HILL, HENRY e SPEERT, 2007; SCHRECKENBERGER et al., 2007).

De acordo com um estudo realizado por Rodriguez-Bano e colaboradores (2004) na Espanha, verificou-se que 90% das infecções por *A. baumannii* eram adquiridas no ambiente hospitalar e somente 4% eram provenientes da comunidade. No mesmo estudo identificou-se que a maioria das infecções eram provenientes do trato respiratório (39%) em segundo lugar feridas (24%), trato urinário (23%) e bacteremias (3%). Outro estudo realizado na França em um hospital de ensino em Marselha, conduzido por Richet (2012), encontrou-se maior número de infecções em feridas com 32%, seguidos do trato urinário com 25%, no trato respiratório



com 20% e bacteremia 12%. Em nosso país, o *A. baumannii* multirresistente, segundo estudos atuais, é um dos principais agentes causadores de IRAS (CARVALHO et al., 2009). Nessas manifestações, encontra-se uma alta incidência de acometimento da pele, trato respiratório e digestivo, além de colonizar a orofaringe, onde essas bactérias apresentam uma afinidade pelas mucinas encontradas na cavidade oral, que atuam como receptores de aderência bacteriana em decorrência de serem os primeiros sítios de ligação dessa bactéria (KOELEMAN et al., 2001). Martins e colaboradores (2012) realizaram no Brasil um estudo em cinco UTIs de hospitais e encontraram uma maior prevalência de isolados de *A.baumannii* no trato respiratório inferior (66,4%), no sangue (9,67%), na urina (8,4%) e em culturas de feridas (6,99 %).

### 3.2.2 Fatores de risco, mecanismos de patogenicidade e virulência

O *A. baumannii* é a espécie primariamente associada com infecção em humanos (ALLEN e HARTMAN, 2010). Esta bactéria apresenta mecanismos que facilitam a colonização de pacientes e de equipamentos hospitalares, por meio da produção de biofilme e da ação das proteínas da membrana bacteriana, associado a sua capacidade de sobrevivência em condições ambientais adversas e sua persistência por longos períodos em superfícies, tornando-o um importante causador de surtos de infecção hospitalar (VIEIRA e PICOLI, 2015). Pacientes hospitalizados submetidos a procedimentos invasivos, transplantados, em uso de antineoplásicos e com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) apresentam maior predisposição às infecções por essa bactéria (LIMA, OLIVEIRA e PAULA, 2008; FALAGAS et al., 2007). Pode estar presente transitoriamente na microbiota da pele, sendo fonte endógena para infecções diversas como: bacteremias, pneumonia, meningite, infecções do trato urinário, infecções relacionadas a cateteres intravasculares, abscessos abdominais e ferida cirúrgica (MARAGAKIS e PERL, 2008; FALAGAS, BLIZIOTIS e SIEMPOS, 2006). Essa bactéria apresenta mecanismos de adesão aos tecidos humanos, infectando mucosa e áreas da pele que tenham sido expostas, por acidente ou lesão, os quais caracterizam-se por manifestar alterações na pele que posteriormente venham dar lugar a vesículas, bolhas hemorrágicas, com ruptura da pele seguida de necrose e bacteremia, que caso não sejam tratadas podem levar à septicemia e consequentemente à morte (SEBENY, RIDDLE e PETERSEN, 2008).

Fatores como imunossupressão, queimaduras tratadas com hidroterapia, traumatismo, permanência de prematuros em hospitais onde o *A. baumannii* é endêmico são importantes

nas infecções por esse patógeno (WISPLINGHOFF, PERBIX e SEIFERT, 1999). Outro fator importante para disseminação dessa bactéria no ambiente hospitalar e possivelmente o surgimento de surtos são as mãos da equipe dos profissionais da saúde, que funcionam como um veículo de transmissão, ao terem contato com um paciente colonizado e em seguida com outro ainda não infectado, podendo transmitir o microrganismo para o mesmo (VAN DE BROEK et al., 2006).

O *A.baumannii* apresenta as seguintes características relacionadas ao seu mecanismo de patogenicidade: adaptação às condições adversas, crescimento satisfatório em condições de carência de ferro, adesão às células epiteliais por meio do *pilli*, presença de proteínas de membrana externa, responsáveis pela morte celular, produção de endotoxinas letais em experimentos com ratos, cápsula polissacarídica e produção de enzimas hidrolíticas (JOLLY–GUILLOU, 2005).

Sobre o seu potencial patogênico e consequente fatores de virulência podemos citar a OmpA, membro das proteínas da membrana externa (OMPs). É uma proteína de superfície abundante no patógeno e está envolvida na resistência ao complemento e na formação de biofilmes quando liga-se ao epitélio do hospedeiro e às mitocôndrias, de modo a induzir a disfunção dessa organela, ocorrendo a liberação do citocromo C que é uma proteína heme, destinada a formação do apoptossoma, contribuindo para a apoptose da célula (CHOI et al., 2005). Outro papel desempenhado pela OmpA é a contribuição para a resistência intrínseca (VILA , MARTI e SANCHEZ- CÉSPEDES, 2007), além da disseminação do *A. baumannii* na corrente sanguínea, facilitando o crescimento e permanência dessa bactéria durante a infecção (McCONNELL, ACTIS e PACHÓN, 2013). A expressão dessa proteína (OmpA) está ligada à capacidade dessas cepas em colonizar o hospedeiro, podendo apresentar elevado potencial de colonização, porém um baixo potencial de patogenicidade em pessoas saudáveis. Dessa forma, a infecção por *A. baumannii* acomete preferencialmente pacientes imunocomprometidos (MARTINS et al., 2012).

Os fatores de virulência são responsáveis pela sobrevivência e adaptação das bactérias no ambiente hospitalar. Com isso, desempenham um importante papel nos mecanismos de colonização e infecção sendo eles: capacidade de aderência a diferentes superfícies pela formação de biofilmes (WROBLEWSKA et al. 2008), aderência às células do epitélio respiratório através de *pilli* (LEE et al., 2006), lipopolissacárido (LPS) e produção de uma cápsula polissacarídica (KANAFANI e KANJ, 2010)

A formação do biofilme decorre da junção de várias ações moleculares as quais são reguladas pelas células bacterianas. Em *A. baumannii* esse biofilme depende diretamente da

produção de um exopolissacarídeo mucóide capsular, promovendo a adesão a superfícies, o que favorece a alta prevalência do *A. baumannii* no ambiente hospitalar (McCONNELL, ACTIS e PACHÓN, 2013; JOLY-GUILLOU, 2005; PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). A adesão a superfícies bióticas ou abióticas, ocorre por meio da ativação de sistemas, sendo um exemplo o sistema CsuA/BABCDE que é responsável pela produção do *pilli*, gerando assim a aderência. Já o sistema Chaperone Usher Csu promove adesão às células epiteliais humanas. No entanto, não tem relação com a produção de *pilli* (LOEHFELM, LUKE e CAMPAGNARI, 2008; GADDY, TOMARAS e ACTIS, 2009). O biofilme tem participação importante nos casos de IRAS, principalmente quando formam biofilmes aderidos a cateteres, a ventiladores mecânicos e a outras superfícies, gerando assim a colonização e conseqüentemente infecção do paciente (DJERIBI et al., 2012).

Outro fator de virulência de bastante relevância é o LPS (lipopolissacarídeo), que pode agir em conjunto com o exopolissacarídeo, um fator de virulência importante na constituição do biofilme. Ambos agem protegendo a bactéria contra os mecanismos de defesa do hospedeiro. O exopolissacarídeo gera um bloqueio no sistema complemento, impossibilitando o contato desse sistema com a parede celular da bactéria e com isso mantém a bactéria no corpo do ser humano por mais tempo. É um importante indutor da resposta inflamatória em monócitos humanos o que demonstra ser um fator importante e responsável pelo bloqueio da parede celular bacteriana, impedindo assim a fagocitose (JOLY-GUILLOU, 2005).

A cápsula polissacarídica, bem como os exopolissacarídeos são responsáveis por induzir a resposta inflamatória, estimulando a produção de citocinas nos monócitos humanos por meio da ativação do sistema complemento. Essa capacidade contribui para a patogênese dessa infecção (ERRIDGE et al., 2007).

### 3.2.3 Identificação laboratorial

A identificação fenotípica para a determinação das espécies de *Acinetobacter spp* é defendida por Bouvet e Grimont (1987), baseada em 28 testes fenotípicos. De acordo com Dortet e colaboradores (2006), apenas testes fenotípicos não são satisfatórios na identificação destas espécies, no entanto, a utilização de provas bioquímicas não é suficiente para identificar as espécies de *Acinetobacter* (DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008), sendo necessários outros métodos de identificação (JACQUIER, 2011).

A identificação fenotípica por meio de testes automatizados como: Vitek II, Microscan e BD Phoenix também apresentam limitações devido ao seu escasso banco de dados e

substratos (açúcares e enzimas) não específicos para o gênero *Acinetobacter* (GILAD OSHLACK; RIFKIN, 2006). No entanto, apresentam inúmeras vantagens como: rapidez em que são realizados, praticidade e eficácia na identificação do gênero além de realizarem o perfil de resistência das espécies aos antimicrobianos empregados na terapia clínica. A automação BD Phoenix utiliza um tempo máximo de 12 horas para obter uma identificação e de 16 horas para completar um antibiograma e conta com 45 substratos bioquímicos secos para a identificação de bactérias Gram-negativas permitindo a identificação de 160 grupos taxonômicos diferentes (MENOZZI et al., 2006; O'HARA, 2005). Além da reprodutibilidade, facilita a liberação de laudos proporcionando rapidez nos resultados para os pacientes e clínicos e a liberação de quantidades reduzidas de contaminantes além da relação custo-benefício (DONAY et al., 2004).

Devido aos problemas enfrentados na identificação fenotípica de *A. baumannii*, mesmo em testes automatizados, como a inespecificidade de substratos, tem se desenvolvido métodos moleculares para a identificação destas espécies (LIM, KYEONG e KIM, 2007; DIJKSHOORN; NEMEC; SEIFERT, 2008; PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). Com relação aos testes moleculares, os baseados em métodos genotípicos são mais eficazes e confiáveis, a exemplo da ribotipagem, que identifica espécies do complexo *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* e a verificação da similaridade genética entre as cepas por meio da *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE). Outros métodos moleculares de grande relevância são: a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e a análise de sequenciamento de genes como o *rpoB*, que codifica a subunidade  $\beta$  da RNA polimerase (GUNDI et al., 2009; PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008; ALLEN e HARTMAN, 2010).

Importante ainda citar aqui outra técnica, a hibridação por DNA-DNA, que é considerada referência em identificação. Esta técnica codifica genomas inteiros e compara-os por semelhança em percentuais de ligações relativas ou por diferença térmica entre os híbridos. Entretanto, essa técnica apresenta algumas limitações tais como: dificuldade de execução, sua realização em pequenas quantidades de amostra, que restringe a descoberta de novos táxons (DIJKSHOORN, NEMEC, SEIFERT, 2008; PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). Outro método empregado é a *matrix associated laser desorption-ionization - time of flight* (MALDI-TOF). Esse método é baseado em espectrometria de massa e tem ganhado espaço na rotina de diagnóstico laboratorial em microbiologia, particularmente na identificação das espécies bacterianas. Trata-se de uma técnica rápida e de resultados promissores, onde se utiliza uma colônia da cepa isolada em meio de cultura, ou a própria

amostra clínica, sendo um teste de fácil execução e rápido resultado, além de necessitar de baixos insumos e a fácil realização pelo analista (JACQUIER, 2011).

Outra importância na utilização dos métodos moleculares para a identificação de *A. baumannii*, é que estes métodos também podem ser empregados na detecção de genes de resistência a antibióticos intrínsecos ao *A. baumannii*. Entre estes métodos, destacam-se: a análise de plasmídeos, multilocus sequence typing (MLST), amplified fragment length polymorphism (AFLP) e a polymerase chain reaction (PCR) (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008; ALLEN e HARTMAN, 2010).

### **3.3 Epidemiologia das infecções causadas por *Acinetobacter baumannii***

As infecções por *A.baumannii* são identificadas a partir da investigação de surtos, acometendo principalmente pacientes debilitados, encontrados em UTIs, pacientes dependentes de ventiladores mecânicos, pacientes recém cirurgiados, que tenham feito cateterismo e traqueostomia (GARNACHO-MONTERO et al., 2005; MANIKAL et al., 2000). Utensílios e materiais como: luvas, água destilada, torneiras, medicamentos, soluções parenterais, agulhas, monitores, mesas, camas e pias, também são contaminados facilmente por essa bactéria contribuindo assim para a proliferação de surtos (SALAVERT, 1999; BERGOGNE-BÉRÉZIN e TOWNER, 1996). O aumento desses surtos tem relação direta com a colonização da pele dos pacientes, a qual se torna responsável pela contaminação das mãos dos profissionais da saúde durante o contato trivial (SALAVERT, 1999). Segundo estudos realizados em hospitais no momento de surtos de infecções, realizou-se esfregaços de faringe, constatando-se que 7% a 18% foram positivos para *Acinetobacter spp.* Já em esfregaços de pacientes traqueostomizados, a positividade foi de 45% dos casos, isso decorre do fato de o trato respiratório ser um importante reservatório de infecções por *Acinetobacter*, em especial da espécie *baumannii* (MARTÍNEZ-PELLÚS et al., 2002).

Em estudo realizado por Slama (2008) onde analisou dados do *National Nosocomial Infections Surveillance* (NNIS) de infecções por *Acinetobacter spp* em hospitais americanos entre os anos de 1975 a 2003, mostrando um aumento na incidência das infecções, sendo elas: pneumonia hospitalar de 1,5% para 6,9%, infecção na corrente sanguínea de 1,8% para 2,4%, sítio cirúrgico 0,5% a 2,1% e infecções do trato urinário 0,6% a 1,6%. Segundo Andrade e colaboradores (2008) um estudo realizado em hospitais brasileiros entre os anos de 2003 a 2008 pelo programa SENTRY, identificou que o *Acinetobacter spp* encontra-se dentre os bacilos Gram-negativos, sendo o 4º patógeno de maior incidência e representando 8% das

infecções na corrente sanguínea. Segundo Gales e colaboradores (2012) na América Latina as infecções por bacilos Gram-negativos principalmente por *Acinetobacter spp* tem representado 7,2% das infecções na corrente sanguínea e 17,7% dos casos de pneumonia.

A respeito da espécie *A. baumannii*, por ser um colonizador das vias aéreas, no ambiente hospitalar é um importante causador da pneumonia associada à ventilação mecânica, apresentando elevada taxa de mortalidade dos pacientes entre 40% e 70% (DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008; GARNACHO-MONTERO et al., 2003). Esta bactéria é responsável por causar endocardite, quando associada à prótese valvar (OLUT e ERKEK, 2005) e ceratite em pacientes submetidos à cirurgia ocular (KAU et al., 2002). Casos de meningite apresentam relevância em especial àqueles pacientes que foram submetidos à neurocirurgia (KATRAGKOU et al., 2006; CASCIO et al., 2010). Segundo Rodríguez e colaboradores (2008) em um estudo realizado em dois hospitais universitários, entre 1990 a 2004, identificaram 51 casos de meningite em pacientes submetidos a neurocirurgias, apresentando uma elevada taxa de mortalidade de 33%. Outro estudo semelhante realizado por Metan e colaboradores (2007) analisaram 28 casos de meningite causada por *A. baumannii*, identificaram maior taxa de mortalidade, de 70%.

A respeito das infecções por *A. baumannii* adquiridas na comunidade, têm-se poucos relatos na literatura, o que retrata uma baixa prevalência desse patógeno nestas infecções (DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008). Segundo Falangas e colaboradores (2007) casos de pneumonia comunitária causadas por este patógeno estão associados a fatores como: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), alcoolismo, tabagismo, diabetes. No entanto, apresentam elevadas taxas de mortalidade, variando entre 40% a 60% (CHEN et al., 2001; ANSTEY et al., 2002; LEUNG et al., 2006).

### **3.4 Conduta terapêutica e resistência bacteriana**

Até a década de 70 as infecções causadas por *A. baumannii* eram tratadas com gentamicina, minociclina, ácido nalidixico, ampicilina ou carbenicilina de forma isolada ou combinada. No entanto, no ano de 1975 com o aumento da resistência incluiu-se outras opções terapêuticas, amiopenicilinas, cefalosporinas de pequeno e amplo espectro, cefamicinas, aminoglicosídeos, clorafenicol e tetraciclina (BERGOGNE- BEREZIN; TOWNER, 1996). Estas classes de antimicrobianos ainda são utilizadas na terapêutica destas infecções, particularmente os aminoglicosídeos em combinação com beta-lactâmicos de amplo espectro (VILA, MARTÍ e SÁNCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

Esses agentes são diferenciados quanto ao seu mecanismo de ação, sendo estes: interferência na síntese da parede celular (beta-lactâmicos, glicopeptídeos e carbapenêmicos), inibição da síntese de proteínas (macrolídeos, aminoglicosídeos, lincosamidas, tetraciclina, oxazolidinonas e estreptograminas), interferência na síntese de ácidos nucleicos (fluorquinolonas e rifamicinas), inibição da síntese do ácido fólico (trimetoprima, e sulfametoxazol) e fragmentação da estrutura da membrana celular da bactéria (polimixinas e daptomicinas) (TENOVER, 2006).

