



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CURSO DE MEDICINA

CALEBE ALVES MENDONÇA

**Investigação do perfil de resistência a antibióticos de *Acinetobacter* spp
isoladas em um hospital público na cidade de Mossoró/RN**

MOSSORÓ

2020

CALEBE ALVES MENDONÇA

**Investigação do perfil de resistência a antibióticos da *Acinetobacter* spp.
isolada em um hospital público na cidade de Mossoró**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Aline Lidianne Batista

MOSSORÓ

2020

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas

da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)



O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

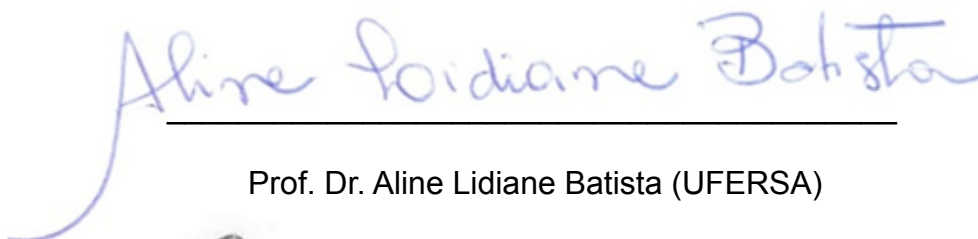
CALEBE ALVES MENDONÇA

**Investigação do perfil de resistência a antibióticos da *Acinetobacter* spp.
isolada em um hospital público na cidade de Mossoró**

Monografia apresentada à Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

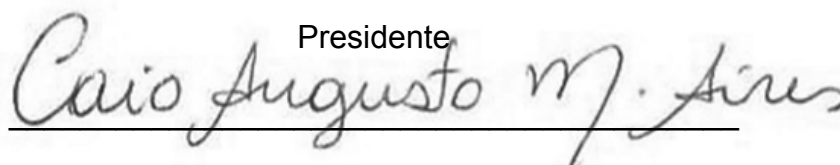
Defendida em: 07 / 02 / 2020.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Aline Lidiane Batista (UFERSA)

Presidente



Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires (UFERSA)

Membro Examinador



Prof. Dr. Francisco Vitor Aires Nunes (UFERSA)

Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me sustentado em todos os momentos da minha vida.

Agradeço a minha família composta por Wagner Rodrigues, Gorete Mendonça e Nayla Mendonça por sempre me apoiarem em meus sonhos e batalhas.

Agradeço a minha Orientadora Aline Lidiane Batista por me pastorear, guiar e corrigir durante todo o decorrer desse projeto.

Agradeço a Banca Examinadora composta por Caio Augusto Aires e Francisco Vitor Aires por sua disposição em julgar e orientar este projeto.

Agradeço ao meu amigo e colega Gabriel Rosário por ser o meu farol em muitos momentos nebulosos.

Agradeço a Universidade Federal Rural do Semi-Árido e ao Curso de Medicina por me oferecer as ferramentas e oportunidades para seguir em frente.

Agradeço ao técnico Caio Sérgio Santos por me orientar e esclarecer os meus caminhos.

Resumo

As bactérias possuem uma forte relação com a humanidade, coexistindo em equilíbrio e coevoluindo ao longo do tempo, todavia isso mudou com o surgimento da classe dos antibióticos. Desde então, as bactérias vêm promovendo adaptações e mutações possibilitadas pela pressão evolutiva ocasionadas por esses fármacos. O principal problema, de ordem prática, é a resistência a esses medicamentos. Tais microrganismos chegam a receber a denominação multirresistentes quando vários antibióticos já não possuem ação contra eles. Visto que o número de antimicrobianos que ainda possuem ação contra estas bactérias é cada vez mais limitado, esse fato vem se tornando um problema de saúde pública. No que se refere a espécies multirresistência o gênero *Acinetobacter* spp. vem se destacando, um vez que apresenta incidência nosocomial elevada. Essa resistência se dá por apresentar fatores de virulência como motilidade, bombas de efluxo, mecanismos de aquisição de ferro, a capacidade de gerar biofilmes, modificações das purinas, capacidade de produzir beta-lactamases e presença lipopolissacarídeos. Atualmente, os antibióticos aos quais as *Acinetobacter* spp. possuem mais sensibilidade são os carbapenêmicos, especialmente o imipenem e o meropenem, que são a principal escolha para o tratamento das infecções mais graves causadas pela *A. baumannii*. Entretanto há um crescente surgimento de cepas resistentes a esta classe de antibióticos. O estudo em questão busca analisar o perfil de resistência a determinados antibióticos em 03 possíveis cepas de *Acinetobacter* spp. provenientes do Hospital Regional Tarcísio Maia da cidade de Mossoró-RN. As suspeitas de serem *Acinetobacter* spp. cepas foram isoladas e cultivadas, classificadas por fim definiu-se o perfil de susceptibilidade das cepas a antibióticos. A classificação das cepas, foi realizado por meio da coloração de Gram e testes bioquímicos de identificação bacteriana, como o teste de citrato e da fenilalanina, por final o antibiograma possibilitou a identificação da sensibilidade ou não das 03 cepas para um conjunto de 15 antibióticos. Os testes para confirmação concluíram que dentre as 03 cepas, uma delas é uma Enterobactéria (AL6756) e que as outras duas (AB99B2 e AB742) de fato são do gênero *Acinetobacter* da espécie *baumannii*. Dentro do estudo a cepa AL6756 indicou sensibilidade a 06 apresentações de antibióticos, sendo que a cepa AB99B2 apresentou sensibilidade a 02 antibióticos e a cepa AB742 não apresentou sensibilidade a nenhum antimicrobiano, ou seja, esta última possui resistência a todos os 15 fármacos testados no experimento.

PALAVRAS CHAVE: *Acinetobacter baumannii*, Multirresistência bacteriana, Carbapenêmicos, infecção nosocomial.

ABSTRACT

Bacteria have a strong relationship with humanity, coexisting in balance and coevolving over time, however this has changed with the emergence of the class of antibiotics. Since then, bacteria have been promoting adaptations and mutations made possible by the evolutionary pressure caused by these drugs. The main practical problem is resistance to these drugs. Such microorganisms even receive the name multiple antibiotic resistance when several antibiotics no longer have action against them. Since the number of antimicrobials that still act against these bacteria is increasingly limited, this fact is becoming a public health problem. Regarding multidrug-resistant species, the genus *spp.* has stood out, since it has a high nosocomial incidence. This resistance occurs due to virulence factors such as motility, efflux pumps, iron acquisition mechanisms, the ability to generate biofilms, modifications of purines, the ability to produce beta-lactamases and the presence of lipopolysaccharides. Currently, the antibiotics to which *Acinetobacter* spp. are most sensitive are carbapenems, especially imipenem and meropenem, which have become the main choice for the treatment of the most serious infections caused by *A. baumannii*, however the emergence of strains resistant to this class of antibiotics. The study in question analyzes the profile of resistance to certain antibiotics in 03 possible strains of *Acinetobacter* spp. from the Tarcísio Maia Regional Hospital in the city of Mossoró-RN. Suspected to be *Acinetobacter* spp. strains were isolated and cultivated, then the susceptibility profile of the strains to antibiotics was defined. Strains were classified using Gram staining and biochemical tests for bacterial identification, such as the citrate and phenylalanine tests. Finally, the antibiogram made it possible to identify the sensitivity or not of the 03 strains for a set of 15 antibiotics. . The tests for confirmation concluded that among the 03 strains, one of them is an Enterobacterium (AL6756) and that the other two (AB99B2 and AB742) are in fact of the genus *Acinetobacter* of the *baumannii* species. Within the study, the AL6756 strain indicated sensitivity to 06 presentations of antibiotics, with the AB99B2 strain showing sensitivity to 02 antibiotics and the AB742 strain showing no sensitivity to any antimicrobial, that is, the latter has resistance to all 15 drugs tested in the experiment.

key words: *Acinetobacter baumannii*, Multiple Antibiotic Resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Fórmula molecular da Penicilina G (Amoxicilina).....	16
Figura 02 – Fórmula molecular da Cefalosporina.....	17
Figura 03 – Fórmula molecular do Carbapenem.....	19
Figura 04 – Fórmula molecular do monobactam.....	20
Figura 05 – Fórmula molecular da vancomicina.....	21
Figura 06 – Fórmula molecular da teicoplanina.....	21
Figura 07 – Fórmula molecular da oxazolidinona (linezolida).....	22
Figura 08 – Fórmula molecular da estreptomicina.....	23
Figura 09 – Fórmula molecular da gentamicina.....	24
Figura 10 – Fórmula molecular de amicacina.....	25
Figura 11 – Fórmula molecular do macrolídeo (espiramicina).....	26
Figura 12 – Fórmula molecular da lincosamina (clindamicina).....	27
Figura 13 – Fórmula molecular da nitroimidazólico (Metronidazol).....	28
Figura 14 – Fórmula molecular do cloranfenicol.....	28
Figura 15 – Fórmula molecular da estreptogramina (dalfonopristina).....	29
Figura 16 – Fórmula molecular da estreptogramina (dalfonopristina).....	30
Figura 17 – Fórmula molecular da tetraciclina.....	31
Figura 18 – Fórmula molecular da glicilciclina (tigeciclina).....	31
Figura 19 – Fórmula molecular da estreptogramina (dalfonopristina).....	32
Figura 20 – Fórmula molecular da daptomicina.....	33
Figura 21 – Distribuição do perfil mundial de resistência a carbapenêmicos da <i>Acinetobacter spp</i>	36
Figura 22 – Na lâmina, observou-se que as bactérias da cepa AB99B2.....	46
Figura 23 – Na lâmina, observou-se que as bactérias da cepa AL6756.....	46
Figura 24 – Na lâmina, observou-se que as bactérias da cepa AB742.....	47
Figura 25 – Teste SIM (S=Enxofre I=indol e M=motilidade).....	48
Figura 26 – Teste FEN (teste da fenilalanina).....	48
Figura 27 – Teste CIT (teste do Citrato).....	49