Um fator determinante na escolha do tratamento das infecções por *A. baumannii* é a resistência que esse patógeno tem apresentado a quase todas as classes de antimicrobianos e por esse motivo, a necessidade na busca por novos antibacterianos com ação mais efetiva contra esse agente infeccioso (LIM, KYEONG e KIM, 2007). Entre os antibacterianos mais eficazes no tratamento das infecções por *A. baumannii*, destacam-se as polimixinas, em especial a colistina polimixina E. Entretanto, o elevado potencial de toxicidade e nefrotoxicidade, deste fármaco levou ao uso alternativo de associações terapêuticas entre as classes de antibacterianos (HUJER et al., 2005; MICHALOPOULOS e FALAGAS, 2010).

A resistência aos antimicrobianos pode ser atribuída a alguns fatores como a mutação no gene de resistência e a perda ou diminuição da expressão de proteínas de membrana externa (OMPS) (LOPES et al., 2011). Pressão seletiva favorecendo a disseminação de bactérias resistentes (PRINCE e WEINSTEIN, 2008). Todos esses fatores são responsáveis por reduzir consideravelmente a sensibilidade aos antimicrobianos, outro fator é a elevada capacidade de aquisição de fatores genéticos de resistência e a resistência intrínseca, que contribui para a permanência dessa bactéria no ambiente hospitalar (MAGNET, COURVALIN e LAMBERT, 2001; BERTONCHELI e HÖRNER, 2008).

A resistência do *Acinetobacter baumannii* aos antibióticos pode ser de origem intrínseca ou adquirida. Os mecanismos intrínsecos são: sistemas de bombas de efluxo, produção de  $\beta$ -lactamase do tipo AmpC e enzimas inativadoras de drogas. Esses mecanismos intrínsecos ocorrem por meio de genes encontrados no cromossomo bacteriano. A resistência adquirida ocorre por meio de mutações em genes que são alvos dos antimicrobianos, por transferência de material genético determinante para resistência os quais são encontrados em plasmídeos, transposons e bacteriófagos (LEVY e MARSHALL, 2004).

A maioria das cepas de *A. baumannii* envolvidas em IRAS são classificadas quanto à resistência em multidroga resistente (MDR). Essa classificação baseia-se na quantidade de classes de antibióticos os quais apresentam resistência. Os MDRs apresentam resistência de três das cinco classes citadas (cefalosporinas, carbapenems, fluoroquinolonas,

aminoglicosídeos e ampicilina com sulbactam). Essa definição pode sofrer mudanças ao passar do tempo, tendo em vista as mudanças nos padrões de resistência antimicrobiana de bactérias (FALAGAS, KOLETISI e BLIZIOTIS, 2006).

A classificação em XDR (cepas extremamente resistentes a medicamentos) é definida como cepas que apresentam resistência a todos os antibióticos, com exceção da colistina e da tigeciclina, as quais em sua maioria apresentam elevada resistência aos carbapenêmicos (IDSA, 2012). O número de infecções causadas por esse perfil de cepas é alarmante. Pode-se estimar que aproximadamente 75.000 casos de *A. baumannii* XDR ocorram anualmente no mundo, resultando em 30.000 mortes e custos elevados com tratamento se comparado com o tratamento de infecções causadas por cepas sensíveis, fazendo-se necessário novas estratégias de tratamento (SPELLBERG e REX, 2013).

Já a denominação PDR, de acordo com Peleg, Seifert e Paterson (2008) é definida como resistência a todas as classes de antimicrobianos utilizados no tratamento. Usualmente são as cepas resistentes aos antibióticos atualmente disponíveis sendo eles: penicilinas, cefalosporinas, carbapenens, monobactamas, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, polimixinas, tetraciclinas (incluindo tigeciclina) e sulbactam com exceção da colistina (polimixina B) (LEE et al., 2005; KUO et al., 2004; WANG et al., 2003).

O alto índice de resistência em *A. baumannii* se deve em partes ao uso indiscriminado de antibióticos de amplo espectro que selecionam cepas resistentes que são transmitidas entre os pacientes no ambiente hospitalar (EL-SHAZLY et al., 2015; LI et al., 2015; ELIOPOULOS, MARAGAKIS e PERL, 2008). A proliferação de cepas de *A. baumannii*, MDRs e PDR estão evidentes em muitas pesquisas realizadas mundialmente, o que dificulta o tratamento dessas infecções, tornando-o empírico e dificultando na tomada de decisões terapêuticas (FISHBAIN e PELEG, 2010).

A respeito dessas classes de antimicrobianos relata-se a resistência a algumas classes usadas na rotina terapêutica dentre elas: aminoglicosídeos, carbapenêmicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas. Sobre os aminoglicosídeos essa resistência é resultado da ação de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, denominadas de aminoglicosidases, sendo elas: acetiltransferases, nucleotidiltransferases e fosfotransferases, que atuam reduzindo a afinidade de ligações a estruturas ribossômicas do RNA bacteriano (ZAVASCKI et al., 2010), por modificação do sítio alvo, ou absorção limitada do fármaco por perda da permeabilidade ou superexpressão de bomba de efluxo (AGHAZADEH et al., 2013).

A respeito dos carbapenêmicos, essa resistência ocorre por meio da diminuição da permeabilidade das membranas externas, produção de  $\beta$ -lactamases de classe D (OXA



Carbapenemases) alteração na afinidade das proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs), a expressão de metalo- $\beta$ -lactamases (MBLs) e mais raramente a hiperexpressão de sistemas de bombas de efluxo (WALSH et al., 2005; POIREL; NORDMANN, 2006). Atuam inibindo a atividade das transpeptidases e das D-alaninas carboxipeptidases das PBPs, impedindo a síntese da parede bacteriana. Apresenta-se estável diante da degradação por betalactamase de espectro ampliado (ESBL) e cromossômica do tipo ampC e por sua elevada afinidade por PBPs. Os representantes dessa classe são uma boa opção terapêutica, sendo usada no combate a infecções intra-abdominais, pneumonia noscomial e comunitária, infecção de pele, meningite, seps e febre neutropênica (RODLOFF, GOLDSTEIN e TORRES, 2006).

Entre os anos de 1971 a 1974, surgiram os primeiros relatos de resistência a penicilinas, cefalosporinas de primeira e segunda geração, aminoglicosídeos, clorafenicol, tetraciclina (BERGOGNE-BÉRÉZIN e TOWNER, 1996). No ano de 1985 iniciou-se a atenção para os casos de resistência aos carbapenêmicos e na década de 90 surgiram os primeiros relatos de surtos em hospitais causados por essa bactéria (DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008). Esses relatos revelaram altos índices de resistência aos aminoglicosídeos, cefalosporinas de terceira geração, cefepime, fluoroquinolonas e piperacilina/tazobactam (BERGOGNE-BÉRÉZIN e TOWNER, 1996).

A resistência do *A. baumannii* às fluoroquinolonas foi atribuída a mudanças na estrutura do DNA girase ou topoisomerase IV, que são causados por mutações nos genes *gyrA* ou *parC*, respectivamente. Estas mudanças reduzem a afinidade do fármaco no complexo enzima-DNA (SPENCE e TOWNER, 2003; RUIZ, 2003), ocasionando uma redução na produção de proteínas da membrana externa que mede o influxo de quinolona, ou a expulsão do fármaco ativo devido à estimulação do sistema de efluxo das células (VILA, MARTI e SANCHEZ-CESPEDES, 2007).

As quinolonas apresentaram uma boa resposta terapêutica até os anos 90, porém logo surgiram os casos de resistência a essas drogas, que em sua maioria se dá de forma intrínseca (LING et al., 2005; TOWNER, 2009). Vale ressaltar alguns desses mecanismos usados por essa bactéria: redução da permeabilidade da membrana externa, aumento do efluxo celular, alteração na estrutura das subunidades da DNA girase, que ocorre por meio de mutação em *gyrA* e/ou *parC*. (BERGOGNE-BÉRÉZIN e TOWNER, 1996; TOWNER, 1997).

Diante desse quadro crescente de resistência, a terapia antimicrobiana fica restrita à ampicilina-sulbactam (combinação de um beta-lactâmico e um inibidor de beta-lactamases) (FERREIRA, RAPOPORT e SAKANO, 2006), porém já se tem relatos de resistência a essa droga, restando apenas a polimixina, que apresenta elevada toxicidade e nefrotoxicidade,

principalmente, à polimixina E (colistina) (GALES et al., 2001). Uma alternativa para minimizar os efeitos tóxicos das polimixinas são as associações terapêuticas dentre elas as mais utilizadas são: ampicilina/sulbactam, cefoperazona/sulbactam, carbapenêmicos, polimixina B e E, piperacilina/tazobactam, tigeciclina e aminoglicosídeos (HUJER et al., 2005; MICHALOPOULOS e FALAGAS, 2010).

Na década de 80, as polimixinas tiveram o seu uso restrito, entretanto tempo depois devido o aumento da resistência às drogas de escolha em especial aos carbapenêmicos e consequentemente redução das opções terapêuticas retornam como a principal opção terapêutica no tratamento das infecções por *A. baumannii* (KARAGEORGOPOULOS e FALAGAS, 2008; MUNOZ-PRICE, ROBERT e WEINSTEIN, 2008). Este fato é comprovado em um estudo, realizado por Gales, Jones e Sader (2006), que avaliou dados do Sentry de 2.621 cepas de *Acinetobacter spp* entre os anos de 2001 a 2004, evidenciando uma sensibilidade à polimixina de 97,9%.

Alguns microrganismos podem desenvolver resistência às polimixinas, apesar das poucas pesquisas divulgadas, o que se tem elucidado é que a sua ocorrência se dá por dois mecanismos: mutação ou adaptação (SKIADA et al., 2011). Essa resistência pode estar associada a alterações na membrana externa da célula bacteriana, alterações lipídicas, redução dos níveis de proteínas específicas da membrana externa (GUNN et al., 1998). Para algumas bactérias, têm-se identificado outros mecanismos, a exemplo da *Salmonella* com envolvimento do gene mig-14 (BRODSKY et al., 2002), em *Klebsiella pneumoniae* a presença de cápsula polissacarídica (CAMPOS et al., 2004) e para *Yersinia spp*, a bomba de efluxo (BENGOECHEA e SKURNIK, 2000). De forma geral, as polimixinas são uma excelente opção terapêutica no combate a bactérias MDR. Um fator potencializador do baixo índice de resistência a elas é o fato de as mesmas terem passado um longo período em desuso (GIARDELLO e GALES, 2012).

### **3.5 Mecanismo de resistência por bomba de efluxo**

No final dos anos de 1980, o trabalho dos pesquisadores Kumar e Schweizer (2005) elucidou os sistemas de expulsão ativo em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Esse sistema é constituído por três subunidades: a bomba (encontrada na membrana interna e que exerce a função de expulsão de substâncias), o canal de saída (porina na membrana externa) e a proteína ligadora (liga a bomba à porina). As bombas multidrogas resistentes são capazes de expulsar um grande número de substratos (SÁNCHEZ, 2003) e estão envolvidas também na

captura de nutrientes essenciais, íons, excreção de produtos do metabolismo bacteriano, substâncias tóxicas, além de atuar na comunicação celular com o ambiente (ZHI e NIKAIDO, 2004).

Poole (2002) afirma que a manifestação da resistência bacteriana a diferentes classes de antibióticos está associada à hiperexpressão dessas bombas e que as mesmas funcionam em sinergismo com a baixa permeabilidade da membrana, ou seja, a droga ao ser liberada para fora da célula e tentar entrar novamente enfrentam a barreira da baixa permeabilidade da membrana externa. Os transportadores multidrogas primários utilizam ATP para realizar tal mecanismo. Já os transportadores multidrogas secundários podem ser subdivididos em famílias distintas: mediador principal (MF), família de baixa resistência a multidrogas (SMR), família de extrusão de multidrogas, compostos tóxicos (MATE) e família de resistência-nodulação-divisão (RND). Esses transportadores secundários são sensíveis a agentes que dissipam a força motriz de prótons, mediando o efluxo de compostos tóxicos na célula por meio de uma troca acoplada com prótons.

Em geral, a maioria desses transportadores multidrogas pertencem à família RND os quais interagem com proteína de fusão de membrana (MFP) e uma proteína da membrana externa (OMP) permitindo assim o transporte da droga tanto do meio intracelular, quanto do espaço periplasmático e das membranas exteriores de bactérias Gram-negativas. O Fator OMP é responsável por gerar um túnel de continuidade abrangendo desde a membrana externa até o espaço periplasmático, já a MFP tem a função de aproximação das membranas (externa e interna) ou de estabilizar a estrutura formada por OMP (MAGNET, COURVALIN e LAMBERT, 2001).

As bombas de efluxo são classificadas em seis famílias: ABC (ATP binding cassette); MFS (Major Facilitator Superfamily); MATE (Multidrug and Toxic Compound Extrusion) e SMR (Small Multidrug Resistance), RND (Resistance Nodulation Division) e DMT (Drug-Metabolite Transporter). A família ABC usa a energia liberada pela hidrólise de ATP para mover substratos através das membranas celulares, ou seja, entre o interior e o exterior das células. Constituem uma superfamília grande, diversa e onipresente desde procariotos até mamíferos (VASILIOU, VASILIOU e NEBERT, 2009).

As bombas multidrogas pertencentes à superfamília MFS são constituídas de um sistema com uma única proteína de membrana, que transporta substratos através da membrana citoplasmática por três mecanismos: simporte, antiporte e uniporte, sendo estes responsáveis pelo transporte de substratos (PAULSEN, BROWN e SKURRAY, 1996). Essa família é representada por Tet(A), Tet(B) e ClmA. O Tet(A) é responsável pela resistência à tetraciclina

e à minociclina, o Tet(B) leva à resistência à tigeciclina, tornando as bactérias resistentes a esta droga com o seu uso clínico (CHOPRA e ROBERTS, 2001; THAKER, SPANOGIANNOPOULOS e WRIGHT, 2010). Esses sistemas de efluxo Tet, em bactérias Gram-negativas, representa um importante mecanismo de resistência à tetraciclina, em que o gene responsável pela resistência pode estar inserido no plasmídeo ou ser encontrado nos transposons (VILA, MARTÍ e SANCHEZ-CÉSPEDES, 2007). O ClmA é responsável pela resistência ao clorafenicol (FOURNIER e RICHET, 2006).

De acordo com Su e colaboradores (2005), as bombas de expulsão pertencentes à família MATE são compostas por uma única proteína de membrana. Em *A. baumannii* essa família é representada pela bomba de ejeção AdeM, que reconhece uma variedade de substratos como: ofloxacina, ciprofloxacina, gentamicina, 4'-6-diamino-2-fenilindole (DAPI), triclosan, brometo de etídio, entre outros. O sistema é o AbeM também encontrado em *A. baumannii*, o qual é responsável pela redução da CIM (4x) para as seguintes drogas: norfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina e gentamicina. Essa bomba utiliza-se da força próton-motriz como fonte de energia, o que lhe diferencia de outras bombas da mesma família que utilizam o gradiente Na<sup>+</sup>.

A família SMR (Small Multidrug Resistance) apresenta o sistema de efluxo AbeS, responsável por garantir alto nível de resistência aos fármacos: cloranfenicol, fluoroquinolonas, eritromicina, novobiocina, corantes e detergentes (COYNE, COURVALIN e PÉRICHON, 2011). Ao contrário de outras proteínas transportadoras multidrogas, a família de proteínas SMR apresenta apenas transporte de compostos lipofílicos (HEIR, SUNDHEIM e HOLCK, 1999), sendo estes constituídos por quatro hélices alfa transmembranas de aproximadamente 100-140 aminoácidos de comprimento (BAY, ROMMENS e TURNER, 2008).

As bombas pertencentes à família RND são formadas por três componentes: uma proteína transportadora localizada na membrana interna, outra proteína periplasmática acessória ou proteína de fusão de membrana e uma proteína de membrana externa ou porina (WIECZOREK et al., 2008; MARCHAND et al., 2004). Essa bomba contribui na resistência a diferentes classes de antimicrobianos e grande quantidade de substrato, sendo denominado de sistemas multifármacos não específico (VAN BAMBEKE, BALZI e TULKENS, 2000).

No *A. baumannii* a bomba representante da família RND é a AdeABC e está relacionada à resistência a vários antibióticos como: tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, cefotaxima, gentamicina e tigeciclina (MAGNET, COURVALIN e LAMBERT, 2001; MARCHAND, et al., 2004; RUZIN, KEENEY e BRADFORD, 2007). Esse sistema tem a

capacidade de gerar elevado grau de resistência quando associado à presença de oxaxilinas (MARQUE et al., 2005). Essa família possui mais dois sistemas: AdeDE e AdeIJK, o primeiro apresenta resistência às seguintes drogas: amicacina, ceftazidima, rifampicina e meropenem, já o segundo apresenta resistência intrínseca aos beta-lactâmicos, clorafenicol, tetraciclina, eritromicina, novobiocina, fluoroquinolonas e rifampicina (CHAU et al., 2004; DAMIER-PIOLLE et al., 2008). Esses sistemas são regulados por dois componentes: AdeR e AdeS, mutações nesses componentes são responsáveis pela multirresistência às drogas (MARCHAND et al., 2004). Outro sistema isolado de *A.baumannii*, pertencente à família RND descrito foi o AdeFGH, que apresenta resistência às fluoroquinolonas, tigeciclina, tetraciclina, sulfonamidas, cloranfenicol, clindamicina e sulfametoxazol-trimetoprim, sendo a sua superexpressão decorrente de mutação no gene *adeL* (COYNE et al., 2010). As bombas da família RND em *A.baumannii* (AdeABC, AdeIJK, e AdeFGH) demonstraram ser um importante fator de patogenicidade e virulência no aumento da produção de biofilmes (HE et al., 2015; YOON et al., 2015; RICHMOND et al., 2016).

## 4.0 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo transversal quantitativo.

### 4.1 Investigação Epidemiológica

O estudo foi realizado em pacientes internados no Hospital de Urgência da cidade de Teresina-PI – HUT. O HUT é um Hospital de Urgência e Emergência de média e alta complexidade, referência no Piauí e estados vizinhos. Foram utilizados dados contidos em fichas pessoais de cadastro e solicitações médicas. Esse acesso foi mediante a autorização do Comitê de Ética do Hospital, onde extraímos as informações como: sexo, faixa etária, sítio da infecção. Os dados foram coletados no período de julho de 2016 a julho de 2017, cadastrados no sistema de registros do hospital. Para isso foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: pacientes com manifestação clínica de infecção sugestiva de *Acinetobacter spp* após 72 horas da entrada no hospital, ou que tenham sido submetidos a procedimentos invasivos, como o uso de ventilação mecânica, traqueostomizados, com abscessos e patologias subjacentes graves, uso prévio de antimicrobianos, pacientes poli traumatizados e com infecção de sítio cirúrgico em que a realização do exame confirmatório tenha sido positiva para a presença desse microrganismo. Foram excluídos do estudo pacientes cujas informações contidas nas solicitações médicas apresentaram resultado negativo para infecção por *Acinetobacter spp* ou quando a infecção antecedeu a internação hospitalar.

### 4.2 Amostras Bacterianas

Neste estudo, foram analisadas 106 amostras bacterianas com identificação prévia e confirmatória para o gênero *Acinetobacter*, isoladas de diferentes espécimes clínicos, provenientes de pacientes internados no hospital HUT. As amostras biológicas foram enviadas diariamente em meio de transporte apropriado (Ágar inclinado ou BHI), para o laboratório de Microbiologia do Hospital Med Imagem. As cepas foram submetidas à identificação microscópica por meio da coloração de Gram, em seguida analisadas no equipamento de automação BD PHOENIX 5.1., onde se indentificou a espécie e realizou-se o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. Posteriormente, as cepas foram isoladas em meio de crescimento (Ágar BHI) e transportadas ao Departamento de Parasitologia e

Microbiologia da Universidade Federal do Piauí – UFPI, obedecendo aos padrões de biossegurança para transporte, armazenamento e conservação de amostras infectantes. Todas as amostras foram semeadas em placa de Ágar *MacConkey* e Ágar sangue, por meio da técnica do esgotamento do inóculo por múltiplas estrias seguidas por incubação em estufa bacteriológica a 37°C por 24h.

### **4.3 Identificação bacteriana e teste de sensibilidade pelo sistema automatizado BD PHOENIX 5.1.**

As amostras biológicas foram encaminhadas para o laboratório de microbiologia do hospital da Med Imagem, submetidas à identificação e testadas quanto à sensibilidade aos antimicrobianos utilizando o sistema BD PHOENIX 5.1 (Becton Dickison Sparks, MD 21152, USA), para confirmação do gênero e da espécie bacteriana. Por meio desse sistema foi possível estabelecer um perfil de sensibilidade das amostras de *Acinetobacter spp* através da determinação da CIM (CLSI, 2018).

A identificação e o teste de sensibilidade foram realizados após isolamento e subcultivo das amostras em Ágar sangue e Ágar *MacConkey* em duplicata, (CLSI, 2018). Para os testes de identificação e de sensibilidade aos antimicrobianos, foi preparada uma única suspensão bacteriana de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC) (UFC/mL) correspondente a 0,5 da escala *Mc Farland*. Para o teste de sensibilidade foram usados 25 µL dessa suspensão bacteriana, posteriormente diluído em 8 mL de caldo BHI e acrescentado 50 µL do indicador de óxido-redução específicos do fabricante. Essas duas suspensões foram colocadas em orifícios específicos presentes no painel NMIC /ID 104 (Becton Dickinson, Sparks, MD 21152, USA) utilizado apenas para bactérias Gram-negativas. Após o preenchimento de todos os poços contidos no painel foi incubado por 6 a 18 horas no aparelho BD. Phoenix 5.1. Esses procedimentos metodológicos foram preconizados pelo fabricante. A CIM foi definida como a menor concentração de antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano. As CIM 50 e CIM 90 serão definidas como as menores concentrações de antimicrobianos capazes de inibir o crescimento de 50% e 90% das amostras, respectivamente. As drogas: amicacina, cefepime, ceftriaxona, ceftazidima, ciprofloxacina, colistina, gentamicina, levofloxacina, meropenem, imipenem, tigeciclina, sulfametoxazol\trimetroprima e piperacilina\tazobactam foram classificadas como sensíveis, intermediárias ou resistentes, empregando os limites de sensibilidade para os seguintes antimicrobianos: amicacina, cefepime, ceftriaxona, ceftazidima, ciprofloxacina,

colistina, gentamicina, levofloxacina, meropenem, imipenem, tigeciclina, sulfametoxazol\trimetroprima e piperacilina\tazobactam (CLSI, 2018).

#### **4.4 Ensaio para a determinação da ocorrência de resistência mediada por bombas de efluxo**

Para verificação da ocorrência de resistência mediada por bombas de efluxo, as CIMs dos antibióticos: amicacina, ceftazidima e ciprofloxacina foram determinadas na presença e na ausência de uma solução inibidora do mecanismo de bomba de efluxo, o Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona (CCCP) (Sigma-Aldrich, Dorset, United Kingdom) em concentração subinibitória. Este composto é capaz de inibir sistemas de efluxo bacterianos, (LIN, LING e LI, 2009), através da dissipação do gradiente de prótons na membrana, reduzindo a energia disponível para a extrusão dos antimicrobianos (PELEG, ADAMS e PATERSON, 2007; MOREIRA, et al., 2005). As cepas testadas foram inoculadas em caldo Brain Heart Infusion, (BHI, Himedia, India) e incubadas a 37°C por 24h. A partir desta cultura foi preparada uma suspensão bacteriana padronizada para uma turbidez equivalente a 0,5 na escala Mac Farland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).

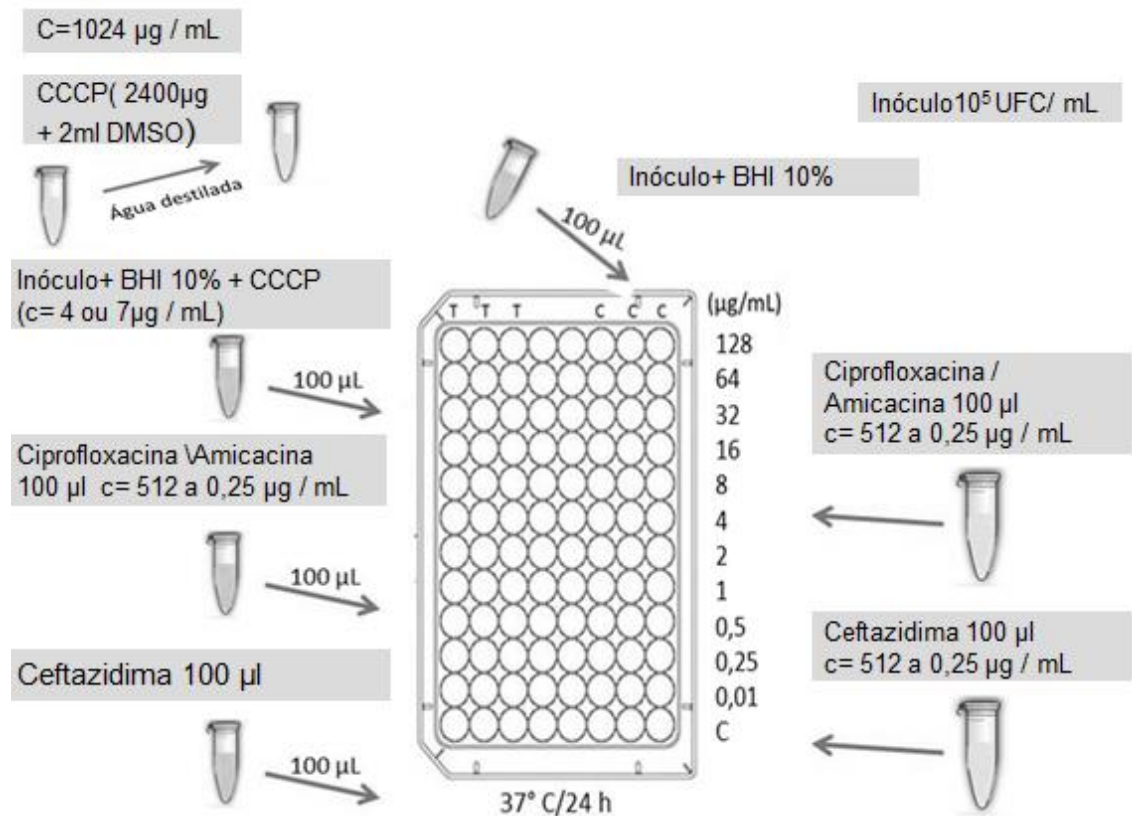
Para determinação das concentrações subinibitórias de CCCP a serem utilizadas em todos os ensaios foi realizado um ensaio preliminar com 10 cepas selecionadas aleatoriamente. Estas cepas foram semeadas em caldo Brain Heart Infusion, (BHI, Himedia, India) contendo CCCP em diferentes concentrações (4 a 7 µg/mL) e em seguida incubadas a 37°C por 24 horas. Os resultados obtidos demonstraram que as concentrações de 4 a 7 µg/mL não afetaram a viabilidade das cepas testadas, sendo estas utilizadas para todas as cepas isoladas.

Para verificar a ocorrência de resistência à amicacina, ciprofloxacina e ceftazidima mediada por bomba de efluxo, a suspensão bacteriana foi diluída em caldo BHI ( ½) na presença e na ausência do CCCP. Aliquotas de 100 µL da solução foram distribuídas nos poços de uma placa de microtitulação no sentido numérico (1-12). As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos antibióticos amicacina, ciprofloxacina e ceftazidima foram determinadas transferindo-se 100 µL da solução de cada antibiótico para o primeiro poço, seguido de microdiluição seriada 1:2 até o penúltimo poço (512 a 0,25 µg/mL), tomando-se o cuidado de homogeneizar a solução por três vezes antes da transferência para o poço seguinte. No último poço não foi adicionada a solução do antibiótico, servindo este como controle positivo de crescimento bacteriano. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e após



este período foi adicionado em cada poço 20  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa de resazurina sódica a 0,01% (m/v). As placas foram incubadas por uma hora à temperatura ambiente e após este período procedeu-se a leitura visual, levando-se em consideração que a mudança de coloração de azul para rosa indicava a ocorrência de crescimento bacteriano devido à redução da resazurina (PALOMINO et al., 2003; MANN e MARKHAN, 1998). Como critério para classificar presença fenotípica de bomba de efluxo foi considerado uma redução no MIC dos antibióticos ( amicacina, ciprofloxacina e ceftazidima) em pelo menos 2 vezes na presença do CCCP (ADERBILE et al., 2014).

Figura 01- Fluxograma do teste de modulação.



Fonte: Próprio.

#### **4.5 Análise Estatística**

Os dados foram organizados em planilhas do programa Graph Pad Prism 5.0 onde os mesmos foram submetidos ao teste de correlação de Pearson Qui-quadrado com Intervalo de confiança de 95% e significância em  $p < 0,05$  sendo os mesmos apresentados em forma de gráfico e tabelas.

#### **4.6 Procedimentos Éticos**

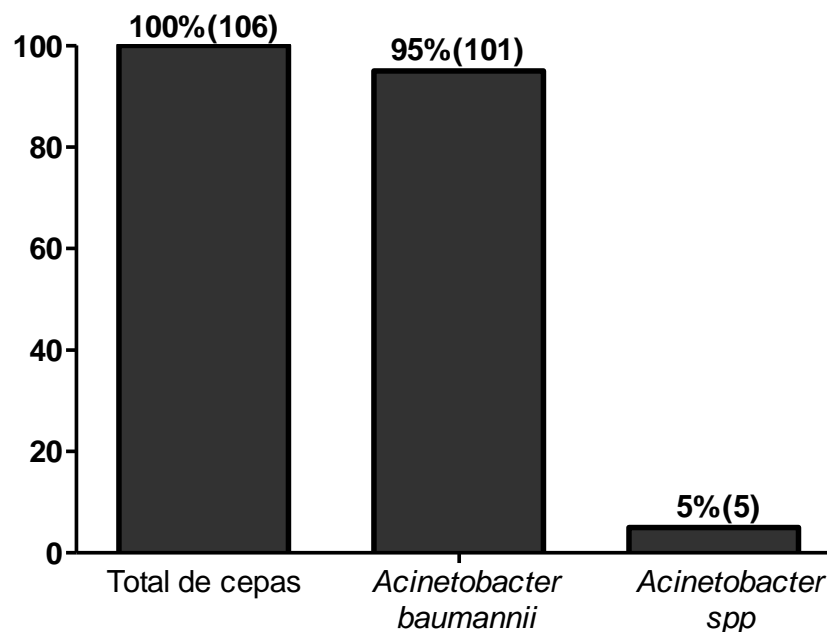
A pesquisa atendeu aos padrões estabelecidos pela resolução 466 de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí-UFPI (CAAE/UFPI 61695516.8.0000.5214) (Anexo A), como também ao Comitê Local do HUT (Anexo B) e a autorização do diretor técnico do Laboratório do Hospital Med Imagem (Anexo D). O estudo utilizou dados secundários, respeitando-se a confidencialidade e o anonimato dos sujeitos notificados.

## 5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise Epidemiológica

No período de julho de 2016 a julho de 2017 foram identificadas 101 cepas de *A. baumannii* e 5 cepas identificadas como *Acinetobacter spp* isoladas de pacientes com IRAS internados no hospital de urgências de Teresina-HUT. Este resultado é demonstrado na Figura 02.

Figura 02- Incidência das cepas de *Acinetobacter* como agente causador de IRAS no Hospital de Urgência de Teresina – PI, no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018.



Fonte: Próprio.

A incidência de infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* mostrou-se bastante elevada em relação à incidência de outras espécies. A literatura aponta claramente a relevância clínica da espécie *A. baumannii* (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008; ALLEN e HARTMAN, 2010). O *A. baumannii* ocupa um lugar de destaque dentro do gênero, pois é o mais virulento entre as outras espécies (ADEWOYIN e OKOH, 2018). Em estudo realizado por Álvarez-Lerma e colaboradores (2005) com pacientes de UTI, por meio de dados do Estudo Nacional de Controle de Infecção Hospitalar (ENVIN), mostrou que de 406 pacientes

que adquiriram IRAS causadas por espécies do gênero *Acinetobacter*, 357 casos (87,9%), foram causadas por *Acinetobacter* da espécie *baumannii*.

Tabela 01- Distribuição por sexo, faixa etária e espécime clínico de pacientes com IRAS, causadas por *Acinetobacter spp*, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina – PI, no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018.

VARIÁVEIS	n	%	p
<b>Idade (ano)</b>			
< 20	9	8,5%	
20 – 60	60	56,6%	<0,001***
> 60	37	34,9%	
<b>Sexo</b>			
M	73	68,9%	
F	33	31,1%	0,001***
<b>Espécime material clínico analisado</b>			
Secreção traqueal	82	77,4%	
Ponta de cateter	9	8,5%	
Ferida cirúrgica	6	5,7%	
Urina	3	2,8%	
Sangue	3	2,8%	<0,001***
Líquido peritoneal	1	0,9%	
Pé diabético	1	0,9%	
Secreção de couro cabeludo	1	0,9%	
<b>Resistência de isolados clínicos</b>			
Sensitive <sup>a</sup>	4	3,8%	
Non multi-drug resistant	6	5,7%	<0,001***
Multi-drug resistant <sup>c</sup>	96	90,6%	
Total	106	100,0%	

Legenda: n, frequência absoluta; %, frequência relativa; p para o teste Pearson Qui-quadrado com IC 95% e significância em  $p < 0,05$ . <sup>a</sup> Cip, Lev, Ipm, Mer, Gen, Ami, Ppt, Com, Cro, Caz, Sut, Tig, Col. <sup>c</sup> Cip, Lev, Ipm, Mer, Gen, Ami, Ppt, Cro, Caz, Cpm, Sut, Tig.

Fonte: Próprio.

De acordo com a análise dos resultados, observou-se que a faixa etária de maior incidência foi de 20-60 anos, com 56,6% dos pacientes nessa faixa etária. Em relação ao sexo, verificou-se que 68,9% eram do sexo masculino, sendo a secreção traqueal (77,4%), o espécime clínico onde se isolou o maior percentual deste patógeno, seguidos de ponta de cateter (8,5%) e sítio cirúrgico (5,7%).