Figura 28 – Teste ESC (teste da esculina).....	49
Figura 29 – Teste 42 (teste BHI a 42° C).....	50
Figura 30 – Teste OF.....	50
Figura 31 – Teste G (Teste da gelatinase).....	50
Figura 32 – Teste NIT (teste do nitrato).....	51
Figura 33 – Antibiograma contendo uma placa com 15 discos de antibióticos e 01 colônia da cepa AL6756.....	52
Figura 34 – Antibiograma contendo uma placa com 15 discos de antibióticos e 01 colônia da cepa AB99B2.....	53
Figura 35 – Antibiograma contendo uma placa com 15 discos de antibióticos e 01 colônia da cepa AB742.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Testes bioquímicos para caracterização bacteriana.....	51
Tabela 02 – Aferições do diâmetro do halo do antibiograma para cada cepa.....	54
Tabela 03 – Resistência Intrínseca bacteriana.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Arginina
A.	<i>Acinetobacter</i>
AMC	Amoxicilina e ácido clavulânico
AMI	Amicacina
AMP	Ampicilina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATM	Aztreonam
BHI	Brain Heart Infusion
BrCAST	Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
C	Controle
CAZ	Cefoxitina
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFL	Cefalotina
CFO	Cefoxitina
CIM	Concentração inibitória mínima
CIP	Ciprofloxacina
CIT	Citrato
CLO	Cloranfenicol
CPM	Cefepime
CRO	Ceftriaxona
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês: Deoxyribonucleic acid)
E.	<i>Escherichia</i>
ESC	Esculina
FEN	Fenilalanina
G	Gelatinase
GEN	Gentamicina
H.	<i>Haemophilus</i>
INSPEAR	Rede Internacional para o Estudo e Prevenção da Resistência Antimicrobiana Emergente
ITU	Infecções do Trato Urinário

L	Lisina
LB	Luria Bertani
LPS	Lipopolissacarídeos
M.	Mycobacterium
NIT	Nitrato
O	Ornitina
OF	Oxidação ou Fermentação
OMS	Organização Mundial
ONU	Organização das Nações Unidas
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
P.	Pseudomonas
PBP	Proteínas de ligação da penicilina
PH	Potencial hidrogeniônico
PIT	Piperacilina e tazobactam
PLP	Proteínas ligadoras de penicilina
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RN	Estado do Rio Grande do Norte
RNA	Ácido ribonucleico (do inglês: Ribonucleic acid)
RNA ^t	Ácido ribonucléico transportador
RPM	Rotações por minuto
SBQ	Sociedade Brasileira de Química
SIM	Sulfato, indol e motilidade ágar
<i>SPP</i>	<i>Espécies</i> (do latim <i>species</i>)
SUT	Sulfametoxazol e trimetoprim
TET	Tetraciclina
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Antibióticos	14
1.1.1. Classes de Antibióticos.....	15
1.1.1.2. Beta-lactâmicos	15
1.1.1.2.1. Penicilinas.....	16
1.1.1.2.2. Cefalosporinas.....	16
1.1.1.2.2.1. Cefalosporinas de primeira geração.....	17
1.1.1.2.2.2. Cefalosporinas de segunda geração.....	17
1.1.1.2.2.3. Cefalosporinas de terceira geração.....	17
1.1.1.2.2.4. Cefalosporinas de quarta geração.....	18
1.1.1.2.3. Carbapenens.....	18
1.1.1.2.4. Monobactams.....	19
1.1.1.3. Quinolonas.....	20
1.1.1.4. Glicopeptídeos.....	20
1.1.1.4.1. Vancomicina.....	20
1.1.1.4.2. Teicoplanina	21
1.1.1.5. Oxazolidinonas	22
1.1.1.6. Aminoglicosídeos	22
1.1.1.6.1. Estreptomicina	23
1.1.1.6.2. Gentamicina.....	24
1.1.1.6.3. Amicacina	24
1.1.1.7. Macrolídeos.....	25
1.1.1.8. Lincosaminas.....	25
1.1.1.9. Nitroimidazólicos	26
1.1.1.10. Cloranfenicol.....	27
1.1.1.11. Estreptograminas.....	28
1.1.1.12. Sulfonamidas.....	28
1.1.1.13. Tetraciclinas.....	29

1.1.1.14. Glicilciclinas.....	30
1.1.1.15. Polimixinas.....	30
1.1.1.16. Daptomicina	31
1.2. A problemática da resistência bacteriana.....	32
1.3. <i>Acinetobacter ssp</i>.....	35
2. OBJETIVOS.....	38
2.1. Objetivo geral.....	38
2.2. Objetivos específicos.....	38
3. METODOLOGIA.....	39
3.1. Crescimento das cepas em meio LB.....	39
3.2. Coloração de Gram.....	39
3.3. Testes de identificação bacteriana.....	40
3.3.1. SIM (sulfato/indol/motilidade ágar)	40
3.3.2. Teste da fenilalanina - FEN.....	41
3.3.3. Teste do citrato - CIT.....	41
3.3.4. Teste da hidrólise da esculina - ESC.....	41
3.3.5. Teste BHI a 42 °C - 42	42
3.3.6. Meio base para oxidação e fermentação - OF.....	42
3.3.7. Teste da gelatinase - G.....	42
3.3.8. Teste da lisina - L.....	42
3.3.9. Teste da arginina - A.....	43
3.3.10. Teste da ornitina - O.....	43
3.3.11. Controle dos aminoácidos (L/A/O) - C.....	43
3.3.12. Teste do nitrato - NIT.....	43
3.4. Teste de resistência a Antibióticos com discos.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1. Coloração de Gram.....	45
4.2. Testes bioquímicos.....	47
4.3. Crescimento em meio de cultura com antibióticos (antibiograma).....	51
5. CONCLUSÕES.....	57
6. REFERÊNCIAS.....	59

1. INTRODUÇÃO

Ao longo da história evolutiva das espécies o homem e os microrganismos coevoluíram, desenvolvendo uma relação estreita, relações essas que podem ser tanto positivas quanto negativas. Esses microrganismos que podem ser vírus, bactérias e parasitas podem levar à diversas doenças infecciosas, contribuindo substancialmente na qualidade e expectativa de vida. Durante o século XIX, por exemplo, a expectativa de vida na Europa e América do Norte era de 50 anos em decorrência da grande quantidade de doenças infecciosas associadas a baixa resposta aos tratamentos da época (OMS, 2000). Além do mais, por meio das epidemias, esses seres são capazes de dizimar populações, fato recorrente na história humana (UJVARI, 2008).

A descoberta da penicilina em 1928 (FLEMING, 1929) foi um grande passo da medicina no que se refere ao tratamento das doenças infecciosas ocasionadas por bactérias. A descoberta desse fármaco inicia então, uma grande revolução médica, bem como na indústria farmacêutica desencadeando uma busca por moléculas capazes de tratar inúmeras doenças, o que culmina com a criação de diversas classe de antibióticos (QUEIROZ et al., 2012).

1.1. Antibióticos

Os antibióticos consiste de um grupo de fármacos que impedem o crescimento, sobrevivência e propiciam a morte de microrganismos patogênicos. Quanto à origem geralmente são metabólitos secundários microbianos (Kraus, 2008), podendo ser semi-sintética ou sintética, ou seja, quando o fármaco é feito a partir de uma estrutura conhecida de um produto microbiano. Desde a descoberta e avanço em pesquisas, os antibióticos melhoram a qualidade de vida humana por meio da redução da severidade das infecções e sofrimento do paciente, salvando vida de milhões de seres humanos e erradicando doenças pelo globo e aumentando a expectativa de vida humana em quase o dobro (SMITH, 2006).

Atualmente, estima-se que haja cerca 15.000 antibióticos conhecidos, dos quais 160 estão atualmente no mercado mundial (ARIYANCHIRA, 2010). No

mercado brasileiro há 129 antibióticos regulamentados que podem ser administrados como tratamento em diversas bacterioses (ANVISA, 2017).

1.1.1. Classes de Antibióticos

Inicialmente os antibióticos são divididos em bactericidas, quando causa a morte das bactérias ou bacteriostáticos, por inibirem o crescimento (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010)

Cada classe de antimicrobianos possui seu próprio (característico) mecanismo de ação. A Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA) classifica tais fármacos da seguinte maneira: Beta-lactâmicos, Quinolonas, Glicopeptídeos, Oxazolidinonas, Aminoglicosídeos, Macrolídeos, Lincosaminas, Nitroimidazólicos, Cloranfenicol, Estreptograminas, Sulfonamidas, Tetraciclina, Glicilciclina, Polimixinas, Daptomicina e Gemifloxacina. Adiante descreveremos brevemente cada uma dessas classes (ANVISA, 2007).

1.1.1.1 Beta-lactâmicos

Caracteriza-se por possuir um anel beta-lactâmico no seu núcleo estrutural, conferindo atividade bactericida (Figura 01). Os mecanismos de ação aqui é o mesmo para todas as 04 subclasses presentes, sendo por meio da interferência da síntese do peptidoglicano, sendo este responsável em manter a parede bacteriana. Para que tal ação ocorra, alguns fatores devem ser presentes como a penetração do fármaco pelos canais de porina presentes na membrana celular externa bacteriana, ausência da enzima beta-lactamase (devido sua ação de inibição do anel betalactâmico) e por fim o fármaco deve ligar-se às proteínas ligadoras de penicilina (PLP), sendo uma das responsáveis pela síntese da parede bacteriana.

Existem quatro mecanismos na bactéria que provocam a resistência aos beta-lactâmicos, sendo a produção de beta-lactamase, bombas de efluxo, modificações estruturais das PLP e diminuição da permeabilidade bacteriana ao antibiótico por meio de mutações e modificações nos canais de porina (OMS, 2019).

1.1.1.1.1. Penicilinas

Desde sua descoberta no final da década de 20 a penicilina ainda é amplamente usada na medicina. Essa classe beta-lactâmica possui ainda sua própria classificação, sendo: penicilinas naturais ou benzilpenicilinas, aminopenicilinas, penicilinas resistentes às penicilinases e penicilinas de amplo espectro (ANVISA, 2007).

As principais indicações clínicas para o uso das penicilinas são principalmente para bactérias Gram-negativas em casos de pneumonias, otites associadas a sinusites, faringites associadas a epiglottites, infecções cutâneas, meningites bacterianas, infecções do aparelho reprodutor, endocardites bacterianas e em uso profilático, por exemplo, para febre reumática e endocardite. Seus efeitos colaterais consistem em: hipersensibilidade, Manifestações cutâneas, neurotoxicidade, toxicidade renal e hematológica. Sendo nefro ou ototóxico nos pacientes alérgicos (OMS, 2019).

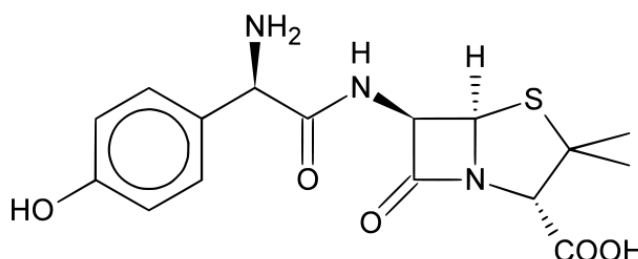


Figura 01: Fórmula molecular da Penicilina G (Amoxicilina) (figura extraída de SBQ , 2009);

1.1.1.1.2. Cefalosporinas

É uma classe beta-lactâmica (Figura 02) de amplo espectro. Ela é nefro ou ototóxico nos pacientes alérgicos. Sendo subdividida em cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta geração. Vistas mais detalhadamente a seguir (OMS, 2019).

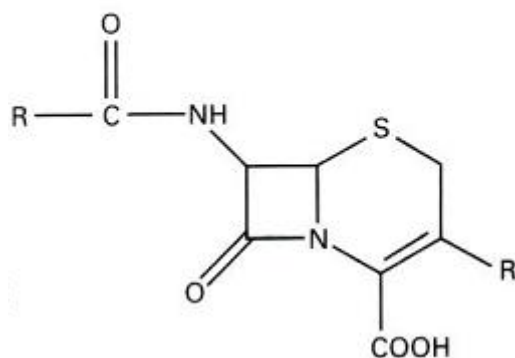


Figura 02: Fórmula molecular da Cefalosporina (figura modificada da AVILA-CAMPOS, 2010);

1.1.1.1.2.1 Cefalosporinas de primeira geração

São usadas principalmente contra cocos Gram-positivos e têm atividade moderada contra *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* de origem comunitária (não é nosocomial). Não possui ação contra *Haemophilus influenzae*.

Está indicada em casos de infecções de pele, partes moles por *Staphylococcus aureus* sensíveis à oxacilina e estreptococos que originaram faringites, além de Infecções do Trato Urinário (ITU), especialmente durante a gravidez, visto que essa subclasse pode ser administrada durante a gestação. É também utilizada como profilaxia em cirurgias devido seu baixo custo, baixa toxicidade e meia vida prolongada (OMS, 2019).

1.1.1.2.2.2 Cefalosporinas de segunda geração

Em relação às cefalosporinas de primeira geração, essa subclasse possui maior ação contra *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria meningitidis* e *Neisseria gonorrhoeae*.

No Brasil esta subclasse está disponível nos fármacos: cefoxitina (cefamicina), cefuroxima, cefuroxima axetil e cefaclor (ANVISA, 2007).

1.1.1.2.2.3 Cefalosporinas de terceira geração

Possuem uma ótima ação contra bacilos Gram-negativos facultativos e estreptococos no geral.

No Brasil esta subclasse está disponível nos fármacos: ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima (ANVISA, 2007).

1.1.1.2.4 Cefalosporinas de quarta geração

Assim como as cefalosporinas de terceira geração, elas também possuem ação sobre bactérias Gram-negativas, além de sensibilizar cocos Gram-positivos e possuir ação anti pseudomonas. Possui ação em casos de meningite, devido sua capacidade de passar pelas meninges mesmo inflamadas.

No Brasil esta subclasse está disponível por meio do fármaco cefepima (ANVISA, 2007).

1.1.1.2.3. Carbapenêmicos

Atualmente, com o advento de novos antibióticos surge a classe dos Carbapenens (carbapenêmicos) sendo um β -lactâmico é um antimicrobiano de amplo espectro, muito prescrito, contra Gram-positivos aeróbios e anaeróbios e bactérias Gram-negativas, exceto estafilococos resistentes à oxacilina, a maioria dos *Enterococcus faecium* e alguns bacilos Gram-negativos como a *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, algumas *Pseudomonas*. Os fármacos mais comuns dessa classe são o imipenem, ertapenem, meropenem, doripenem (MURRAY, 2014).

Historicamente os carbapenêmicos surgiram como último recurso para o tratamento de infecções graves por bactérias Gram-negativas (NORDMANN, 2001), todavia, como antes mencionado, a resistência a esta classe vem aumentando e um fator marcante é a produção de enzimas que degradam os carbapenêmicos, ou seja, as carbapenemases. Estas enzimas degradam não apenas carbapenêmicos mas também degradam outros β -lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos. Os genes codificadores das carbapenemases podem estar presentes no plasmídeo, elemento genético móvel, logo, facilitando a transferência de uma cepa a outra (QUEENAN, 2007).

O mecanismo de ação dos carbapenêmicos consiste em inibir a síntese da parede celular bacteriana através de ligações covalentes com as proteínas de

ligação da penicilina (PBP) presentes na membrana citoplasmática das bactérias (MURRAY, 2014).

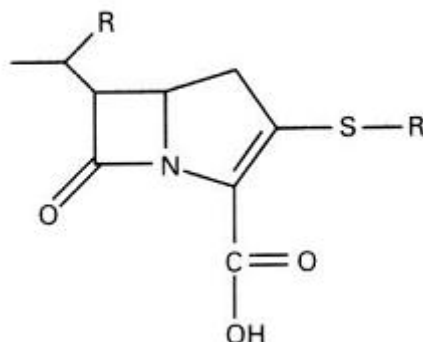


Figura. 03: Fórmula molecular do Carbapenem (figura modificada de AVILA-CAMPOS, 2010);

1.1.1.2.3.4. Monobactams

Essa subclasse de fármaco possui como característica um anel monocíclico em sua estrutura. Não são absorvidos por via oral, sendo administrados por via intramuscular ou endovenosa com boa distribuição e penetração tecidual e hídrica, sendo ativo em meios ácidos. Esses antibióticos possuem eficiência contra enterobacteriaceae, sendo indicados em casos de infecções do trato urinário, pélvicas, intra-abdominais e respiratórias, além de abscessos no geral. São uma alternativa aos aminoglicosídeos, por exemplo, pois não são nefro ou ototóxico.

Possui contra indicação como monoterapia empírica de infecções por cocos Gram-positivos e/ou anaeróbios além de monoterapia de infecções graves por *Pseudomonas aeruginosa*. No Brasil estão disponíveis por meio do fármaco aztreonam (ANVISA, 2007).