Estudos semelhantes foram desenvolvidos por outros pesquisadores como Jia e colaboradores (2015) que avaliaram a incidência de infecções causadas por *A. baumannii* em pacientes de UTI em um hospital da China. Os resultados encontrados neste estudo revelaram um total de 102 isolados de *A. baumannii*, sendo os pacientes do gênero masculino (76,5%) os mais afetados, apresentando uma média de idade de 55 anos. Garcia e colaboradores (2013) ao analisarem casos de IRAS no período de abril de 2011 a abril de 2012 em um hospital no norte de Minas Gerais observaram que 56,8% dos pacientes eram do sexo masculino e que a maioria se encontrava na faixa de 60-69 anos de idade. Um estudo realizado no HUT de outubro a novembro de 2010 verificou que as infecções ocasionadas por *A. baumannii* foram as mais prevalentes (20,3%) entre pacientes internados na UTI (20,8%), os quais eram predominantemente do sexo masculino (75,0%), na faixa etária de 15 a 30 anos (33,3%) (RODRIGUES, PAZ e FREITAS, 2013).

Uma hipótese que poderia justificar este perfil epidemiológico seria a relação entre homens jovens e acidentes de trânsito, uma vez que muitos pacientes acidentados nos vários municípios do estado do Piauí são encaminhados para atendimento no HUT. Um estudo anterior, realizado no período de setembro de 2011 a fevereiro de 2012, demonstrou que 60,2% dos pacientes politraumatizados internados na clínica ortopédica do HUT tinham sido vítimas de acidentes de trânsito, com maior prevalência de homens (81,0%) na faixa etária de 18 a 38 anos (61,9%), dos quais 89,8% dos casos tiveram indicação cirúrgica (SANTOS et al., 2016).

O *A. baumannii* segundo relatos da literatura é um patógeno com afinidade por colonizar o trato respiratório superior, sendo causador de infecções respiratórias e pneumonia (MARTINS e BARTH, 2013). Essa predisposição pode ser verificada também em nosso estudo, tendo em vista que o espécime clínico mais isolado foi secreção traqueal (77,4%). Outros espécimes clínicos também foram verificados com menor incidência: ponta de cateter (8,5%), representando a segunda maior incidência, sítio cirúrgico (5,7%), urina e sangue com a mesma incidência (2,8%) e com índices menores foram obtidos líquido peritoneal, pé diabético e secreção de couro cabeludo com percentual de 0,9%. Estes resultados estão de acordo com um estudo realizado no sul do país, o qual verificou que a maioria das cepas de *A.*

*baumannii* foram isoladas a partir de amostras de secreção traqueal (38,34%) (DELIBERALI et al., 2011).

Resultados semelhantes foram também verificados em pacientes internados em UTI de hospitais chineses, que também verificaram uma maior prevalência de infecções atingindo o trato respiratório em relação a outros sítios (HUANG et al., 2018; JIA et al., 2015). O trato respiratório superior tem sido relatado como o sítio preferencial de colonização por *A. baumannii*, uma vez que este patógeno frequentemente ocasiona infecções associadas à ventilação mecânica (DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2008; GARNACHO-MONTERO et al., 2005).

Segundo estudo realizado pelo SENTRY no Brasil no período de 1997 a 1999, o *Acinetobacter spp* foi a quinta bactéria Gram-negativa de maior prevalência em surtos de IRAS, sendo responsável por 6,7% das infecções e terceiro causador de pneumonias nosocomiais com 10,8%, infecções da corrente sanguínea com 6,8%, sítio cirúrgico com 2,8% e no trato urinário com 3% (SADER et al., 2001). Contudo, estudo realizado por Andrade e colaboradores (2008), no qual se avaliou dados do SENTRY, entre os anos de 2003 a 2008, realizado em hospitais brasileiros mostrou que o *Acinetobacter spp* passou a ser o patógeno mais isolado em pacientes com pneumonia, sexto em pacientes com infecções na corrente sanguínea e terceiro em tecidos moles. Em estudo realizado por Santos, Brezolin e Horner (2014) no período de agosto de 2011 a janeiro de 2012, no Hospital Universitário de Santa Maria-HUSM, no Rio Grande do Sul, foram isoladas 32 amostras de *Acinetobacter*, sendo 23 provenientes de secreções respiratórias (71,8%), 6 de secreções em geral (18,8%, que incluem ponta de cateter, escaras, secreção de infecção em membro inferior e secreção de pé diabético, 2 amostras de urina (6,2%) e 1 amostra de sangue (3,1%).

## 5.2 Perfil de susceptibilidade

Tabela 02 – Perfil de resistência quanto aos fenótipos das cepas de *Acinetobacter spp*, isoladas de pacientes com quadro de IRAS internados no Hospital de Urgência de Teresina – PI, apresentadas no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018.

CEPAS	FENÓTIPOS	N
HUT96	SUT	1
HUT100	GEN CRO	1
HUT 45	PPT CPM CRO	1
HUT90, HUT66	CRO SMT	2
HUT02	CAZ CPM CRO	1
HUT21	CIP GEN PPT CAZ CPM CRO SMT	1
HUT36, HUT69	CIP LEV AMI PPT CAZ CPM CRO SMT	2
HUT101	CIP LEV GEN PPT CAZ CPM CRO SMT	1
HUT10	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CPM	1
HUT33	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CRO	1
HUT41	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ TIG	1
HUT04	CIP LEV IPM MER PPT CAZ CPM CRO SMT	1
HUT68, HUT72, HUT105	CIP LEV GEN AMI PPT CAZ CPM CRO SMT TIG	3
HUT77	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CRO SMT	1
HUT 56	CIP LEV GEN AMI PPT CAZ CPM CRO SMT TIG	1
HUT05, HUT06, HUT09, HUT17, HUT25, HUT43, HUT50, HUT60, HUT61, HUT62, HUT76, HUT86, HUT93	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CPM CRO	13
HUT07, HUT13, HUT26, HUT35, HUT38, HUT51, HUT78, HUT102, HUT103, HUT104, HUT107	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CPM CRO TIG	11
HUT01, HUT03, HUT08, HUT11, HUT12, HUT14, HUT15, HUT16, HUT18, HUT19, HUT20, HUT22, HUT23, HUT24, HUT27, HUT28, HUT29, HUT30, HUT34, HUT39, HUT44, HUT48, HUT49, HUT52, HUT54, HUT57, HUT59, HUT65, HUT75, HUT81, HUT 106, HUT83, HUT95	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CPM CRO SMT	33
HUT46	CIP LEV MER GEN AMI PPT CAZ CPM CRO SMT TIG	1
HUT31, HUT67	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CRO SMT TIG	2
HUT32, HUT37, HUT40, HUT42, HUT53, HUT55, HUT63, HUT64, HUT70, HUT71, HUT73, HUT74, HUT80, HUT82, HUT87, HUT88, HUT89, HUT 91, HUT92, HUT94, HUT97, HUT98, HUT99.	CIP LEV IPM MER GEN AMI PPT CAZ CPM CRO SMT TIG	23
HUT47, HUT58, HUT79, HUT85,	Sensível a todas as drogas	4
<b>TOTAL</b>	<b>-</b>	<b>106</b>

Legenda: CIP = Ciprofloxacina (Fluoroquinolona); LEV = Levofloxacina (Fluoroquinolona), IPM = Imipenem (Carbapenema); MER = Meropenem (Carbapenema); GEN = Gentamicina (Aminoglicosídeo); AMI = Amicacina (Aminoglicosídeo); PPT = Pipa/Tazobactam (Beta-lactâmico); CAZ = Ceftazidima (Beta-lactâmico); CPM = Cefepime (Beta-lactâmico); CRO = Ceftriaxona (Beta-lactâmico); SUT = Sulfametoxazol/Trimetoprim (Sulfa); TIG = Tigeciclina (Glicilcilina).

Fonte: Próprio.

Das 106 cepas analisadas, observamos que apenas 3,7% (HUT 47, 58, 79 e 85) das cepas de *Acinetobacter* testadas foram sensíveis a todas as drogas. Esse dado mostra o baixo perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Acinetobacter* testadas. Observou-se ainda que as cepas HUT 02, 45, 66, 90, 96 e 100 apresentaram um perfil de resistência a uma ou poucas drogas. Segundo Falagas, Koletsis e Bliziotis (2006), uma cepa é considerada MDR quando apresenta resistência a três ou mais classes de antimicrobianos diferentes. Nesse trabalho observamos que 90,6% (96/100) exibiram um fenótipo de multirresistência (MDR). Na Tabela 02 pode-se observar o perfil de resistência dessas cepas destacando, portanto, a prevalência de um perfil de resistência a três ou mais classes distintas de antimicrobianos. Estudo realizado por Zhao e colaboradores (2015) analisou 120 isolados de *A. baumannii* de um hospital da China em que 64 (53%) isolados eram MDR, evidenciando a predominância de *A. baumannii* MDR em ambiente hospitalar.

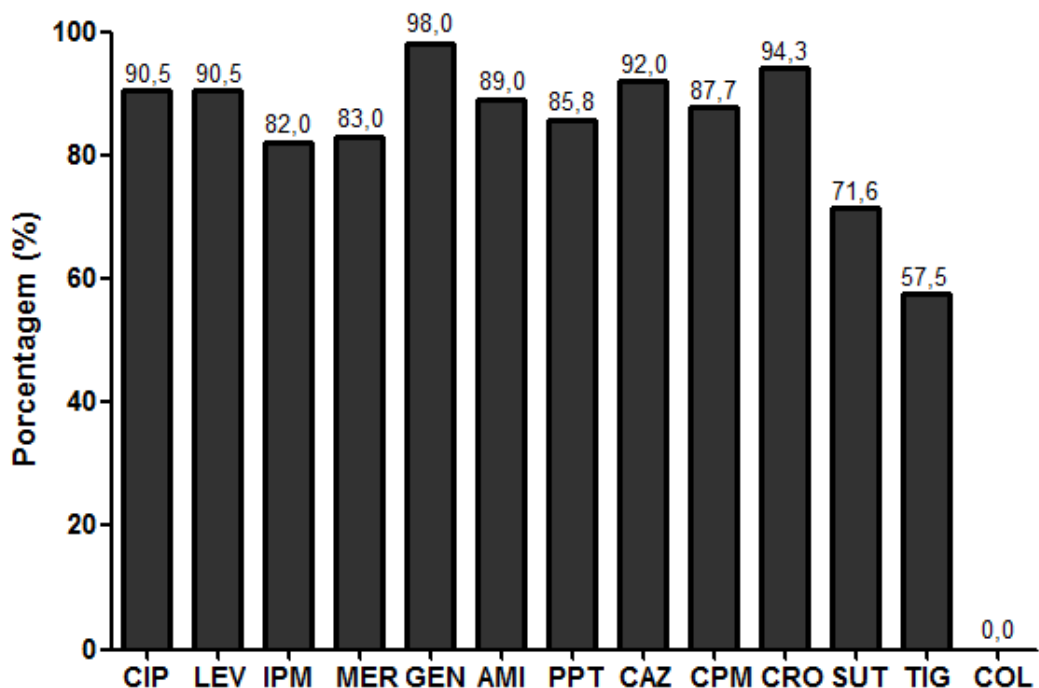
Outra classificação de cepas identificadas no estudo foi XDR, que seriam cepas extremamente resistentes aos fármacos, ou seja, cepas resistentes a todas classes de antimicrobianos usados para tratar infecções por *A. baumannii* com exceção da tigeciclina e colistina (SPELLBERG e BONOMO, 2015). Considerando a Tabela 02, observa-se que 51% das cepas podem ser classificadas como XDR. Estudo semelhante ao nosso, realizado a partir de isolados do Hospital das Forças de Segurança (SFH) no Reino da Arábia Saudita (KSA), obteve no ano de 2012 uma incidência de 12 cepas de *A. baumannii* XDR (AL-OBEID et al., 2015), a qual se mostrou inferior se comparado com a incidência encontrada em nosso estudo, tornando extremamente preocupantes nossos achados, fazendo-se necessária a implantação e execução de medidas preventivas visando o controle dos níveis de resistência no HUT. Uma solução para reduzir essa elevada resistência poderia ser o controle do uso de antimicrobianos (monitoramento das prescrições de antibióticos e uso de antibiograma escalonado) (GASPAR, BUSATO e SEVERO, 2012).

Contudo, de forma ainda mais preocupante, em nosso estudo foi observado que 40% (42/106) foram resistentes a todas as drogas (incluindo tigeciclina), sendo sensível apenas à colistina, ou seja, estariam em uma classificação superior a XDR. Contudo, essas cepas não podem ser classificadas como PDR (cepas resistentes a todas as classes de antibacterianos comercialmente disponíveis) (MAGIORAKOS et al., 2012), por apresentarem sensibilidade à colistina. Portanto, os resultados obtidos no presente estudo são extremamente preocupantes, indicando a necessidade de medidas preventivas, visando o controle dos níveis de resistência no ambiente hospitalar.



Uma etapa significativa desta pesquisa consistiu em testes para a verificação da resistência aos antimicrobianos nas cepas de *Acinetobacter spp* isoladas de pacientes com IRAS internados no HUT. A Figura 03 apresenta o percentual de resistência aos antimicrobianos nas cepas de *Acinetobacter spp* isoladas. Elevados percentuais de resistência foram observados para os aminoglicosídeos gentamicina (98,0%) e amicacina (89,0%), para as cefalosporinas de terceira geração, ceftriaxona (94,3%) e ceftazidima (92,0%), para a cefalosporina de quarta geração cefepima (87,7%), bem como para as fluoroquinolonas, ciprofloxacina e levofloxacina (90,5%), para a piperacilina/tazobactam (85,8%) e para o sulfametoxazol/trimetoprim (71,6%). Estes antibióticos têm sido tradicionalmente utilizados no tratamento de IRAS causadas por *A. baumannii* (DENT et al., 2010), o que poderia favorecer a seleção de cepas resistentes a tais antibióticos no ambiente hospitalar.

Figura 03 – Padrão da resistência da infecção por *Acinetobacter spp* em pacientes com quadro de IRAS, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina – PI, apresentadas no período de julho de 2016 a julho de 2017. Teresina, 2018.



Fonte: Próprio

Um levantamento sobre as taxas de resistência de bacilos Gram-negativos isolados de centros médicos inscritos no Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY, de 2008 a 2010, mostrou altas taxas de resistência de *Acinetobacter* aos antimicrobianos ciprofloxacina

(87,2%), Piperaciclina/Tazobactan (86,3%), ceftazidima (81,7%), cefepime (76,6%), ampicacina (62,6%), gentamicina (53,3%) (GALES et al., 2012).

Os carbapenêmicos têm sido considerados agentes apropriados para o tratamento de infecções causadas por cepas de *A. baumannii* multidroga resistente (MDR) (DINC et al., 2014). No entanto, observa-se em várias partes do mundo um grande aumento na resistência aos carbapenêmicos impulsionado principalmente pela disseminação de clones internacionais (POGUE et al., 2013; KIM et al., 2014). Altos percentuais de resistência aos carbapenêmicos e a resistência cruzada a vários outros antimicrobianos por *A. baumannii* causadores de IRAS são motivos de preocupação na medicina clínica, especialmente em unidades de terapia intensiva, no mundo todo (UPADHYAY et al., 2018; SCHUERTZ et al., 2018; BIANCO et al., 2018).

As cepas isoladas neste estudo também exibiram um elevado percentual de resistência aos carbapenêmicos: meropenem (83.0%) e imipenem (82.0%). Nos Estados Unidos, as taxas de resistência de *A. baumannii* aos carbapenêmicos variam de 33 a 58% (RHOMBERG e JONES, 2009; REDDY et al., 2010; HIDRON et al., 2008). Em Goiânia-GO, foi demonstrado que 78% das cepas de *A. baumannii* isoladas de paciente em unidade de terapia intensiva foram resistentes ao meropenem e ao imipenem (CASTILHO et al., 2017). Outro estudo realizado em São Luís-MA, verificou que as 128 cepas de *A. baumannii* isoladas de pacientes hospitalizados eram resistentes ao imipenem e ao meropenem (RIBEIRO et al., 2016). Portanto, os resultados obtidos no presente estudo corroboram os dados anteriormente obtidos em outros estados brasileiros que mostram taxas elevadas de resistência aos carbapenêmicos.

Observou-se, neste estudo, que 57,5% das cepas de *A. baumannii* causadoras de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) no Hospital de Urgência de Teresina (HUT) foram resistentes à tigeciclina. Um estudo realizado na África do Sul relata uma incidência de 2% de resistência a este antibiótico entre isolados clínicos de *A. baumannii* (LOWINGS et al., 2015). Em Goiânia-GO, a incidência de cepas de *A. baumannii* envolvidas em IRAS foi de 7,1% (CASTILHO et al., 2017). Incidências inferiores a relatada anteriormente de resistência à tigeciclina foi vista em outros estudos onde apenas 2 das 26 cepas de *A. baumannii* MDR causadores de bacteremia e meningite em um Hospital Universitário de Curitiba-PR foram resistentes à tigeciclina. Outro relatou que a taxa de resistência à tigeciclina por *A. baumannii* de 16 hospitais de São Luís-MA foi de 0.8%, apesar das cepas apresentarem 100% de resistência aos carbapenêmicos (RIBEIRO et al., 2016). Dessa forma, a incidência de resistência à tigeciclina obtida nesse estudo pode ser considerada elevada e gera preocupação quanto ao uso indiscriminado dessa droga no ambiente hospitalar.