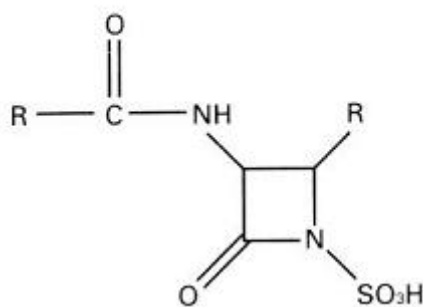


Figura 04: Fórmula molecular do monobactam (figura modificada de AVILA-CAMPOS, 2010);

1.1.1.3. Quinolonas

A partir dos anos 60 foi introduzido na prática clínica o fármaco ácido nalidíxico, surgindo assim a classe das quinolonas, todavia seu destaque aumentou no decorrer dos anos 80, onde átomos de flúor foram acrescentados na posição 06 do anel quinolônico, surgindo assim as fluorquinolonas, representado pelo fármaco ciprofloxacina, o que permitiu um aumento do espectro contra bacilos Gram-negativos além de boa atividade com coco-Gram negativos porém pouca eficácia contra *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. e anaeróbios.

O mecanismo de ação dessa classe se baseia na inibição da atividade da DNA girase ou topoisomerase II presentes no interior bacteriano, o que leva a morte destes seres vivos (ANVISA, 2007).

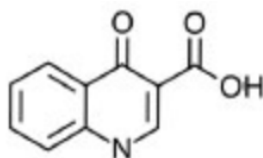


Figura. 04: Fórmula molecular da quinolona (figura modificada da UNICAMP, 2013);

1.1.1.4. Glicopeptídeos

Os fármacos dessa classe estão representados principalmente pela vancomicina e teicoplanina (ANVISA, 2007).

1.1.1.4.1 Vancomicina

Esta classe de antibiótico foi introduzida a partir de 1958, todavia nos anos 80 passou a ser utilizada em grande escala, devido o surgimento de bactérias, como o *estafilococos* spp., resistentes à oxacilina e redução da toxicidade por purificação das preparações disponíveis. Ela é usada como alternativa aos beta-lactâmicos em pacientes alérgicos. Sua principal via de administração é por via endovenosa, possuindo uma meia vida de 06 a 08 horas (anúricos 07 a 12 dias) (ANVISA, 2007).

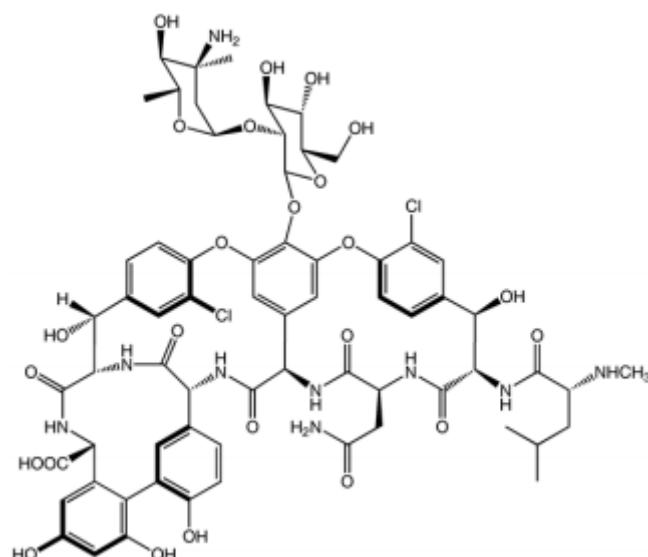


Figura 05: Fórmula molecular da vancomicina (*figura modificada da UNICAMP, 2013*);

1.1.1.4.2. Teicoplanina

Comparada a vancomicina, a teicoplanina possui maior lipossolubilidade permitindo a esta uma melhor penetração tecidual e meia-vida maior, todavia tem pouca penetração na barreira líquórica. Este antibiótico pode ser administrado por meio endovenoso ou por meio intramuscular em bolus devido sua meia-vida exacerbada, sendo administrada uma vez ao dia, sendo sua dose de ataque direcionada a casos de infecções graves. A título de curiosidade a teicoplanina possui um custo mais elevado comparado a vancomicina (ANVISA, 2007).

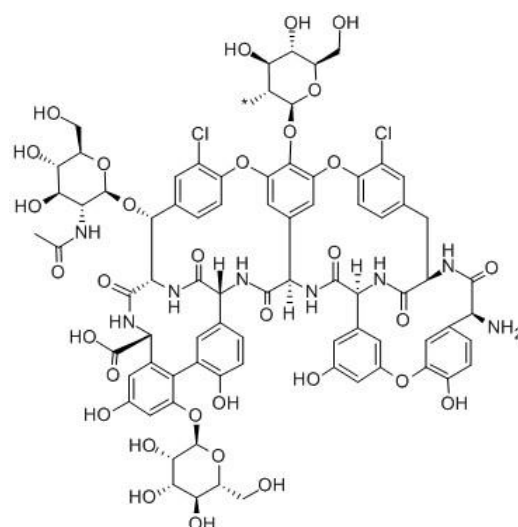


Figura 06: Fórmula molecular da teicoplanina (Hitone Technology, 2015);

1.1.1.5. Oxazolidinonas

São antimicrobianos sintéticos, possuindo uma excelente atividade contra Gram-positivos, todavia, não apresentam atividade contra bactérias Gram-negativas. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a síntese protéica, porém, em etapas diferentes de outros antimicrobianos o que permite administrá-la em conjunto de outros antibióticos (macrolídeos, estreptograminas e aminoglicosídeos) pois não ocorre resistência cruzada. Essa classe de fármaco pode ser administrada via intravenosa ou por meio oral. Possui uma meia-vida de 05 horas (ANVISA, 2007).

Possui atividade contra estafilococos resistentes à oxacilina e enterococos resistentes à vancomicina; porém, sua atividade é bacteriostática. O tratamento tem custo alto. Essa classe está disponível no mercado por meio do fármaco linezolida, que possui atividade in vitro contra *Clostridium* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. e *Mycobacterium tuberculosis*. A oxazolidinona deve ser utilizada em infecções graves por patógenos Gram-positivos multirresistentes, pode ser administrada em tratamentos de pneumonias hospitalares. Todavia seu custo é alto (ANVISA, 2007).

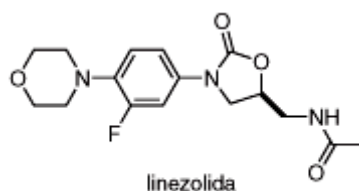


Figura 07: Fórmula molecular da oxazolidinona (linezolida) (figura modificada de GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010);

1.1.1.6. Aminoglicosídeos

Essa classe surgiu em 1944 pela obtenção de um extrato do fungo *Streptomyces griseus* originando o primeiro aminoglicosídeo chamado estreptomicina. O mecanismo de ação dessa classe de antimicrobianos consiste em que o fármaco liga-se à fração 30S dos ribossomos inibindo assim a síntese protéica e/ou produzindo proteínas defeituosas. Para que o mecanismo de ação

aconteça é necessário que ocorra um transporte do aminoglicosídeo por meio da membrana bacteriana, dependente da energia oxidativa (ANVISA, 2007).

As bactérias possuem três mecanismos de resistência atuantes contra os aminoglicosídeos, sendo eles a alteração dos sítios de ligação no ribossomo, alteração na permeabilidade e modificação enzimática da droga. O desenvolvimento de resistência durante o tratamento é raro (ANVISA, 2007).

Possui atividade contra bacilos e cocos Gram-negativos aeróbios, entre eles, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Haemophilus* spp., *Acinetobacter* spp. e cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Apresentam também atividade contra bactérias Gram-positivas, entre elas: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* e *Nocardia asteroides*, além de serem ativas contra micobactérias (ANVISA, 2007).

Os principais representantes dessa classe de antimicrobianos são a estreptomicina, gentamicina e ampicacina (ANVISA, 2007).

1.1.1.6.1. Estreptomicina

Essa classe possui boa atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* e *M. bovis*, pode ser usada de forma alternativa no tratamento de tuberculose, quando há resistência de outros fármacos já administrados, como a isoniazida e/ou rifampicina, ou quando há a necessidade de uma terapia parenteral (ANVISA, 2007).

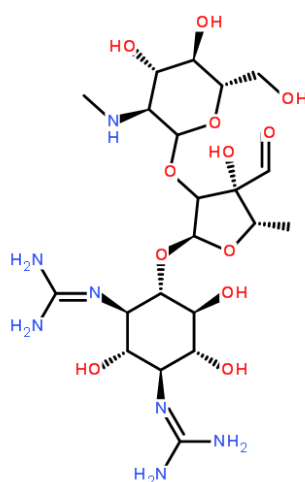


Figura 08: Fórmula molecular da estreptomicina (LABEYOND CHEMICALS, 2011);

1.1.1.6.2. Gentamicina

O fármaco em questão é utilizado contra bactérias gram-negativas, atuando bem contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens*. Pode ser combinada com beta-lactâmicos em infecções mais graves por enterococos (ANVISA, 2007).

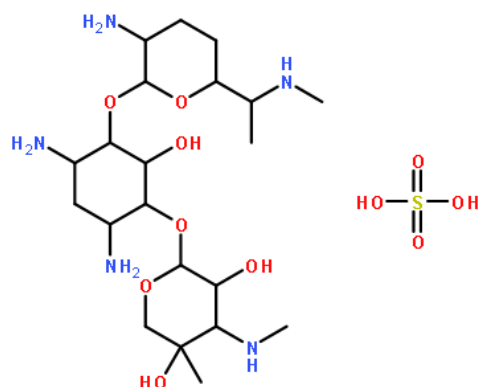


Figura 09: Fórmula molecular da gentamicina (LABEYOND CHEMICALS, 2011);

1.1.1.6.3. Amicacina

Esse fármaco comparado aos outros de sua classe é o que possui o maior espectro de ação sendo usado em infecções por bacilos Gram-negativos resistentes a gentamicina, micobactérias, na terapia empírica de infecções relacionadas à assistência à saúde e casos específicos de infecções por *M. tuberculosis* ou no tratamento de infecções pelo *M. fortuitum* e *M. avium* (ANVISA, 2007).

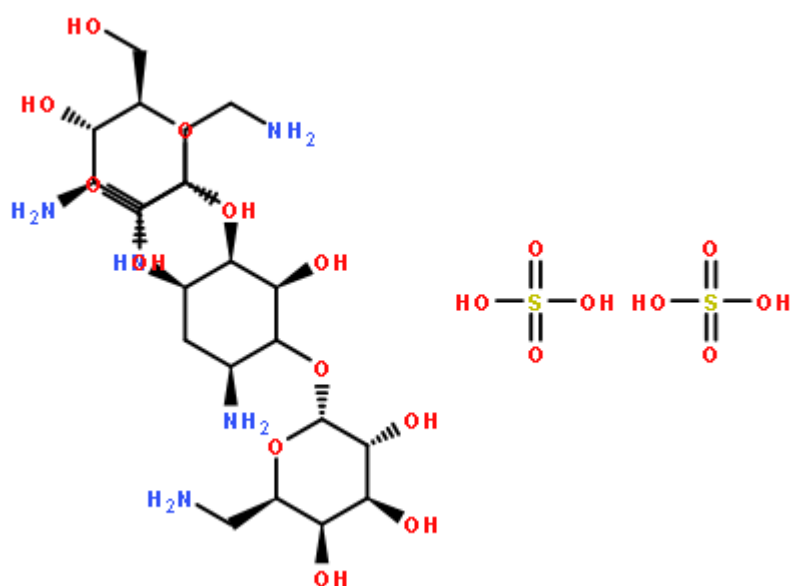


Figura 10: Fórmula molecular de amicacina (LABEYOND CHEMICALS, 2011);

aumentada e melhor absorção oral. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a síntese protéica nos ribossomos, ligando-se à subunidade 50S, relacionadas a produção proteica, alterando assim a superfície bacteriana, facilitando a opsonização, fagocitose e destruição intracelular dos microrganismos (ANVISA, 2007).

Bactérias podem desenvolver resistência a essa classe quando há alteração no sítio do receptor do ribossoma e mudanças mediadas por plasmídeos, no RNA 23S da subunidade 50S do ribossoma (ANVISA, 2007).

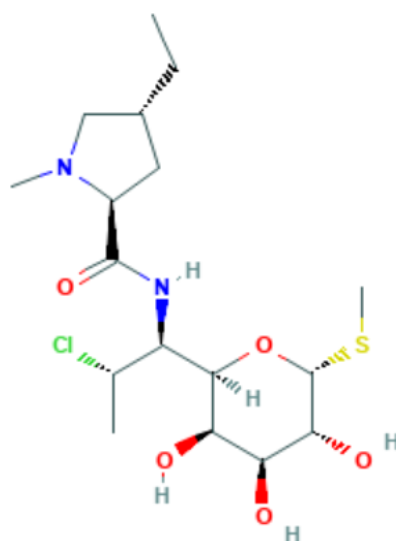


Figura 12: Fórmula molecular da lincosamina (clindamicina) (figura modificada de U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2020)

1.1.1.9. Nitroimidazólicos

Essa classe de antimicrobiano é representada pelo Metronidazol, um fármaco introduzido no mercado em 1959 com o intuito de combater a tricomoníase vaginal. Possui a característica de ser um bactericida potente, com excelente atividade contra bactérias anaeróbicas estritas (cocos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos) e certos protozoários como amebíase, tricomoníase e giardíase. O mecanismo de ação desta classe ocorre por meio do grupo nitro do fármaco atuando como receptor de elétrons, o que acarreta na liberação de compostos tóxicos e radicais livres que atuam no DNA, inativando-o e impedindo a síntese enzimática das bactérias (ANVISA, 2007).

Esta classe pode ser associado à claritromicina ou à amoxicilina no tratamento do *Helicobacter pylori* e é eficaz no tratamento da vaginose bacteriana (*Gardnerella vaginalis*) (ANVISA, 2007).

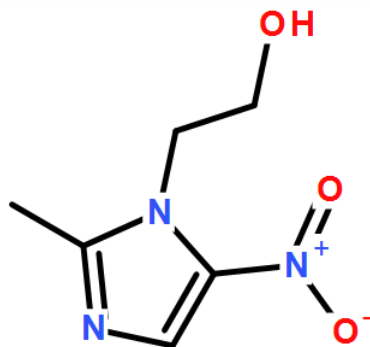


Figura 13: Fórmula molecular da nitroimidazólico (Metronidazol) (LABEYOND CHEMICALS, 2011);

1.1.1.10. Cloranfenicol

Este é um fármaco pouco usado atualmente, devido seus efeitos tóxicos com risco de vida, logo, foi substituído por novas drogas mais efetivas e menos tóxicas. O uso deste antimicrobiano se restringe a pacientes graves, em situações específicas. Seu mecanismo de ação consiste a ligação do fármaco à subunidade 50S do ribossomo, inibindo a síntese protéica da bactéria, tendo, assim, ação bacteriostática, todavia possui um papel bactericida contra algumas espécies como *S. pneumoniae*, *H. influenzae* *Neisseria meningitidis*, através de mecanismo não bem elucidado (ANVISA, 2007).

A resistência a esta classe ocorre por meio de plasmídeos que conferem, por exemplo, alterações de permeabilidade. É indicado o tratamento com esses fármacos em infecções por enterococos resistentes à vancomicina (OMS, 2019).

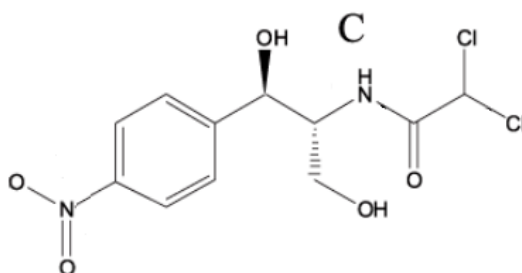


Figura 14: Fórmula molecular do cloranfenicol (figura modificada de Rezende, 2010);

1.1.1.11. Estreptograminas

Essa classe de antimicrobianos são macromoléculas da mesma família dos macrolídeos e lincosamidas que, embora não possuam relação química, apresentam algumas propriedades semelhantes, como o mecanismo de ação relacionado à inibição da síntese protéica bacteriana por ligarem-se a vários sítios da fração 50S dos ribossomos; outras semelhanças são espectro antimicrobiano, características farmacocinéticas e farmacodinâmicas e indicações clínicas (ANVISA, 2007).

Os principais fármacos representantes dessa classe são a quinopristina e dalfonopristina são derivados da pristinamicina IA e IIB, respectivamente (OMS, 2019).

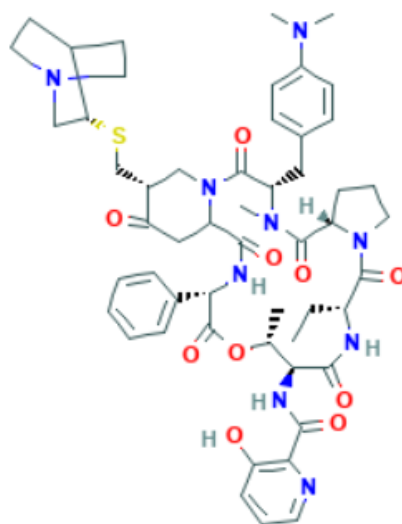


Figura 15: Fórmula molecular da estreptogramina (dalfonopristina) (figura modificada de U.S. National Library of Medicine, 2020);

1.1.1.12. Sulfonamidas

Essa classe foi a primeira ser usada como antimicrobiano em 1935, por meio do fármaco chamado sulfacrisoidina. Caracterizam-se por ser bacteriostáticos derivados da sulfanilamida, que têm estrutura similar à do ácido para-aminobenzoico (Figura 16).

O grupo das sulfonamidas compreende seis drogas principais, todavia duas se destacam, sendo a sulfadiazina e sulfametoxazol devido a sua maior importância clínica. Seu mecanismo de ação consiste em inibir o metabolismo do ácido fólico, por mecanismo competitivo (OMS, 2019).