Diferentemente dos demais antibióticos, todas as cepas analisadas foram sensíveis à colistina (Figura 02). Atualmente, a colistina parece ser a droga mais confiável para o tratamento de *A. baumannii* MDR. Contudo, o uso da colistina tem sido associado a vários efeitos colaterais e não é adequado para o tratamento de todos os tipos de infecções (FALAGAS e RAFAILIDIS, 2009). Estudos recentes descreveram o surgimento de resistência à colistina em várias regiões do mundo (LESHO et al., 2013; LOPEZ-ROJAS et al., 2013; PELLETIER et al., 2013; O'HARA et al., 2013; CAI et al., 2012; Al SWEIH et al., 2011). De fato, um estudo de vigilância de hospitais dos EUA revelou que 5,3% de todas as cepas de *A. baumannii* isoladas eram resistentes à colistina (QUEENAN et al., 2012). Outro estudo mostrou que resistência à colistina, quase exclusivamente, ocorreu em pacientes que foram tratados para infecções causadas por *Acinetobacter* resistentes aos carbapenêmicos (ZUBAIR et al., 2015).

### **5.3 Presença de bombas de efluxo como mecanismo da resistência a antibacterianos em cepas de *Acinetobacter spp***

Das 106 cepas de *Acinetobacter spp* isoladas do hospital HUT, verificou-se que 85 cepas foram resistentes à ceftazidima, 81 à amicacina e 85 à ciprofloxacina, conforme mostrado na Tabela 03. As cepas resistentes a estas drogas foram submetidas a um teste fenotípico de modulação, onde a concentração inibitória mínima da droga na presença de um inibidor de bomba de efluxo (CCCP) foi comparada a ação da droga sem o inibidor CCCP. Conforme descrito na metodologia, o teste é considerado positivo, ou seja, há presença de bombas de efluxo, quando a CIM na presença do inibidor CCCP é menor duas vezes ou mais do que a CIM na ausência do inibidor. Observou-se que 26,4%, 16% e 8,5% das cepas resistentes, respectivamente, à ceftazidima, amicacina e ciprofloxacina apresentaram mecanismo de bomba de fluxo (Tabela 03). Esses percentuais foram estatisticamente significantes ( $p < 0,001$ ), confirmando a relevância do mecanismo de bomba de efluxo para a resistência das cepas de *Acinetobacter* aos antimicrobianos testados.

Tabela 03- Detecção do mecanismo de resistência por bomba de efluxo para ceftazidima, amicacina e ciprofloxacina em cepas de *Acinetobacter spp* em isolados clínicos de pacientes, com quadro de IRAS, atendidos no Hospital de Urgência de Teresina – PI. Teresina, 2018.

Antibióticos	Resistente		Efluxo		P
	N		N	%	
Ceftazidima	85		28	26,4	<0,001***
Amicacina	81		17	16,0	<0,001***
Ciprofloxacina	85		9	8,5	<0,001***

Legenda: N, frequência absoluta do universo pesquisado; n, frequência absoluta amostral; %, frequência relativa; p para o teste Qui-quadrado com IC 95% e significância em  $p < 0,05$ .

**Fonte:** Próprio

A redução da CIM na presença do inibidor nas cepas que apresentaram o mecanismo de bomba de efluxo variou de 2-64x. A redução apresentada por cada cepa individual pode ser verificada nos Anexos E, F, e G. A superexpressão de bombas de efluxo, pode diminuir a concentração de antibióticos no espaço periplasmático, dificultando a passagem da droga para esse local, esse mecanismo de resistência, propicia a redução da concentração da substância e a expulsão do antibacteriano de diferentes classes: quinolonas, tetraciclina, cloranfenicol, tigeciclina, além dos desinfetantes (PELEG, ADAMS e PATERSON, 2007). O aumento dessa superexpressão, a qual está evidenciada em bactérias MDR, ocorre por meio de mutações em genes localizados em regiões específicas, a exemplo da presença de sequências de inserção de um componente estrutural do sistema de efluxo em regiões como a anterior aos genes codificadores ou inseridas no gene repressor (PIDDOCK, 2006).

A substância utilizada como inibidor, o CCCP é uma nitrila inibidora de fosforilação oxidativa e assim como outros inibidores de bombas de efluxo são alcalóides de plantas. Pertence à classe de compostos orgânicos hidrazona e que age como um potente desacoplador de elétrons, bloqueando a formação do gradiente de prótons eletroquímicos gerado durante o transporte de elétrons pelos portadores da cadeia respiratória (PARK et al., 1997; GÁKOVÁ et al., 1999; MACLEAN et al., 2008). É uma molécula inibidora do sistema de efluxo bacteriano (LIN, LING e LI, 2009), tendo como mecanismo a interrupção do gradiente de prótons na membrana, diminuindo a energia disponível para o transporte e como consequência evitando que os antimicrobianos sejam expulsos pelas bombas (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008; MOREIRA et al., 2005). A adição dessa substância ao meio contendo antibiótico, leva ao acúmulo do mesmo e conseqüentemente, à redução do MIC em isolados que transportam bombas de efluxo ativas (PUMBWE, GLASS e WEXLER, 2006). Segundo Ni e colaboradores (2016), até o momento o CCCP não pode ser usado na clínica devido a sua citotoxicidade intrínseca o que necessita de estudos para uma possível redução

da sua toxicidade, por esse motivo não é liberada para uso clínico ou patenteada. Segundo o estudo realizado por Opazo e colaboradores (2009) a inibição farmacológica dessas bombas de efluxo pode ser uma importante estratégia para reverter a resistência às drogas usadas na terapia de combate ao *A. baumannii*, potencializando o tratamento dos pacientes.

No presente estudo, verificou-se que 26,4% (28/85) das cepas de *A. baumannii* resistentes à ceftazidima apresentaram um fenótipo compatível com resistência mediada por superexpressão de bomba de efluxo. Um percentual mais elevado de resistência à ceftazidima mediada por bomba de efluxo (72,7%) foi obtido em um estudo que analisou *Acinetobacter spp* de origem alimentar em Taiwan, realizado com teste de modulação fenotípica com o inibidor CCCP. Observou-se ainda, que quando a expressão de *adeD* e *adeIJK* foi avaliada em quatro isolados representativos constatou-se níveis de expressão aumentada significativa do gene *adeI*, sugerindo que a resistência à cefazidima em *Acinetobacter spp* pode ser atribuída aos níveis de expressão *adeI* (LIN et al., 2017). O envolvimento do sistema de efluxo AdeABC na resistência à ceftazidima também foi demonstrado em *A. baumannii* (CARDOSO et al., 2016).

Entre as cepas resistentes à amicacina isoladas no presente estudo, observou-se que 16,0% (17/81) delas apresentaram um fenótipo de resistência mediada por bomba de efluxo. Um trabalho realizado com onze cepas de *A. baumannii*, isolados de pacientes chineses com IRAS e resistentes à amicacina, mostrou que dez das onze (91%) cepas testadas apresentavam diminuição  $\geq 4$  vezes da concentração inibitória mínima na presença do inibidor CCCP, caracterizando a presença do mecanismo de bomba de efluxo nessas cepas. Ademais, as cepas testadas apresentavam expressão aumentada do gene *adeB*, mostrando que a resistência à amicacina pode ser mediada por superexpressão da bomba de efluxo AdeABC (ZHU, WANG e ZHANG, 2017). Outro trabalho mostrou que a expressão aumentada da bomba de efluxo codificada pelo gene *abeS* está fortemente relacionada com a resistência à amicacina nesta espécie (LIN et al., 2017).

Verificou-se que apenas 8,49% (9/85) das cepas resistentes à ciprofloxacina isoladas no presente estudo apresentaram mecanismo de resistência mediado por bomba de efluxo. Este percentual foi bem inferior ao percentual obtido em um estudo anterior, o qual observou a presença de bomba de efluxo em 66,2% das cepas de *A. baumannii* resistentes à ciprofloxacina (ARDEBILI et al, 2014). Outro estudo obteve um percentual de 86,0% de cepas de *A. baumannii* resistentes à morfloxacina por superexpressão de bomba de efluxo (JIA et al., 2015). Em *A. baumannii* o efluxo de fluoroquinolonas é mediado por membros da família RND representada pelas proteínas AdeABC e AdeIJK (LARI, ARDEBILI e

HASHEMI et al., 2018; JIA et al., 2015; CHAU et al., 2004; DAMIER-PIOLLE et al., 2008), podendo também ser conferida pela superexpressão do gene *adeB* CHIU et al., 2010.

Considerando a presença de cepas de *A. baumannii* extremamente resistentes aos antimicrobianos utilizados na prática clínica e a relevância do mecanismo de bomba de efluxo, faz-se necessário uma vigilância constante do perfil de resistência de *A. baumannii* no HUT, visando reduzir a incidência de infecções causadas por cepas de *A.baumannii* multirresistentes e elucidando os mecanismos de resistência envolvidos.

## 6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os isolados de pacientes internados no HUT que adquiriram infecções causadas por *Acinetobacter* foram obtidos, em sua maioria, do trato respiratório de indivíduos do sexo masculino, na faixa etária de 20-60 anos. Foram detectados elevados percentuais de resistência aos seguintes antimicrobianos: Gentamicina (98%), Ceftriaxona (94,3%), Ceftazidima (92%), Ciprofloxacina e Levofloxacina (90,5%), Amicacina (89%), Cefepime (87,7%), Piperacilina\tazobactam (85,8%), Imipenem (82%), Meropenem (83%), Sulfametoxazol/ trimetoprim (71,6%), Tigeciclina (57,5%) e Colistina (0%), sendo a maioria das cepas classificadas como MDR. Também verificou-se que a resistência mediada por bomba de efluxo foi mais evidente para os antibióticos ceftazidima e amicacina. Estes resultados reportam e servem como um alerta para que medidas preventivas sejam adotadas, visando reduzir o número de casos de infecções relacionadas à assistência à saúde no ambiente estudado.

## REFERÊNCIAS

- ABBO, A. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 1, p.22-29, 2005.
- ADEWOYIN , M.A; OKOH , A.I. The natural environment as a reservoir of pathogenic and non-pathogenic *Acinetobacter* species. **Reviews on Environmental Health**, v. 33, n.2, 2018.
- AGHAZADEH, M, et al. Dissemination of aminoglycoside-modifying enzymes and 16s RNA methylases among *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. **Microbial Drug Resistance**, v. 19, n. 4, p. 282-288, 2013.
- ALLEN, D.M; HARTMAN, B.J. *Acinetobacter* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases 7th ed Philadelphia: **Churchill Livingstone**, v. 1, n. 7, p. 2881-2885, 2010.
- AL-OBEID, S et al. Epidemiology of extensive drug resistant *Acinetobacter baumannii* (XDRAB) at Security Forces Hospital (SFH) in Kingdom of Saudi Arabia (KSA). **Journal of Chemotherapy**, v. 27, n. 3, p. 156-62, 2015.
- AL-SWEIH NA, AL-HUBAIL MA, ROTIMI VO. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. **Journal Chemotherapy**. v. 23, n. 1, p. 13-16, 2011.
- ÁLVAREZ-LERMA, F. et al. Infections caused by *Acinetobacter spp.* in critically ill ICU patients. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 23, n. 9, p. 533-539, 2005.
- ANDRADE, S.S. et al. Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacilli Isolated in Brazilian Hospitals Participating in the SENTRY Program (2003-2008). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 3-9, 2008.
- ANSTEY, N.M. et al. Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in at-risk groups. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 685-686, 2002.
- ARDEBILI, A. et al. Effect of Efflux Pump Inhibitor Carbonyl Cyanide 3-Chlorophenylhydrazone on the Minimum Inhibitory Concentration of Ciprofloxacin in *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. **Jundishapur Journal Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2014.
- BARKER, K.F. Antibiotic resistance: a current perspective. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 2, p. 109-124, 1999.
- BAY, D.C; ROMMENS, K. L; TURNER, R.J. Small multidrug resistance proteins: A multidrug transporter family that continues to grow. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1778, n. 9, p. 1814–1838, 2008.



BENGOECHEA, J.A; SKURNIK, M. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. **Molecular Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 67-80, 2000.

BERGOGNE-BÉRÉZIN, E; TOWNER, K.J. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 9, n. 2, p. 148-165, 1996.

BERNARDS, A.T. et al. Persistent *Acinetobacter baumannii*? Look inside your medical equip-ment. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 25, n.11, p. 1002-1004, 2004.

BERTONCHELI, C. M; HÖRNER, R. Uma revisão sobre metalo- $\beta$ -lactamases. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 44, n. 4, p. 577-599, 2008.

BIANCO, A. et al. Prospective surveillance of healthcare-associated infections and patterns of antimicrobial resistance of pathogens in an Italian intensive care unit. **Antimicrob Resist Infect Control**, v. 7, n. 49, p. 1-6, 2018.

BLONDEL-HILL, E; HENRY, D.A; SPEERT, D.P. *Pseudomonas*. In: PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, ML Landry, MA Pfaller, **Manual of clinical microbiology**, ASM press, Washington DC, p. 734-748, 2007.

BOUVET, P; GRIMONT, P.A. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. **Annales de l'Institut Pasteur Microbiologie**, v. 138, n. 5, p. 569-578, 1987.

BOYE, C.S; SOW, A.I. As infecções nosocomiais: agentes causadores principais. Relatado como agentes causais de infecções nosocomiais. **Dakar Medical**, v. 52, n. 2, p. 77-81, 2007.

BRASIL. **Boletim Informativo da Rede Nacional de Monitoramento de Resistência Microbiana em Serviços de Saúde - Rede RM**. Ano III-Edição nº 1 de 10 de julho de 2017. Análise de dados: julho de 2006 a junho de 2008. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/>>. Acesso em 15/12/2017.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde, ANVISA. **Pediatria: Prevenção e Controle de Infecção Hospitalar**. Editora ANVISA, Brasília-DF, 2006. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/manual\\_pediatria.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/manual_pediatria.pdf)>. Acesso em 19 Dez 2017.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde, ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Salvador: ANVISA, 2004. Disponível em: Acesso em 20 Dez 2017.

BRODSKY, I.E. et al. Mig-14 is a *Salmonella* gene that plays a role in bacterial resistance to antimicrobial peptides. **Journal of Bacteriology**, v. 184, n. 12, p.3203-3213, 2002.

CAI, Y, et al. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 7, p. 1607–1615, 2012.

CAMPOS, M.A. et al. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 12, p. 7107-7114, 2004.

CARDOSO JP et al. Diversity of mechanisms conferring resistance to  $\beta$ -lactams among OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* clones. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 85, n. 1, p. 90-7, 2016.

CARVALHO, K.R. et al. Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying *bla*OXA-23 collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 1, p. 25-28, 2009.

CASCIO, A. et al. Post-neurosurgical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis successfully treated with intrathecal colistin. A new case and a systematic review of the literature. **International Journal Infectious Diseases**, v. 14, n. 7, p. 572-579, 2010.

CASTILHO, S.R.A, et al. A. *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility Profiles. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1-13, 2017.

CHAU, S.L. et al. Novel resistance nodulation – cell division efflux system AdeDE in *Acinetobacter* genomic DNA group 3. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 48, n. 10, p. 4054-5, 2004.

CHEN, M.Z. et al. Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. **Chest**. v. 120, n. 4, p. 1072-1077, 2001.

CHEN, Y. Y; CHOU, Y.C; CHOU, P. Impact of nosocomial infection on cost of illness and length of stay in intensive care units. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 26, n. 3, p. 281-287, 2005.

CHIU, C.H et al. Mechanisms of resistance to ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam and imipenem in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. **International Journal Antimicrobial Agents**, v. 35, n. 4, p. 382-6, 2010.

CHOI, C.H. et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 1127-1138, 2005.

CHOPRA, I; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 65, n. 2, p. 232-60, 2001.

CIPRIANO, R. et al. Coexistence of epidemic colistin-only-sensitive clones of *Pseudomonas aeruginosa*, including the *bla* SPM clone, spread in hospitals in a Brazilian Amazon city. **Microbial Drug Resistance**, v. 13, n. 2, p. 142-146, 2007.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**, 23rd Informational Supplement M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

COUTO, R.C; PEDROSA, T. M.G; NOGUEIRA, J. M. **Infecção Hospitalar - Epidemiologia, Controle e tratamento**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2003.

COYNE, S. et al. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 54, n. 10, p. 4389–4393, 2010.

COYNE, S; COURVALIN, P; PÉRICHON, B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter spp*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 3, p. 947-53, 2011.

DAMIER-PIOLLE, L. et al. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 52, n. 2, p. 557-62, 2008.

DELIBERALI, B. et al. Prevalência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de pacientes internados em Porto Alegre-RS. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 529-34, 2011.

DENT, L.L, et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a descriptive study in a city hospital. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 196, p. 1-7, 2010.

DIJKSHOORN, L; NEMEC, A; SEIFERT, H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 12, p. 939-51, 2008.

DINC, G. et al. Efficacy of sulbactam and its combination with imipenem, colistin and tigecycline in an experimental model of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* sepsis. **Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 325-9, 2014.

DJERIBI, R. et al. Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. **American Journal Infection Control**, v. 40, n. 9, p. 854-9, 2012.

DONAY,J.L. et al. Evaluation of the automated phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1542-6, 2004.

DORTET, L. et al. Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two frequently misidentified opportunistic pathogens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 12, p. 4471-4478, 2006.

ELIOPOULOS, G.M; MARAGAKIS, L.L; PERL, T.M. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 8, p. 1254-1263, 2008.

EL-SHAZLY, S. et al. Ibrahim, Molecular epidemiology and characterization of multiple drug-resistant (MDR) clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 41, n. 42-49, p. 1-20, 2015.

ERRIDGE, C. et al. *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharides are potent stimulators of human monocyte activation via Toll-like receptor 4 signalling. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 165–71, 2007.

FALAGAS, M. E. et al. Community-acquired *Acinetobacter* infections. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 26, n. 1, p. 857-68, 2007.