A resistência pode ocorrer por mutação, levando à produção aumentada de ácido para-aminobenzoico ou à síntese de diidropteróico sintetase que apresentam pouca afinidade pelo antimicrobiano, ou por meio de plasmídeos e pela alteração da permeabilidade celular, por perda da capacidade da bactéria de ligação à droga por modificação na enzima diidrofolato redutase (OMS, 2019).

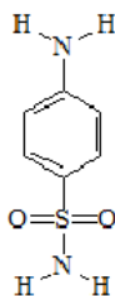


Figura 16: Fórmula molecular da sulfonamida (figura modificada de SBQ , 2009);

1.1.1.13. Tetraciclinas

A característica principal consiste em ser uma classe bacteriostática, quando em concentrações terapêuticas. Possui um amplo espectro de ação, incluindo bactérias Gram-positivas, Gram-negativas aeróbias e anaeróbias, espiroquetas, riquetsias, micoplasma, clamídias e alguns protozoários. Seu mecanismo de ação é fundamentado na entrada do antibiótico na célula por difusão, em um processo dependente de gasto de energia. Ligam-se, de maneira reversível, à porção 30S do ribossomo, bloqueando a ligação do RNA transportador, impedindo a síntese protéica (OMS, 2019).

O principal mecanismo de resistência microbiana é devido a diminuição da concentração da droga no interior da célula, podendo ser de origem cromossômica, mediada por plasmídeos ou transposons (OMS, 2019).

Esses fármacos são indicados no tratamento de infecções causadas por clamídias, riquetsias, cólera, brucelose e actinomicose. São alternativas no

tratamento de infecções causadas por *Mycoplasma pneumoniae*, *N. gonorrhoeae*, *H. ducreyi*, *Treponema pallidum* (OMS, 2019).

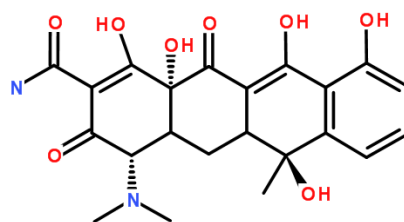


Figura 17: Fórmula molecular da tetraciclina (figura modificada da LABEYOND CHEMICALS, 2011);

1.1.1.14. Glicilciclinas

Apresenta como fármaco representante a tigeciclina. Possui como mecanismo de ação a inibição da tradução protéica nas bactérias, ligando-se à subunidade ribossômica 30 S bloqueando a entrada de moléculas aminoacil RNAt no sítio do ribossomo.

Caracteriza-se por apresentar potente atividade *in vitro* contra cocos Gram-positivos, incluindo estafilococos resistentes à oxacilina, enterococos resistentes à vancomicina e estreptococos resistentes às penicilinas ou cefalosporinas, bacilos Gram-negativos e a maioria dos anaeróbios de importância clínica, também apresenta excelente atividade contra a grande maioria das enterobactérias (ANVISA, 2007).

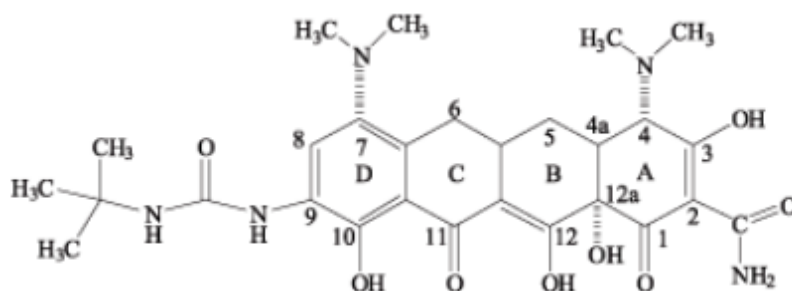


Figura 18: Fórmula molecular da glicilciclina (tigeciclina) (figura modificada de PEREIRA-MAIA, 2009);

1.1.1.15. Polimixinas

Essa classe de fármaco se distingue dos outros antimicrobianos em relação a seu mecanismo de ação, o que impede ou reduz a possibilidade resistência cruzada

com outros antimicrobianos. Seu mecanismo de ação caracteriza-se pela interação do fármaco com a molécula de polissacarídeo da membrana externa das bactérias Gram-negativas, retirando cálcio e magnésio, necessários para a estabilidade da molécula de polissacarídeo. Esse processo é independente da entrada do antimicrobiano na célula bacteriana e resulta em aumento de permeabilidade da membrana com rápida perda de conteúdo celular e morte da bactéria (ANVISA, 2007).

Essa classe está indicada contra uma grande variedade de bacilos Gram-negativos, como *Acinetobacter* spp. e *P. aeruginosa*, incluindo espécies de enterobactérias, como *E. coli* e *Klebsiella* spp. e bacilos não-fermentadores. Atualmente, existe duas polimixinas disponíveis comercialmente, colistina (polimixina E) e polimixina B (ANVISA, 2007).

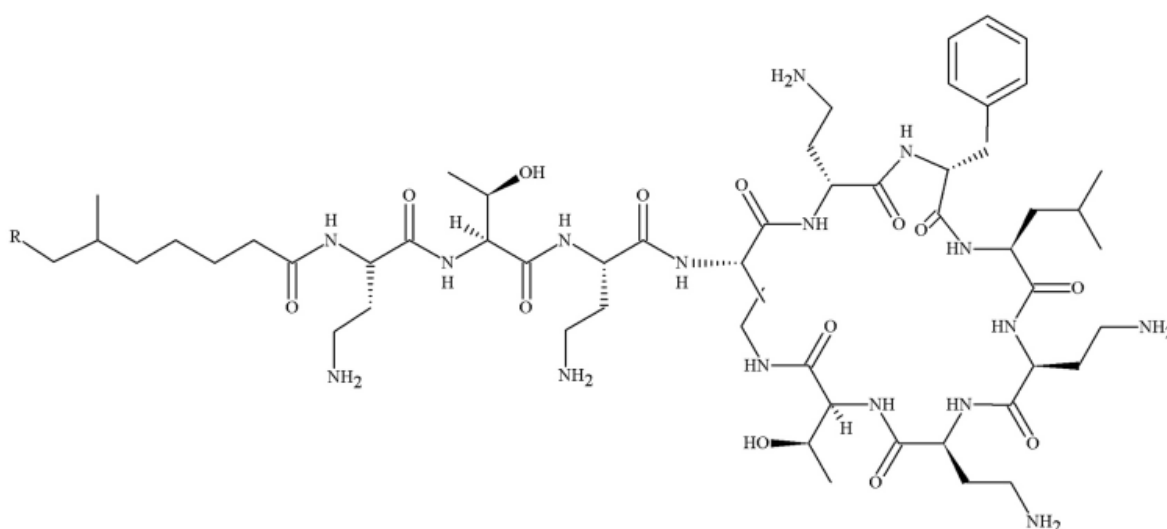


Figura 19: Fórmula molecular da estreptogramina (dalbavancina) (figura modificada de SBQ , 2009);

1.1.1.16. Daptomicina

É um antimicrobiano lipopeptídico cíclico, obtido da fermentação do *Streptomyces pristinaspiralis*. Seu mecanismo de ação caracteriza-se pela ligação do fármaco à membrana celular bacteriana levando à rápida despolarização do potencial de membrana, o que determina a inibição da síntese de proteínas, DNA e RNA, além do extravasamento de conteúdo citoplasmático e morte bacteriana (ANVISA, 2009).

As infecções causadas por esses organismos, em especial nos pacientes

Unidos, por exemplo, as infecções por bactérias resistentes representaram o adoecimento de mais de 2 milhões de pacientes e pelo menos 23.000 mil óbitos. Na União Europeia, o número de hospitalizações chega a mais de 2,5 milhões de infecções causadas por bactérias resistentes, sendo que cerca de 25.000 mil pacientes morrem anualmente (CDC, 2015).

Estima-se que, no Brasil, a taxa de infecções hospitalares atinja 14% das internações. Segundo dados da OMS, cerca de 234 milhões de pacientes passam por procedimentos por ano em todo o mundo. Destes, um milhão morre em decorrência de infecções hospitalares e sete milhões apresentam complicações (OPAS, 2018).

Um dos principais fatos que acentuaram a resistência aos antibióticos foi o fato da população utilizar os antibióticos de forma empírica e indiscriminada. Esta forma errônea de administração foi permitida no Brasil até 2009, onde tais fármacos eram vendidos livremente, sem a necessidade de um receituário médico, levando a automedicação o que acarretou no surgimento de cepas multirresistentes (ANVISA, 2010), ou seja, cepas resistentes (não são sensibilizadas) a diferentes classes de antimicrobianos testados em exames microbiológicos (QUEIROZ et al., 2012).

A multirresistência bacteriana não se restringe apenas a fatores do uso na terapêutica de fármacos, mas também em outras áreas da ciência como na pecuária que faz uso de antibióticos na ração animal. Outro fator é a globalização, na qual sua contribuição se dá devido sua facilidade de disseminação de microrganismos multirresistentes. Logo, é notório o aumento da incidência de cepas resistentes ou multirresistentes aos antibióticos disponíveis para a terapêutica atual tanto em hospitais quanto na comunidade (RICHET; MCDONALD; JARVIS, 2001).