FALAGAS, M. E. et al. Risk factors for isolation of strains susceptible only to polymyxin among patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50, n. 7, p. 2541-2543, 2006.

FALAGAS, M.E; BLIZIOTIS, I.A; SIEMPOS, I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. **Critical care**, v. 10, n. 2, p. 48-58, 2006.

FALAGAS, M.E; KOLETSI, P.K; BLIZIOTIS, I.A. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, n. 12, p. 1619-29, 2006.

FALAGAS, M.E; RAFAILIDIS, P.I. Nephrotoxicity of colistin: new insight into an old antibiotic. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48,n. 12, p. 1729-1731,p. 2009.

FERREIRA, J. B; RAPOPORT, P. B; SAKANO, E. Eficácia e segurança de Sultamicilina (Ampicilina/ Sulbactam) e Amoxicilina/ Clavulanato no tratamento das infecções de via aéreas superiores em adultos: um estudo multicêntrico, aberto e randomizado. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 1, p. 104-111, 2006.

FISHBAIN, J; PELEG, A.Y. Treatment of *Acinetobacter* Infections . **Clinical Infectious Diseases**, v.51, n. 1,p. 79-84, 2010.

FOURNIER, P.E; RICHET, H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 5, p. 692-9, 2006.

GADDY, J.A; TOMARAS, A.P; ACTIS, L.A. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and the interaction of this pathogen with eukaryotic cells. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 8, p. 3150-3160, 2009.

GÁKOVÁ, D. et al. Factors and processes involved in membrane potential build-up in yeast: diS-C3(3) assay. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 31,n. 5,p. 575-584, 1999.

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 Diseases**, v. 73, n. 4, p. 354-60, 2012.

GALES, A. C. et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 4, p. 267-271, 2004.

GALES, A.C. et al. Antimicrobial susceptibility patterns of unusual nonfermentative gram-negative bacilli isolated from Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 6, p. 571-7, 2005.

GALES, A.C. et al. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–1999). **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. Supplement\_2, p. S104-S113, 2001.

GALES, A.C. JONES, R.N; SADER, H.S. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin b against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). **Clinical Microbiology Infection**, v. 12, n. 4, p. 315-21, 2006.

GARCIA, L.M et al. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 3, n. 2, p. 1-5, 2013.

GARNACHO- MONTERO , J. et al. Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: a matched cohort study. **Critical Care Medicine**, v. 31, n. 10, p. 2478-2482, 2003.

GARNACHO-MONTERO, J. et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. **Intensive Care Medicine**, v. 31, n. 5, p. 649-55, 2005.

GASPAR, M.D.R; BUSATO, C.R; SEVER, E. Prevalência de infecções hospitalares em um hospital geral de alta complexidade no município de Ponta Grossa. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 34, n. 1, p. 23-29, 2012.

GIAMARELLOU, H; ANTONIADOU, A; KANELLAKOPOULOU, K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, n. 2, p.106-19, 2008.

GIARDELLO, R; GALES, A.C. Resistência às polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções terapêuticas. **Revista Epidemiology e Control de Infection**, v. 2, n. 2, p.66-69, 2012.

GILAD, Y, OSHLACK, A; RIFKIN, S.A. Natural selection on gene expression. **Trends in Genetics**. v. 22, n. 8, p. 456-61, 2006.

GUNDI, V.A. et al. Validation of partial *rpoB* gene sequence analysis for the identification of clinically important and emerging *Acinetobacter* species. **Microbiology**, v. 155, n. 7, p. 2333-2341, 2009.

GUNN, J.S. et al. PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance. **Molecular Microbiology**. v. 27, n. 6, p. 1171-82, 1998.

GUSMAO, M.E; DOURADO, I; FIACCONE, R.L. Nosocomial pneumonia in the intensive care unit of a Brazilian university hospital: an analysis of the time span from admission to disease onset. **American Journal of Infection Control**, v. 32, n. 4, p. 209-214, 2004.

HASEEB, A. et al. Antimicrobial resistance among pilgrims: a retrospective study from two hospitals in Makkah, Saudi Arabia. **International Journal of Infection Diseases**, v. 47, n. 6, p. 92–94, 2016.

HE, X. et al. Biofilm formation caused by clinical *Acinetobacter baumannii* isolates is associated with overexpression of the AdeFGH Efflux pump. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 59, n. 8, p. 4817-4825, 2015.

HEIR, E; SUNDHEIM, G; A.L. HOLCK, A.L. Identification and characterization of quaternary ammonium compound resistant staphylococci from the food industry, **International Journal of Food Microbiology**, v. 48,n. 3, p. 211–219, 1999.

HIDRON, A.I, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 11, p. 996–1011, 2008.

HOWARD, A. et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. **Virulence**, v. 3, n. 3, p. 243–250, 2012.

HUANG, H., et al. A multi-center study on the risk factors of infection caused by multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1,p. 1-6, 2018.

HUJER, K.M. et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 49, n. 7, p. 2941-8, 2005.

INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA (IDSA). White Paper: Recommendations on the Conduct of Superiority and Organism-Specific Clinical Trials of Antibacterial Agents for the Treatment of Infections Caused by Drug-Resistant Bacterial Pathogens. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 8, p. 1031-1046, 2012.

JACQUIER, H. et al. Revisited distribution of nonfermenting Gram-negative bacilli clinical isolates. **European Journal Clin Microbiol Infection Diseases**, v. 30, n. 12, p. 1579-86, 2011.

JIA,W. et al. Prevalence of Genes of OXA-23 Carbapenemase and AdeABC Efflux Pump Associated with Multidrug Resistance of *Acinetobacter baumannii* Isolates in the ICU of a Comprehensive Hospital of Northwestern China. **International Journal Environmental. Research and Public Health**, v. 12, n. 12, p. 10079-10092, 2015.

JOLY-GUILLOU, M. L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. **Clinical Microbiology and Infection**, Oxford, v. 11, n. 11, p. 868-873, 2005.

KANAFANI, Z.A; KANJ, S.S. Microbiology, pathogenesis and epidemiology of *Acinetobacter* infection. In: Basow DS, editor. **UpToDate**. Waltham, MA, 2010.

- KARAGEORGOPOULOS, D.E; FALAGAS, M.E. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 8, n. 12, p. 751-62, 2008.
- KARLOWSKY, J. A. et al. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 5, p. 1681-88, 2003.
- KATRAGKOU, A. et al. Acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a pediatric intensive care unit: A case-control study. **Intensive Care Medicine**, v. 32, n.9, p. 1384-91, 2006.
- KAU, H.C. et al. Corneal ulcer of the side port after phaco emulsification induced by *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Cataract Refractive Surgery**, v. 28, n.5, p. 895-7, 2002.
- KIM, T et al. Risk factors for hospital-acquired pneumonia caused by carbapenem-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: a multicenter study in Korea. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, n. 4, p. 457-61, 2014.
- KOELEMAN, J.G. et al. Antibiotic resistance is a major risk factor for epidemic behavior of *Acinetobacter baumannii*. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 22, n. 5, p. 284-288, 2001.
- KUMAR, A; SCHWEIZER, H.P. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 57, n. 10, p. 1486-1513, 2005.
- KUO, L.C. et al. Dissemination of a clone of unusual phenotype of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* at a university hospital in Taiwan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1759–1763, 2004.
- LACERDA, R.A. Produção científica nacional sobre infecção hospitalar e a contribuição da enfermagem: ontem, hoje e perspectivas. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 10, n. 1, p. 55-63, 2002.
- LARI, A.R; ARDEBILI, A; HASHEMI, A. AdeR-AdeS mutations & overexpression of the AdeABC efflux system in ciprofloxacin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. **Indian Journal Medical Research**, v. 147, n. 4, p. 413-421, 2018.
- LEE, C. M. et al. Treatment of pandrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 37, n. 3, p. 195–199, 2005.
- LEE, J.C. et al. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. **Research Microbiology**, v. 157, n. 4, p. 360-6, 2006.
- LESHO, E. et al. Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* containing a novel pmrCAB operon during colistin therapy of wound infections. **Journal of Infectious Diseases**. v. 208, n. 7, p. 1142–51, 2013.

- LEUNG, W.S. et al. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. **Chest**, v. 129, n. 1, p. 102-9, 2006.
- LEVY, S.B; MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses, **Nature Medicine**, v. 10, n. 12, p. 122-9, 2004.
- LI, P. et al. Rapid detection of *Acinetobacter baumannii* and molecular epidemiology of carbapenem-resistant A. baumannii in two comprehensive hospitals of Beijing, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 997, p.1-10, 2015.
- LI, X. Z; NIKAIDO, H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. **Drugs**, v. 64, n. 2, p. 159-204. 2004.
- LIM, Y.M; KYEONG ,K.S; KIM, J. Distinct Antimicrobial Resistance Patterns and Antimicrobial Resistance-Harboring Genes According to Genomic Species of *Acinetobacter* Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v .45, n. 3, p. 902-905, 2007.
- LIMA, A.L; OLIVEIRA, P.R, PAULA A.P. *Acinetobacter* infection. **New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 26, p. 2846-7, 2008.
- LIMA, M.E; ANDRADE, D; HAAS, V. J. Avaliação Prospectiva da Ocorrência de Infecção em Pacientes Críticos de Unidade de Terapia Intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 3, p. 342-347, 2007.
- LIN, L; LING, B.D; LI, X.Z. Distribution of the multidrug efflux pump genes, adeABC, adeDE and adeIJK, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex. **International Journal Antimicrobial Agents**, v. 33, n.1, p. 27-32, 2009.
- LIN, M.F,et al. Distribution of different efflux pump genes in clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and their correlation . with antimicrobial resistance. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 50, n. 2, p. 224-231, 2017.
- LING, T.K. et al. Comparison of antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Shanghai and Hong Kong. **Medical Principles and Practice**, v. 14, n. 5, p. 338-41, 2005.
- LOEHFELM, T. W; LUKE, N. R; CAMPAGNARI, A. A. Identification and characterization of an *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n.3, p.1036-1044, 2008.
- LOPES, B.S. et al. Effect of frameshift mutagen acriflavine on control of resistance genes in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60 ,n. 2, p. 211-5, 2011.
- LOPEZ-ROJAS, R, et al. Colistin resistance in a clinical *Acinetobacter baumannii* strain appearing after colistin treatment: effect on virulence and bacterial fitness. **Antimicrobial Agents Chemotherapy** , v. 57,n. 9, p. 4587–9, 2013.



LOWINGS, M. et al. High prevalence of oxacillinases in clinical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from the Tshwane region, South Africa – an update. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 521, 2015.

MACLEAN, M.J. et al. A Theoretical Study of the Cyclization Processes of Energized CCCSi and CCCP. **The Journal of Physical Chemistry**, v.112, n.49, p. 12714–12720, 2008.

MAGILL, M.D. et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. **The New England Journal of Medicine**, v.370, n.27, p.1198-1208, 2014.

MAGIORAKOS, A.P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268-81, 2012.

MAGNET, S; COURVALIN, P; LAMBERT, T. Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pump Involved in Aminoglycoside Resistance in *Acinetobacter baumannii* Strain BM4454. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 12, p. 3375-3380, 2001.

MANIKAL, V.M. et al. Endemic carbapenem- resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n.1, p.101-6, 2000.

MANN,C.M; MARKHAM, J.L A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils, **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, n. 4, p. 538-44, 1998.

MARCHAND, I. et al. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 48, n. 9, p. 3298-304, 2004.

MARQUÉ, S. et al. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter spp.* in Europe. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 9, p. 4885-8, 2005.

MARTÍNEZ-PELLÚS, A. et al. Incidence of colonization and infection by *Acinetobacter baumannii* in an endemic setting (ICU). Analysis of risk factors by means of a surveillance study. **Enfermedades Infecciosas y Microbiol Clínica**, v. 20, n. 5, p.194-9, 2002.

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

MARTINS, A. F; BARTH, A. L. *Acinetobacter* multirresistente – um desafio para a saúde pública. **Scientia Medica**, v. 23, n.1, p.56-62, 2013.

MARTINS, N. et al. Severe infection in a lung transplant recipient caused by donortransmitted carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Transplant Infectious Disease**, v. 14, n. 3, p. 316-20, 2012.

McCONNELL, M. J; ACTIS, L; PACHÓN, J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 37, n. 2, p. 130-155, 2013.

MENEZES, E. A. et al. Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de bacilos Gram-negativos não fermentadores isola96-101, dos no Laboratório de Patologia Clínica Dr. Edilson Gurgel, Santa Casa de Misericórdia Fortaleza-CE. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 36, n. 4, p. 209-12, 2004.

MENOZZI, M.G. et al. Twocenter collaborative evaluation of performance of the BD phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of gramnegative bacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, n. 11, p. 4085-94, 2006.

METAN, G. et al. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.60, n.1, p.197-199, 2007.

MICHALOPOULOS, A; FALAGAS, M.E. Treatment of *Acinetobacter* infections. **Expert Opinion Pharmacotherapy**, v.11, n. 5, p.779-88, 2010.

MOREIRA, M. A. et al. Detection of a chloramphenicol efflux system in *Escherichia coli* isolated from poultry carcass. **Veterinary Microbiology**, v.109, n.1-2, p.75-81, 2005.

MOURA , E.B. et al Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.60, n.4, p. 416-421, 2007.

MUNOZ-PRICE, L.S; ROBERT, A; WEINSTEIN, M.D. *Acinetobacter* Infection. **The New England Journal of Medicine**, v.358, n.12, p.1271-81, 2008.

NI, W. et al. Effects of Efflux Pump Inhibitors on Colistin Resistance in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n.5, p.3215-3218, 2016.

NOGUEIRA, P.S.F. et al. Perfil da Infecção Hospitalar em um Hospital Universitário. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.17, n.1, p.96-101, 2009.

O'HARA CM. Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic Gram-negative bacilli. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.1, p. 147-62, 2005.

OLIVEIRA. A.M; SILVA, C.P.R; LACERDA, R. A. Políticas de controle e prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde no Brasil: análise conceitual. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v.50, n.3, p. 505-511, 2016.

OLUT, A.I; ERKEK, E. Early prosthetic valve endocarditis due to *Acinetobacter baumannii*: a case report and brief review of the literature. **Scandinavian Journal Infectious Disease**, v.37, n.11-12, p.919-21, 2005.

OPAZO, A.C. et al. Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. **Revista Chilena de Infectología**, v.26, n.6, p.499-503, 2009.

- PADOVEZE, M.C; FORTALEZA, C.M.C.B. Infecções relacionadas à assistência à saúde: desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.48, n.6, p.995-1001, 2014.
- PALOMINO, J.C. et al. Resazurin Microtiter Assay Plate Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Susceptibilities to Second-Line Drugs: Rapid, Simple, and Inexpensive Method. **Antimicrob Agents Chemother**, v.47, n.11, p.3616-3619, 2003.
- PARK, J.W. et al. Effect of carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) on the dimerization of lipoprotein lipase. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, v.1344, n.2, p.132-138, 1997.
- PARK, S. et al. Alterations of gyrA, gyrB, and parC and Activity of Efflux Pump in Fluoroquinolone-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Osong Public Health Research Perspectives**, v.2, n.3, p.164-70, 2011.
- PAULSEN, I; BROWN, M; SKURRAY, R. Proton-dependent multidrug efflux systems. **Microbiological Reviews**, v.60, n.4, p. 575-608,1996.
- 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, 2008.
- PELEG, A. Y; ADAMS, J; PATERSON, D.L. Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.51, n.6, p. 2065-9, 2007.
- PELLETIER, M.R, et al. Unique structural modifications are present in the lipopolysaccharide from colistin-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 57, n. 10, p. 4831–40, 2013.
- PIDDOCK, L.J.Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n. 2, p.382–402, 2006.
- POGUE, J.M et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, n. 4, p. 383-93, 2013.
- POIREL,L; NORDMANN, P.Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. **Clinical Microbiology and Infection**. v.12, n.9, p. 826-36, 2006.
- POOLE, K. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.3, n. 2, p.77-98, 2002.
- PRADE, S.S. et al. Estudo brasileiro da magnitude das infecções hospitalares em hospitais terciários. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v.2, n.2, p. 11-24, 1995.
- PRINCE, L. S.M; WEINSTEIN, R. A. Current Concepts *Acinetobacter* Infection review article. **The New England Journal of Medicine** v.358, n. 12, p.1271-81, 2008.

PUMBWE, L; GLASS, D;WEXLER, H.M. Efflux pump overexpression in multiple-antibiotic-resistant mutants of *Bacteroides fragilis*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.50, n.9, p.3150-3, 2006.

QUEENAN, A.M.et al. Multidrug resistance among *Acinetobacter spp.* in the USA and activity profile of key agents: results from CAPITAL Surveillance 2010. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.73 n.3, p.267-70, 2012.

RADICE, M. et al. Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica: recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas, Asociación Argentina de Microbiología. **Revista Argentina De Microbiología**, v.43, n.2, p.136-53, 2011.

REDDY, T. et al. Trends in antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates from a metropolitan Detroit health system. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.54, n.5, p.2235-8, 2010.

RHOMBERG, P.R; JONES, R.N. Contemporary activity of meropenem and comparator broad-spectrum agents: Mystic program 2002-2004. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.57, n.2, p. 265-271, 2005.

RIBEIRO, P.C.S et al. Phenotypic and molecular detection of the blaKPC gene in clinical isolates from inpatients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v.16, n.737, p. 1-16, 2016.