Nas últimas décadas organizações em prol da saúde como as Nações Unidas vem lutando contra o elevado número de casos de resistência antimicrobiana (ONU, 2016). Com o surgimento de cepas multirresistentes surtos globais surgem por consequência (VAN LOOVEREN, 2004). O fenótipo mais comum dos surtos bacterianos é a resistência a uma importante classe de antibióticos os carbapenêmicos (RODRIGUES-SILVA, 2013), esta característica fenotípica é crescente na América Latina (GALES, 2012), especialmente no Brasil,

onde o seu clima e geografia contribuem para a proliferação de agentes nosocomiais (DIAS, 2016).

Uma espécie bacteriana em especial que se destaca, a *Acinetobacter baumannii*, uma Gram-negativa, que vem adquirindo mundialmente resistência, inclusive aos antimicrobianos de amplo espectro. Ela possui uma capacidade de desenvolver resistência de forma rápida, acredita-se que seja devido sua exposição evolutiva a longo prazo a organismos produtores de antibióticos no solo (RADÓ et al., 2019). Um dos principais fatores para o surgimento de cepas resistentes da *A. baumannii* é a aquisição e transferência de resistência a antibióticos em plasmídeos, transposons e integrons, sendo que mais de 80% destes organismos possuem múltiplos plasmídeos nativos de vários tamanhos moleculares (KOVACIC, 2017).

No contexto atual, são poucas as classes de antibióticos eficazes no tratamento deste patógeno nosocomial. Até recentemente, as drogas recomendadas para terapia eram penicilinas de espectro estendido, cefalosporinas de amplo espectro ou carbapenêmicos, combinadas com um aminoglicosídeo. No entanto, o aumento da resistência a esses agentes antimicrobianos exige uma avaliação crítica das opções restantes de tratamento com antibióticos (CARVALHEIRA et al., 2017).

Atualmente os carbapenêmicos, especialmente o imipenem e o meropenem (KARAGEORGOPOULOS, 2008), se tornaram a principal escolha para o tratamento das infecções mais graves causadas pela *A. baumannii*, todavia é crescente o surgimento de cepas resistentes a esta classe de antibióticos (KOVACIC, 2017). O que fez com que em 2001 a Rede Internacional para o Estudo e Prevenção da Resistência Antimicrobiana Emergente (INSPEAR) definir o surgimento da resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* como um "evento sentinela global", garantindo intervenções epidemiológicas e microbiológicas imediatas (RICHET et al., 2001).

Dentro desta perspectiva, os órgãos e sistemas de saúde lidam com constantes infecções hospitalares por bactérias multirresistentes que progressivamente vem causando um decaimento dos antimicrobianos a serem utilizados com efetividade. O que torna fundamental, em tempos atuais, o estudo de tais patógenos visando um ataque farmacológico e manejo preciso e eficiente, uma

vez que a falha no tratamento antimicrobiano pode aumentar o(s) fator(es) de multirresistência.

1.3. *Acinetobacter* spp.

O gênero *Acinetobacter* é uma das principais causas de infecções nosocomiais e está cada vez mais associado a várias epidemias, tornando-se uma preocupação generalizada em uma variedade de hospitais e outras instituições de saúde em todo o mundo. Possuindo diversas espécies dentre elas a *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. johnsonii*, *A. lwoffii*, *A. radioresistens*, *A. venetianus*, *A. ursingii*, *A. schindleri*, *A. bouvetii*, *A. baylyi*, *A. towneri*, *A. tandoii*, *A. grimontii* e *A. tjernbergiae*, *A. gernerii* e *A. parvus* (KIM et al., 2014).

Sob este contexto, encontra-se a espécie *Acinetobacter baumannii*, considerada a maior representante do gênero bacteriano, por apresentar maior patogenicidade (VEGASA; NIEVES, 2005). Além disso, esta espécie vem adquirindo mundialmente resistência, inclusive aos antimicrobianos de amplo espectro. Mesmo os carbapenêmicos, que são a droga de escolha contra esta espécie bacteriana, vem diminuindo a sua capacidade de ação devido ao progressivo aumento da resistência aos carbapenêmicos (figura 16) (KIM et al., 2014).

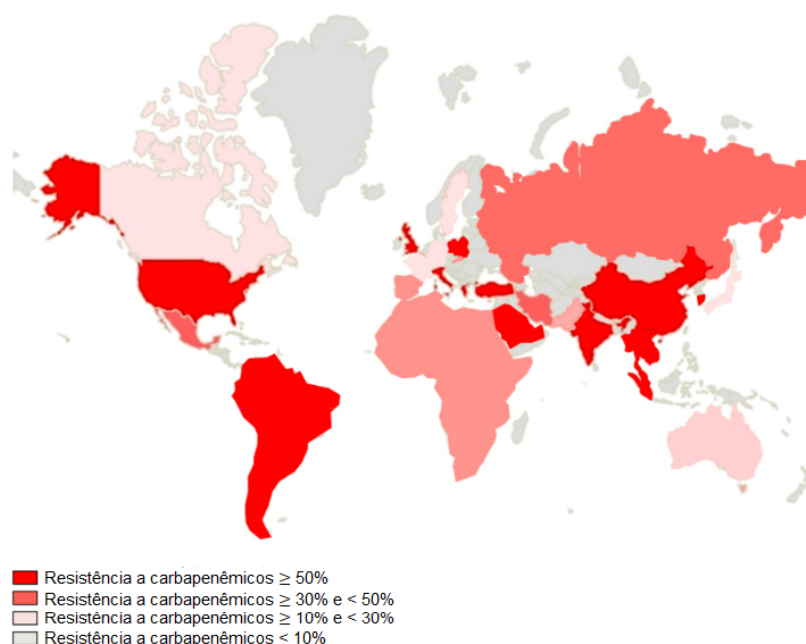


Figura 21: Distribuição do perfil mundial de resistência a carbapenêmicos da *Acinetobacter* spp (figura modificada de KIM et al., 2014);

A nível nacional os índices de resistência a carbapenêmicos, em especial o imipenem, em isolados de *Acinetobacter* spp., aumentaram de 12,6% no período de 1997-1999 para 71,4% no período de 2008-2010 (PFALLER et al., 2012). As regiões sul e sudeste do Brasil são as que apresentam maior incidência de cepas multirresistentes desta espécie bacteriana (MEDEIROS et al., 2013). A espécie *A. baumannii* é um cocobacilo Gram-negativa, aeróbica, não-fermentadora, podendo se apresentar em formação diplóide, ou em cadeias de comprimento variável (CARVALHEIRA et al., 2017). Este organismo possui fatores de virulência, como os determinantes de resistência: resistência sérica, motilidade, bombas de efluxo e mecanismos de aquisição de ferro. Além desses determinantes a classe gram-negativa possui uma parede celular mais delgada e com a presença de microfilmes, modificações das purinas, capacidade de produzir beta-lactamases (HAN et al., 2018) e presença lipopolissacarídeos (LPS) atuando como uma endotoxina (ROBINSON et al., 2019); tais fatores ajudam esta bactéria a sobreviver em condições ambientais adversas e facilitar o desenvolvimento de uma infecção. O gênero, assim como a espécie em questão, possui uma ampla variação na produção de fatores de virulência, variando amplamente entre diferentes cepas de diferentes fontes, embora a causa para tal variação ainda não esteja elucidado (EVEILLARD et al., 2010).

A capacidade de sobreviver em ambientes hospitalares proporcionou a *A. baumannii* se tornar um dos patógenos nosocomiais mais bem-sucedidos. Uma característica marcante é que esta bactéria não causa patogenicidade em pacientes saudáveis, ou seja, ela infecta pacientes hospitalizados, atuando como um agente patogénico oportunista nosocomial. Este organismo sobrevive, por períodos prolongados, como um comensal na pele ou cabelo da equipe hospitalar e em pacientes, proporcionando uma variedade de regiões corporais para este colonizar. Além disso, objetos inanimados contaminados também servem como potenciais reservatórios para esse patógeno nosocomial (AL-KADMY et al., 2018).

A *A. baumannii* é um patógeno nosocomial importante e pode causar pneumonias relacionada à ventilação, infecções da corrente sanguínea, infecções do trato urinário e meningite, essa bactéria pode ser proveniente da comunidade ou

de ambientes hospitalares, esta é a origem mais comum e a pneumonia hospitalar sendo a infecção mais prevalente por esse organismo (HAN et al., 2018).

Dada a acentuada incidência desse patógeno na morbimortalidade de pacientes principalmente em ambientes hospitalares, estudos que buscam caracterizar fenótipos de resistência dessa bactéria a antibioticoterapia vigente são bastante relevantes e podem contribuir para entender essa problemática tão atual. Este trabalho tenta traçar o perfil de resistência de três cepas bacterianas não responsivas a antibioticoterapia originária do Hospital Regional Tarcísio Maia na cidade de Mossoró-RN.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisou-se o perfil de resistência a antibióticos comerciais de três possíveis cepas da espécie *Acinetobacter baumannii* (AL 6756, AB99B2 e AB742), provenientes do Hospital Regional Tarcísio Maia da cidade de Mossoró-RN.