RICAS, R.V; MARQUES, T.C;YAMAMOTO,A.C.A. perfil de resistência de acinetobacter baumannii a antimicrobianos em um hospital universitário de cuiabá-mt. **Infarma ciencias farmaceuticas**,v.25,n.4,p. 178-181,2013.

RICHET H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, n.10, p.934-940, 2012.

RICHMOND, G. E. et al. The *Acinetobacter baumannii* two-component system AdeRS regulates genes required for multidrug efflux, biofilm formation, and virulence in a strain-specific manner. **The American Society for Microbiology**, v.7, n. 2, p. 430-16, 2016.

RODLOFF, A.C; GOLDSTEIN, E.J; TORRES, A. Two decades of imipenem therapy. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.58, n.5, p. 916-29, 2006.

RODRIGUES, A.M.X; PAZ, I.F.R; FREITAS, R.M. Problemas relacionados com antimicrobianos em uti em um hospital público de Teresina. **Revista multiprofissional em saúde do Hospital São Marcos**,v.1,n.49, p.40-49 , 2013.

RODRÍGUEZ G, A. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* meningitis in neurosurgical patients with intraventricular catheters: assessment of different treatments. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.61, n.4,p. 908-13, 2008.

RODRÍGUEZ-BAÑO J. Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 25, n.10, p. 819-24, 2004.

RUIZ, J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.51 n. 5, p. 1109-17, 2003.

RUZIN, A; KEENEY, D; BRADFORD, P. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, n.5, p. 1001-4, 2007.

SADER, H. et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. **The Brazilian Journal Infectious Disease**, v. 5, n.4, p. 200-14, 2001.

SALAVERT, T.M. *Acinetobacter*: Multirresistência o supervivencia. **Revista Española de Quimioterapia**, v.12, n. 4, p.290-3, 1999.

SALOMÃO, R et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso - controle do foco infeccioso e tratamento antimicrobiano. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.23, n.2,p. 145-157, 2011.

SÁNCHEZ, P. Sistemas MDR y resistencia a los antimicrobianos. **Revista Espanola De Quimioterapia**,v.16,n.2,p.172-87, 2003.

SANTOS, L.F.S.et al. Estudo epidemiológico do trauma ortopédico em um serviço público de emergência. **Caderno de Saúde Coletiva**, v.24, n.4, p.397-403, 2016.

SANTOS, S.O; BREZOLIN, D; HORNER, R. *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos no Hospital Universitário de Santa Maria, Rio Grande do Sul. **Scientia Medica**, v.24, n. 2, p.150-155, 2014.

SCHRECKENBERGER, P.C. et al. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative Gram-negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. **Manual of clinical microbiology**, 9.ed. Washington, DC: ASM Press, p.770-802, 2007.

SCHUERTZ, K. F. et al. Bacteremia and meningitis caused by OXA-23 producing *Acinetobacter baumannii* - molecular characterization and susceptibility testing for alternative antibiotics. **Brazilian of Microbiology**, v. 49, n.2, p. 1-6, 2018.

SEBENY, P. J; RIDDLE, M. S; PETERSEN, K. *Acinetobacter baumannii* skin and soft-tissue infection associated with war trauma. **Clinical Infectious Diseases**, v.47, n. 4, p. 444-9, 2008.

SIEGEL, J.D. et al. Health Care Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. **American Journal of Infection Control**, v.35, n.10, p.65-164, 2007.

- SKIADA, A. et al. Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.37, n.3, p.187-193, 2011.
- SLAMA, T.G. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. **Critical care**, v.12, n.4, p. 1-7, 2008.
- SPELLBERG B, BONOMO RA. Combination Therapy for Extreme Drug Resistant (XDR) *Acinetobacter baumannii*: Ready for Prime-Time? **Critical Care Medicine**, v.43, n.9, p.1332–1334, 2015.
- SPELLBERG ,B; REX, J.H.The value of single-pathogen antibacterial agents. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.12, n.12, p. 1-6, 2013.
- SPENCE, R.P; TOWNER, K. J. Frequencies and mechanisms of resistance to moxifloxacin in nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.52, n.4, p.687-90, 2003.
- STARLING, C. E. F.; PINHEIRO, S. M. C.; COUTO, B. R. G. M. Vigilância epidemiológica das infecções hospitalares na prática diária: ensaios. **Belo Horizonte: Cutiara**, v. 488, 1993.
- SU, X. et al. AdeM, an H<sup>+</sup> -coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family transporters. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.49, n.10, p. 4362-4, 2005.
- TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Clinical Infections Diseases**, v. 119, n.6, p. 2-10, 2006.
- THAKER, M; SPANOGIANNOPOULOS, P; WRIGHT, G.D.The tetracycline resistome. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.67, n.3, p. 419-31, 2010.
- TOWNER, K.J. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. **Journal of Hospital Infection**, v.73, n.4, p. 355-63, 2009.
- TOWNER, K.J. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter spp.* Proceedings of a symposium held on 4-5 November 1996 at Eilat, Israel. **Journal of Medical Microbiology**, v.46, n.9, p.721-46, 1997.
- TURRINI, R.N. T. Infecção hospitalar e mortalidade em hospital pediátrico [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo;1996. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**,v.10,n.1,p.55-63, 2002.
- UPADHYAY S, et al. High-level aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* recovered from Intensive Care Unit patients in Northeastern India. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v.36,n.1,p. 43-48, 2018.
- VAN BAMBEKE, F; BALZI, E; TULKENS, P. Antibiotic efflux pumps. **Biochemical Pharmacology**, v.60, n.4, p.457-70, 2000.

- VAN DEN BROEK, P. J. et al. Epidemiology of multiple *Acinetobacter* outbreaks in The Netherlands during the period 1999-2001. **Clinical Microbiology and Infection**, v.12, n.9, p. 837-43, 2006.
- VANEECHOUTTE, M et al. Description of *Acinetobacter venetianus* ex Di Cello et al. 1997. **International Journal Systematic Evolutionary Microbiology**, v.59, n.6, p.1376-81, 2009.
- VASILIOU, V; VASILIOU, K; NEBERT, D.W. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. **Human Genomics**, v.3, n.3, p. 281 –290, 2009.
- VIEIRA, P.B; PICOLI, S.U. *Acinetobacter baumannii* Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.19, n.2, p.151-156, 2015.
- VILA, J; MARTÍ, S; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, n. 6, p.1210-5, 2007.
- WALSH ,T. R. et al. Metallo-b-lactamases: the quiet before the storm. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.2, p.306-325, 2005.
- WANG, S. H. et al. Healthcare-associated outbreak due to pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a surgical intensive care unit. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, n.2, p. 97–102, 2003.
- WEAVER, R; ACTIS, L. Identification of *Acinetobacter* Species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n.7 p. 1833, 1994.
- WHITMAN, William Barnaby et al. (Ed.). **Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria**. New York: Wiley, 2015.
- WIECZOREK, P., et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*—the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. **Folia Histochemica Cytobiologica**, v.46, n.3, p.257-67, 2008.
- WISPLINGHOFF H; PERBIX W; SEIFERT H. Risk factors for nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*: a case-control study of adult burn patients. **Clinical Infectious Disease**, v.28, n.1, p.59-66, 1999.
- WROBLEWSKA, M.M. et al. Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**. v. 53, n.1, p. 140-4, 2008.
- YOON, E. J. et al. Contribution of resistance-nodulation-cell division efflux systems to antibiotic resistance and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. **American Society for Microbiology**, v.6, n.2, p.309-15, 2015.
- ZAVASCKI, A. P. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v.8, n.1, p. 71-93, 2010.

ZHAO et al. An investigation of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a comprehensive hospital of East China. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.14, n. 7, p. 1-8, 2015.

ZHI, X; NIKAIDO, H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. **Drugs**, v.62, n.2, p. 159-204, 2004.

ZHU, W; WANG, H; ZANG, J.P. A comparison of adeB gene expression levels under conditions of induced resistance by different drugs *in vitro* in *Acinetobacter baumannii*. **Experimental and therapeutic medicine**, v.13, n.5, p. 2177-2182, 2017.

ZUBAIR A.et al. Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Beyond Carbapenem Resistance. **Clinical Infectious Diseases**, v.60, n.9, p.1295-303, 2015.



## **ANEXOS**

ANEXO A: Parecer consubstanciado do CEP da UFPI

ANEXO B: Parecer consubstanciado do CEP do HUT

ANEXO C: Pedido médico

ANEXO D: Parecer consubstanciado do CEP da Med Imagem

ANEXO E: Tabela com a identificação das cepas resistentes à amicacina pelo mecanismo de bomba de efluxo

ANEXO F: Tabela com a identificação das cepas resistentes à ceftazidima pelo mecanismo de bomba de efluxo

ANEXO G: Tabela com a identificação das cepas resistentes à ciprofloxacina pelo mecanismo de bomba de efluxo

**ANEXO A: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP DA UFPI**

UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** PERFIL DE RESISTÊNCIA E PRESENÇA DE BOMBA DE EFLUXO EM ISOLADOS CLINICOS DE *Acinetobacter* spp EM TERESINA - PI

**Pesquisador:** Viriato Campelo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 61695516.8.0000.5214

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Piauí - UFPI

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.837.202

**Apresentação do Projeto:**

O projeto apresenta uma proposta de pesquisa intitulada: " PERFIL DE RESISTÊNCIA E PRESENÇA DE BOMBA DE EFLUXO EM ISOLADOS CLINICOS DE *Acinetobacter* spp EM TERESINA - PI".

Justifica a relevância do estudo pela necessidade de conhecer o perfil epidemiológico das infecções causadas por *acinetobacter* spp. em Teresina-PI, tendo em vista que dessa bactéria como patógeno causador de Infecções relacionadas à Saúde-IRAS, relatados frequentemente pelas equipes de saúde, bem como, observar se realmente essas cepas de *acinetobacter* spp estão desenvolvendo resistência aos farmacos usados na rotina clínica. Busca-se ainda detectar a presença de bomba de efluxo como mecanismo de resistência dessa bactéria.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

-Investigar o perfil epidemiológico e de resistência de cepas de *Acinetobacter* spp. isoladas de infecções hospitalares no Hospital de Urgência de Teresina – PI e descrever a importância da presença de bombas de efluxo como mecanismo de resistência desse patógeno. Objetivo Secundário:

-Realizar um levantamento epidemiológico e clínico dos pacientes com infecções hospitalares causadas por *Acinetobacter* spp, isoladas de pacientes atendidos no hospital de Urgência de

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

**Bairro:** Ininga

**CEP:** 64.049-550

**UF:** PI

**Município:** TERESINA

**Telefone:** (86)3237-2332

**Fax:** (86)3237-2332

**E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br

*Womano*



UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.837.202

Teresina-HUT no período de novembro de 2016 à novembro de 2017.

- Descrever o perfil suscetibilidade aos antimicrobianos utilizados na rotina clínica laboratorial.
- Avaliar a importância da presença de bombas de efluxo como mecanismos de resistência aos antimicrobianos pelo *Acinetobacter* spp.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: "O presente trabalho apresenta riscos quanto a possibilidade de divulgação de dados pessoais dos pacientes porém essas informações serão retiradas e substituídas por códigos de identificação, os dados pessoais dos pacientes serão mantidos no anonimato e serão usados apenas informações contidas no prontuários que serão necessárias a pesquisa, só quem terá acesso a esses registros serão os pesquisadores e após o término do estudo essas informações serão excluídas do banco de dados dos pesquisadores. Outros riscos que também serão minimizados, são quanto ao transporte e manuseio das amostras de cepas bacterianas, que também serão minimizados pois o teste ocorrerá dentro das normas de transporte, manuseio e descarte de amostras biológicas (RESOLUÇÃO - RDC Nº 20, DE 10 DE ABRIL DE 2014) manual da ANVISA de Segurança e Controle de Qualidade no Laboratório de Microbiologia Clínica (módulo II ano 2004) e segundo o apêndice IV, nível 3 de inativação microbiana que consta na RDC ANVISA nº 306. À vista disso, será garantido o sigilo e a privacidade de todos os seus dados coletados durante a pesquisa, seguindo as normas da Resolução 466/12, em que os dados coletados serão utilizados somente para a confecção dos resultados estatísticos".

Benefícios: "Contribuir com uma melhor compreensão sobre os mecanismos de resistência a drogas /ou antimicrobianos pelas cepas de *Acinetobacter*, discriminando a importância ou não da expressão de bombas de efluxo, em cepas multirresistentes. Ampliando e difundindo o conhecimento existente na área com publicações em revistas especializadas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma investigação Epidemiológica, tendo como locus dois hospitais de referências de Teresina. A população será constituída de paciente dos referidos hospitais. Desse universo serão selecionados 100 prontuários de pacientes que constituirão a amostra. Define como critério de inclusão pacientes com manifestação clínica de infecção sugestiva de *Acinetobacter* spp, em que a realização do exame confirmatório derem resultado positivo para esse microrganismo. O estudo se divide em 3 etapas: 1º Investigação Epidemiológica, iremos extrair as informações como: sexo, faixa etária, escolaridade, informações sócio-demográficas, sítio e tipo da infecção, presença de diagnóstico prévio, ou possível tratamento ou reinfecção, mudança no tratamento ou de diagnóstico, dos prontuários dos pacientes ou do sistema on line de cadastro. 2º Análise dos

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Ininga CEP: 64.049-550  
UF: PI Município: TERESINA  
Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

*memorandum*





UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.837.202

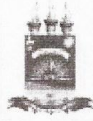
resultados laboratoriais dessas amostras, serão realizadas no laboratório, de microbiologia do hospital MEDIMAGEM, onde serão feitos os seguintes testes: cultura, bacterioscopia, provas bioquímicas, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos (de forma manual e confirmada na automação BD PHOENIX), serão usados os dados apenas das amostras que derem positivas para acinetobacter spp. 3º teste de mecanismo de resistência para bomba de efluxo, será realizado o teste de concentração de inibitória mínima-CIM para 4 drogas usadas na rotina clínica (AMICACINA, IMIPENEM, CIPROFLOXACINA, CEFTAZIDIMA) e em seguida faz-se esse teste na presença de uma substância inibidora o carboxilicidina m- clorofenilhidrazona- CCCP e observar se a CIM diminuiu, se realmente diminuiu detectamos que essas cepas de acinetobacter spp estão usando o mecanismo de bomba de efluxo para conferir a resistência aos antimicrobianos. Será empregada a técnica de estatística descritiva por meio da distribuição das frequências relativa e absoluta para os achados microbiológicos. Para o cálculo da concordância entre as provas realizadas utilizará o índice Kappa com auxílio do programa computacional WIN EPISCOPE 2.0 (THRUSFIELD, 2004). Os pacientes serão estratificados em dois grupos de acordo com a multirresistência. As variáveis contínuas serão expressas como média  $\pm$  desvio padrão e as variáveis categóricas foram expressas em porcentagem do número total de pacientes analisados. O teste do qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher serão usados para variáveis categóricas. Um valor de p inferior a 0,05 será considerado estatisticamente significativo. Todas as análises estatísticas serão realizadas com o programa Statistical Package for Social Sciences, versão 17 (SPSS Inc. - Chicago, IL, EUA). Para análise dos dados epidemiológicos, os dados serão submetidos a uma análise através de tabulação a partir de uma planilha do Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 14.0), de cujos dados numéricos foram calculados a média e o desvio padrão e apresentados em formas de quadros, gráficos tabelas, posteriormente discutidos para melhorar o entendimento do estudo.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

A proposta apresenta os componentes básicos exigidos por uma pesquisa acadêmica, referencial teórico que dará sustentação ao estudo, bem como os aspectos éticos do estudo, cronograma e orçamento afirmando ser financiada com recursos próprios. Os objetivos estão coerentes com a proposta de estudo. O pesquisador principal é professor da Universidade Federal do Piauí com experiência na temática evidenciada e se comprometem cumprir os termos da Resolução CNS nº 466/12 - e zelar pela privacidade e confidencialidade dos dados.

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
Bairro: Ininga CEP: 64.049-550  
UF: PI Município: TERESINA  
Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

*assomou*



UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.837.202

**Recomendações:**

Sem recomendações

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto apto para ser desenvolvido

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_765475.pdf	03/11/2016 22:45:06		Aceito
Outros	CARTA_DE_ENCAMINHAMENTO_AO_CEP.pdf	03/11/2016 22:44:03	Viriato Campelo	Aceito
Outros	TCUD.pdf	03/11/2016 22:43:31	Viriato Campelo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_DOS_PESQUISADORES_S.pdf	03/11/2016 22:42:46	Viriato Campelo	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	03/11/2016 22:41:02	Viriato Campelo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CCS_1.pdf	29/10/2016 11:05:27	Viriato Campelo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO_INSTITUCIONAL_HUT.pdf	26/10/2016 12:57:10	Viriato Campelo	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Josie_Haydee_Lima_Ferreira.pdf	07/09/2016 09:25:13	Viriato Campelo	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Lais_Rocha_Lima.pdf	07/09/2016 09:24:24	Viriato Campelo	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Viriato_Campelo.pdf	07/09/2016 09:21:55	Viriato Campelo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO_INSTITUCIONAL_MED_IMAGEM.pdf	07/09/2016 09:07:51	Viriato Campelo	Aceito
Outros	INSTRUMENTO_DE_COLETA_DE_DADOS.pdf	07/09/2016 09:01:04	Viriato Campelo	Aceito
Outros	TERMO_DE_CONFIDENCIALIDADE.pdf	07/09/2016 09:00:16	Viriato Campelo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	07/09/2016 08:56:54	Viriato Campelo	Aceito

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

**Bairro:** Ininga

**CEP:** 64.049-550

**UF:** PI

**Município:** TERESINA

**Telefone:** (86)3237-2332

**Fax:** (86)3237-2332

**E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br

*assinado*





UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.837.202

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

TERESINA, 25 de Novembro de 2016

Assinado por:

Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura  
(Coordenador)

Profª. Dra. Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura  
Coordenadora CEP-UFPI  
Portaria PROPESQ Nº 10/2016

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
**Bairro:** Ininga **CEP:** 64.049-550  
**UF:** PI **Município:** TERESINA  
**Telefone:** (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS  
UNIVERSITÁRIO MINISTRO



Continuação do Parecer: 1.837.202

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

TERESINA, 25 de Novembro de 2016

Assinado por:

Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura  
(Coordenador)

Profª. Dra. Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura  
Coordenadora CEP-UFPI  
Portaria PROPESQ Nº 10/2016

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
**Bairro:** Ininga **CEP:** 64.049-550  
**UF:** PI **Município:** TERESINA  
**Telefone:** (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br

**ANEXO B: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP DO HUT****FHT**  
Fundação Hospitalar  
de TeresinaPrefeitura de  
**Teresina****AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA**Teresina, 04 de outubro de 2016

A Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital de Urgência de Teresina – CEP/HUT autoriza os autores/responsáveis pelo projeto intitulado: **“PERFIL DE RESISTÊNCIA E PRESENÇA DE BOMBA DE EFLUXO EM ISOLADOS CLINICOS DE *Acinetobacter spp* EM TERESINA-PI”** com número de protocolo 50/16, a iniciar a pesquisa para coleta de dados neste hospital, pois o trabalho atende aos pré-requisitos estabelecidos no check list, sendo assim, aprovado.

Atenciosamente,


  
**Dr. Aldames Barros da Silva**  
Membro do CEP  
Hospital de Urgência Zenon Rocha

---

Comissão de Ética em Pesquisa  
Hospital de Urgência de Teresina – Dr. Zenon Rocha  
**CEP - HUT**



## ANEXO C: PEDIDO MÉDICO

	FORMULÁRIO PARA REQUISIÇÃO DE EXAMES MICROBIOLÓGICOS		FRQ - VIC
			VERSÃO
			PÁGINA 01/01
ORIGEM: HUT - HOSPITAL DE URGÊNCIA DE TERESINA			
NOME DO PACIENTE:			
IDADE: 57 A	1. SEXO: ( ) MASCULINO ( <input checked="" type="checkbox"/> ) FEMININO		
PROCEDENCIA: ( ) EXTERNO ( ) INTERNO	LOCAL:	LEITO:	
INFORMAÇÕES CLÍNICAS			
ATENÇÃO DOUTOR: ESSAS INFORMAÇÕES SÃO IMPORTANTES PARA O SEU PACIENTE			
INFECÇÃO SUSPEITA:			
USO DE ANTIMICROBIANOS: ( ) NÃO ( <input checked="" type="checkbox"/> ) SIM			
QUAIS: <i>Voce com o nariz</i>			
FATORES PREDISPOANTES: ( ) NÃO ( ) SIM			
COLETA			
MATERIAL:		LOCAL ANATÔMICO:	
DATA:	HORA:	RESPONSÁVEL:	
TRANSPORTE DA AMOSTRA			
( ) IMEDIATO, TEM. AMBIENTE ( ) EM MEIO DE TRANSPORTE ( ) OUTRO			
RECEBIMENTO NO LABORATÓRIO			
DATA:	HORA:	RESPONSÁVEL:	
EXAMES SOLICITADOS			
( ) CULTURA DE SECREÇÕES GENITAIS	( ) EXAME A FRESCO		
( ) CULTURA PARA GERMES COMUNS	( ) ANTIBIOGRAMA (TSA)		
( <input checked="" type="checkbox"/> ) HEMOCULTURA Nº AMOSTRAS <u>02</u>	( <input checked="" type="checkbox"/> ) UROCULTURA		
( ) PESQUISAS DE FUNGOS	( ) PESQUISA DIRETA P/ FUNGOS		
( ) BACTERIOSCOPIA	( ) PESQUISA DE BAAR		
( ) COPROCULTURA	( <input checked="" type="checkbox"/> ) OUTROS <i>Cultura</i>		
MÉDICO SOLICITANTE:			<i>Renato Trofresel</i>
DATA: 06/02/12	TELEFONE:		

MOD. 089-HUT

*Dr. Vladimir Chaud*  
Cardiologia  
CRM-PI 5517

Página(s) : 1/1  
Impressão : 10/02/2017 - 14:24:35

Cliente : Pré-visualização. Laudo sem valor legal.  
Solicitante: VLADIMIR LENINE ANTOINE CALASSIO Cod. O.S. : 017-64321-291  
Convênio : HOSPITAL DE URGENCIA DE TERESINA Data O.S. : 07/02/2017



RT: Dr. Erasmo de Oliveira  
CRF: 341 - PI  
Reg. CRF 223000 - PI

Vigilância Sanitária: LB.09.092.06  
CNES: 2551861

### CULTURA DE SECREÇÃO TRAQUEAL

Material: Secreção traqueal  
Método: Cultura Quantitativa

Resultado: *Acinetobacter baumannii*  
Contagem de colônias: >100.000 UFC/mL

### ANTIBIOGRAMA

Método: Concentração inibitória mínima (MIC) - Phoenix  
Grupo A - Antimicrobianos 1ª Escolha

Ceftazidima	Resistente	>16
Ciprofloxacina	Resistente	>2
Levofloxacina	Resistente	>4
Imipenem	Sensível	<=1
Meropenem	Sensível	<=1
Gentamicina	Resistente	>8

### Grupo B - Antimicrobianos sujeitos ao parecer da CCIH

Amicacina	Resistente	>32
Piperacilina/Tazobactam	Resistente	>64/4
Cefepime	Resistente	>16
Ceftriaxona	Resistente	>32
Colistina	Sensível	<=1
Trimetoprima/Sulfametoxazol	Resistente	>4/76
Tigeciclina	Resistente	4

Amostra biológica encaminhada ao laboratório

### Referências:

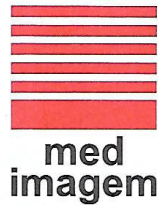
CLSI M100S, 26th ed. - 2016  
Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Boas Práticas em Microbiologia Clínica

Pré-visualização. Laudo sem valor legal.

ASSINATURA DIGITAL

9DA2BCA1BCA1BCA1BCA1BCA1BCA1AC97AC97AC97BCA1BCA19BAE9BAEBCA1

## ANEXO D: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP DA MED IMAGEM



### TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI

### TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL

Teresina, 11 de AGOSTO de 2016.

Ilustríssimo Dr. Francisco Erasmo de Oliveira

Diretor Técnico do Laboratório MED IMAGEM

Eu, Prof. VIRIATO CAMPELO, responsável principal pelo Projeto de Pesquisa, venho pelo presente, solicitar vossa autorização para realizar este Projeto de Pesquisa no Laboratório MED IMAGEM, para a realização do trabalho de pesquisa intitulado: **“PERFIL DE RESISTÊNCIA E PRESENÇA DE BOMBA DE EFLUXO EM ISOLADOS CLINICOS DE *Acinetobacter spp* EM TERESINA - PI**”. juntamente com a Prof(a) Dra JOSIE HAYDEE LIMA FERREIRA PARANAGUÁ e a aluna de mestrado: LAÍS ROCHA LIMA .

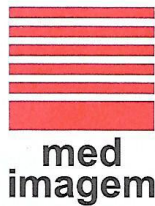
Este projeto de pesquisa atendendo ao disposto na Resolução n° 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, tem como objetivo analisar o perfil epidemiológico e de resistência de cepas de *Acinetobacter spp.* isoladas de amostras de pacientes com infecções hospitalares no Hospital de Urgência de Teresina – PI e descrever a importância da presença de bombas de efluxo como mecanismo de resistência desse patógeno; descrever o perfil suscetibilidade aos antimicrobianos utilizados na rotina clínica laboratorial em isolados clínicos no período de novembro de 2016 à novembro de 2017.

Trata-se de um estudo descritivo, transversal e quantitativo.



Rua Paissandu, 1862 - Teresina - Piauí  
 Fone: (86)3131.1234 Fax: (86)3223.4826  
 E-mail: falecom@medimagem.com.br  
 Visite nosso site: www.medimagem.com.br



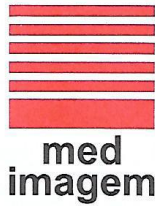


Os riscos deste projeto de pesquisa podem ser por meio da divulgação dos seus dados coletados nos prontuários dos pacientes ou por meio do acesso on line desses dados, bem como sua identificação. Para resultados laboratoriais das análises dessas amostras, serão retirados informações pessoais dos pacientes (anonimados) e obtido apenas informações dos resultados dos exames sendo elas: resultado da cultura, microscopia, teste de sensibilidade aos antimicrobianos, (convencional e automatizado). As cepas bacterianas provenientes dessas amostras serão transportadas para o Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPI de acordo com a norma de transporte de amostra biológicas (RESOLUÇÃO - RDC Nº 20, DE 10 DE ABRIL DE 2014) e serão submetidas ao teste de quanto ao seu mecanismo de resistência no laboratório de microbiologia da UFPI, em seguida serão descartadas de maneira adequada segundo o que é estabelecido no apêndice IV, nível 3 de inativação microbiana que consta na RDC ANVISA nº 306.

À vista disso, será garantido o sigilo e a privacidade de todos os seus dados coletados durante a pesquisa, seguindo as normas da Resolução 466/12, em que os dados coletados serão utilizados somente para a confecção dos resultados estatísticos. Dessa forma, os riscos existentes serão minimizados e evitados. Espera-se com esta pesquisa, conhecer o perfil epidemiológico das infecções causadas por *Acinetobacter spp* em Teresina-PI, contribuir com uma melhor compreensão sobre os mecanismos de resistência a drogas /ou antimicrobianos nas cepas de *Acinetobacter spp*, discriminando a importância ou não da expressão de bombas de efluxo, em cepas multirresistentes, ampliar e difundir o conhecimento existente na área com publicações em revistas especializadas, desenvolver e executar possíveis estratégias de saúde para a prevenção e tratamento da mesma, contribuindo para ampliação na área de pesquisa de estudos epidemiológicos, e de resistência bacteriana.



Rua Paissandu, 1862 - Teresina - Piauí  
 Fone: (86)3131.1234 Fax: (86)3223.4826  
 E-mail: falecom@medimagem.com.br  
 Visite nosso site: www.medimagem.com.br



Qualquer informação adicional poderá ser obtidas através do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Ministro Petrônio Portela, Avenida Ininga, bairro Ininga, horário de atendimento segunda a sexta das 08:00 às 12:00 e das 14:00 às 18:00 horas e com o pesquisador responsável Professor e Doutor Viriato Campelo pelo telefone celular (86) 94015254 e e-mail [viritato.campelo@bol.com.br](mailto:viritato.campelo@bol.com.br) e com os pesquisadores: JOSIE HAYDEE LIMA FERREIRA PARANAGUÁ pelo telefone celular(86) 98819-1971e e-mail [Josie\\_haydee@hotmail.com](mailto:Josie_haydee@hotmail.com) e LAÍS ROCHA LIMA pelo telefone celular (86) 99018435 e e-mail [laybiomed@outlook.com](mailto:laybiomed@outlook.com).

A qualquer momento vossa senhoria poderá solicitar esclarecimento sobre o desenvolvimento do projeto de pesquisa que está sendo realizado e sem qualquer tipo de cobrança, poderá retirar sua autorização. Os pesquisadores aptos a esclarecer estes pontos e, em caso de necessidade, dar indicações para solucionar ou contornar qualquer mal estar que possa surgir em decorrência da pesquisa.

Os dados obtidos nesta pesquisa serão utilizados na publicação de artigos científicos e que, assumimos a total responsabilidade de não publicar qualquer dado que comprometa o sigilo da participação dos integrantes de vossa instituição como nome, endereço e outras informações pessoais não serão em hipótese alguma publicados. Na eventualidade da participação nesta pesquisa, causar qualquer tipo de dano aos participantes, nós pesquisadores nos comprometemos em reparar este dano e/ou ainda prover meios para a reparação. A participação será voluntária, não fornecemos por ela qualquer tipo de pagamento.



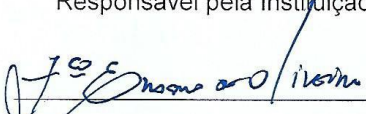
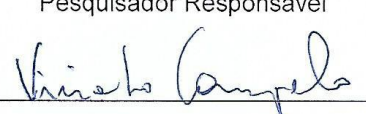
Rua Paissandu, 1862 - Teresina - Piauí  
Fone: (86)3131.1234 Fax: (86)3223.4826  
E-mail: [falecom@medimagem.com.br](mailto:falecom@medimagem.com.br)  
Visite nosso site: [www.medimagem.com.br](http://www.medimagem.com.br)



### Autorização Institucional

Eu, Francisco Erasmo de Oliveira (Diretor Técnico do Laboratório MED IMAGEM, declaro que fui informado dos objetivos da pesquisa acima e concordo em autorizar a execução da mesma nesta instituição. Caso necessário, a qualquer momento como instituição COPARTICIPANTE desta pesquisa poderemos revogar esta autorização, se comprovada atividades que causem algum prejuízo à esta instituição ou ainda a qualquer dado que comprometa o sigilo da participação dos integrantes destas instituição. Declaro também que não recebemos qualquer pagamento por esta autorização bem como os participantes também não receberão qualquer tipo de pagamento.

Conforme Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, a pesquisa só terá início nesta instituição após apresentação do **Parecer de Aprovação** pelo **Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal do Piauí – UFPI**.

Responsável pela Instituição	Pesquisador Responsável
 Francisco Erasmo de Oliveira Diretor Técnico Laboratório MED IMAGEM	 Viriato Campelo Pesquisador Responsável



Rua Paissandu, 1862 - Teresina - Piauí  
 Fone: (86)3131.1234 Fax: (86)3223.4826  
 E-mail: falecom@medimagem.com.br  
 Visite nosso site: www.medimagem.com.br

**ANEXO E: TABELA COM A IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS RESISTENTES À AMICACINA PELO MECANISMO DE BOMBA DE EFLUXO**

Amostra	Fenótipo	AMI	AMI + CCCP	E
HUT 1	R	322,5	128	2,5
HUT 5	R	161,3	80,6	2,0
HUT 7	R	512	128	4,0
HUT 17	R	203,1	80,6	2,5
HUT 22	R	50,8	10	5,08
HUT 23	R	512	256	2,0
HUT 35	R	512	128	4,0
HUT 37	R	512	203,1	2,5
HUT 41	R	322,5	128	2,5
HUT 46	R	512	256	2,0
HUT 50	R	256	80,6	3,1
HUT 52	R	256	64	4,0
HUT 77	R	256	128	2,0
HUT 78	R	256	64	4,0
HUT 80	R	161,3	80,6	2,0
HUT 89	R	64	32	2,0
HUT 103	R	256	32	8

Legenda: R: Resistente; AMI: Amicacina; CCCP: Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona.

Fonte: Próprio.

**ANEXO F: TABELA COM A IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS RESISTENTES À  
CEFTAZIDIMA PELO MECANISMO DE BOMBA DE EFLUXO**

Amostra	Fenótipo	CEF	CEF + CCCP	E
HUT 1	R	20,1	6,3	3,1
HUT 2	R	101,5	20,1	5
HUT 4	R	1625,5	645	2,5
HUT 6	R	812,7	406,3	2,0
HUT 9	R	1290	322,5	4
HUT 10	R	645	256	2,5
HUT 12	R	2048	812,7	2,5
HUT 13	R	256	128	2,0
HUT 14	R	812,7	406,3	2,0
HUT 15	R	2048	645	3,2
HUT 18	R	2048	1024	2,0
HUT 21	R	812,7	256	3,1
HUT 35	R	1625	812,7	2,0
HUT 41	R	1024	406,3	2,5
HUT 45	R	406	203	2,0
HUT 48	R	406,3	203	2,0
HUT 49	R	406	161	2,5
HUT 53	R	1290	645	2,0
HUT 62	R	64	16	4
HUT 80	R	2048	812,7	2,5
HUT 81	R	512	256	2
HUT 83	R	406,3	40,3	10
HUT 88	R	812,7	101,5	8
HUT 89	R	2048	645	3,1
HUT 91	R	2048	645	3,1
HUT 92	R	2048	812,7	2,5
HUT 98	R	1024	512	2,0
HUT 99	R	512	4	64

Legenda: R: Resistente; CEF: Cefotaxima; CCCP: Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona.

Fonte: Próprio.



**ANEXO G: TABELA COM A IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS RESISTENTES À CIPROFLOXACINA PELO MECANISMO DE BOMBA DE EFLUXO**

Amostra	Fenótipo	CIP	CIP + CCCP	E
HUT 3	R	512	256	2,0
HUT 8	R	203,1	80,6	2,5
HUT 12	R	203	101,5	2,0
HUT 13	R	64	25,3	2,5
HUT 54	R	2	0,79	2,5
HUT 89	R	256	50,8	5,03
HUT 92	R	128	50,7	2,5
HUT 105	R	203,1	80,6	2,5

Legenda: R: Resistente; CIP: Ciprofloxacina; CCCP: Carbonilcianeto m-cloro fenil-hidrazona.

Fonte: Próprio.