2.2. Objetivos específicos

- Isolou-se e cultivou-se as cepas resistentes a antibioticoterapia hospitalar;
- Caracterizou-se as cepas em questão;
- Definiu-se o perfil de susceptibilidade das cepas aos antibióticos;

3. METODOLOGIA

Três cepas supostamente do gênero *Acinetobacter* spp. resistente a carbapenêmicos foram coletadas de pacientes atendidos no Hospital Regional Tarcísio Maia, Mossoró-RN (os paciente não apresentavam resposta a antibioticoterapia).

3.1. Crescimento das cepas em meio Luria Bertani (LB)

Inicialmente a cepas bacterianas AB99B2, AL6756 e AB742 foram sub cultivadas em meio LB e incubadas por 18 horas a 37°C. Logo após, as amostras foram inoculadas em 10 mL de caldo BHI e incubado em banho-maria com agitação a 180 rpm por 18 horas a 37°C (JACOBS et al., 2012). A suspensão resultante foi estocada a -80°C acrescentando glicerol na qual a concentração final deste crioprotetor foi de 20% (HAN, 2018).

3.2. Coloração de Gram

A coloração de Gram, também chamada de método de Gram, é o método tintorial, ou seja, por coloração, predominante utilizado na bacteriologia.

Sendo uma técnica relativamente simples, rápida e com capacidade de resolução. Como foi mencionado, essa técnica possui uma instalação simples, necessitando apenas de uma balcão com uma pia, uma fonte de água corrente, uma lâmina contendo um esfregaço, fixado com com o auxílio de uma lamparina.

Os corantes e solventes utilizados na técnica requerem serem preparados pelo próprio laboratório ou por um laboratório habilitado que assegure a qualidade de tais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Em uma lâmina com esfregaço bacteriano, cobriu-se com uma solução de cristal violeta, deixando este sobre a lâmina por 60 segundos, logo após, descarte o corante na pia e lave a lâmina com um leve filete de água corrente, assegurando-se que o jato de água não carregará o material biológico ou retirará a coloração já estabelecida.

Por conseguinte, a lâmina é coberta por solução de lugol, deixando este sobre a lâmina por 60 segundos, logo após, descarte o corante na pia e lave a

lâmina com um leve filete de água corrente. Nessa fase utiliza-se a solução de álcool acetona para descorar o esfregaço, cobrindo este por 10 a 15 segundos, logo após, descarte o descorante na pia e lave a lâmina com um leve filete de água corrente. Em sequência, cobrirá a lâmina com uma solução de fucsina, deixando este sobre a lâmina por 30 segundos, logo após, descarte o corante na pia e lave a lâmina com um leve filete de água corrente. Por fim, seque a lâmina em sua parte inferior (que não possui contato com o material biológico) com papel absorvente.

Durante o processo de coloração, o tratamento com álcool acetona extrai os lipídeos, resultando na porosidade e consequente permeabilidade aumentada da parede celular das bactérias Gram-negativas. Por este motivo, o cristal violeta aplicado no início do processo sai, e a fucsina aplicada ao final permanece. As Gram-negativas coram-se então de vermelho (ou rosa).

Entretanto, as bactérias Gram-positivas, possuem uma parede celular bacteriana diferente das Gram-negativas, em virtude disto durante o tratamento com álcool acetona as paredes dessas bactérias tornam-se desidratadas, o que faz com que a porosidade destas diminuam, logo, a permeabilidade é reduzida. Sendo assim, essas bactérias retêm o cristal violeta e não se descoram com a aplicação do álcool, corando-se então de azul (ou roxo) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

3.3. Testes de identificação bacteriana

3.3.1. SIM (sulfato/indol/motilidade ágar)

É um meio semi sólido usado para diferenciar bacilos entéricos baseando-se na produção de sulfeto, formação de indol e motilidade.

A Digestão Enzimática de Caseína e a Digestão Enzimática de Tecido Animal (meio BHI) fornecem nitrogênio, carbono e aminoácidos no Ágar SIM. O Citrato Férrico Amoniacal e o Tiosulfato de Sódio são utilizados para detectar a produção de sulfeto de hidrogênio. O gás H_2S reage com o Citrato Férrico Amoniacal produzindo sulfato ferroso, um precipitado preto. A Digestão Enzimática de Caseína contém triptofano, que é convertido em indol. O indol é detectado após a adição do Reagente de Kovacs.

O uso de apenas 0,35% de ágar no meio resulta na produção de um meio semi sólido, ideal para o exame da motilidade. Microrganismos não móveis crescerão ao longo da linha de inoculação apenas, enquanto espécies móveis crescerão longe dela (ANVISA, 2004).

3.3.2. Teste da fenilalanina - FEN

A Fenilalanina desaminase (FEN) ao sofrer a desaminação da fenilalanina, forma o ácido fenilpirúvico. Entre os membros da família Enterobacteriaceae, apenas as espécies de *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* possuem a enzima necessária para a desaminação da fenilalanina.

O teste da fenilalanina consiste na detecção de ácido fenilpirúvico, após crescimento do microrganismo em meio caldo BHI contendo este aminoácido.

O aparecimento de uma coloração verde escura após adição de uma solução de cloreto férrico a 10% indica resultado positivo (ANVISA, 2004).

3.3.3. Teste do citrato - CIT

O ágar citrato (CIT) é utilizado no teste do citrato sendo indicado para determinar a capacidade de certas bactérias de utilizarem o citrato como única fonte de carbono para o seu metabolismo, sendo que o ágar citrato contém citrato de sódio como única fonte de carbono, fosfato de amônia como única fonte de nitrogênio e o azul de bromotimol como indicador de pH;

Quando a bactéria utiliza o citrato, este é removido do meio e CO₂ é liberado. O CO₂ combina-se com o sódio, do citrato de sódio e água para formar carbonato de sódio, um produto alcalino, isto aumenta o pH, mudando a cor do meio de verde (negativo) para azul (positivo) (ANVISA, 2004).

3.3.4. Teste da hidrólise da esculina - ESC

O ágar esculina é um meio que possui o princípio de verificar se a bactéria é capaz de hidrolisar a esculina presente neste meio. Caso ocorra reação a esculina exige sais de ferro formando precipitado marrom escuro ou preto; Esse teste serve

para diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias e não fermentadores (ANVISA, 2004).

3.3.5. Teste BHI a 42 °C - 42

Este teste resulta em verificar a capacidade dos microrganismos crescerem em altas temperaturas, sendo assim capaz de identificar bacilos Gram negativos não fermentadores (ANVISA, 2004).

3.3.6. Meio base para oxidação e fermentação - OF

É composto pelo meio comercial: Meio base de OF, carboidratos como dextrose ou glicose, lactose, sacarose, xilose, maltose, manitol, dentre outros e vaselina líquida estéril. Por meio desse meio verifica-se a capacidade do microrganismo em utilizar os carboidratos pela via oxidativa ou fermentativa, possibilitando assim Diferenciar bacilos Gram-negativos quanto ao tipo de metabolismo empregado em utilizar carboidratos (ANVISA, 2004).

3.3.7. Teste da gelatinase - G

Este teste determina a habilidade do microrganismo de produzir enzimas proteolíticas (gelatinases) que liquefaz/hidrolisa gelatina. Logo, possui a capacidade de identificar e classificar bactérias fermentadoras, não fermentadoras e bacilos Gram-positivos esporulados(ANVISA, 2004).

3.3.8. Teste da lisina - L

É um teste que se baseia na capacidade da bactéria em utilizar um aminoácido denominado lisina sendo uma descarboxilase essa enzima possui substrato específico, capaz de reagir com o grupo carboxila dos aminoácidos para formar cadaverina (aminas alcalinas), chamando esse processo de descarboxilação, originando por fim dióxido de carbono como produto secundário (ANVISA, 2004).

3.3.9. Teste da arginina - A

Este teste é realizado com o aminoácido arginina e assim como o outro aminoácido citado anteriormente (lisina), este também é uma enzima que possui substrato específico, sendo capaz de reagir com o grupo carboxila dos aminoácidos para formar citrulina (amina alcalina), possuindo um diferencial em relação ao teste da lisina, pois a conversão da arginina em citrulina é uma atividade de diidrolase, e não descarboxilase, isso ocorre pois há uma retirada do grupo NH_2 da arginina em um primeiro momento, logo após há a conversão da citrulina em ornitina, que sofre descarboxilação para formar putrescina (amina alcalina) (ANVISA, 2004).

3.3.10. Teste da ornitina - O

Conceitualmente similar ao teste da lisina e da arginina, todavia o aminoácido utilizado é a ornitina (ANVISA, 2004).

3.3.11. Controle dos aminoácidos lisina, arginina, ornitina - C

Foi estabelecido um meio para cada cepa sem nenhum dos três aminoácidos citados anteriormente (lisina, arginina e ornitina) como controle dos 03 testes com os aminoácidos (ANVISA, 2004).

3.3.12. Teste do nitrato - NIT

Consiste em Determinar a habilidade do microrganismo de reduzir o nitrato (NO^3) a nitrito (NO^2) ou gás nitrogênio (N^2) (desnitrificação), desta forma diferenciar gêneros e espécies de enterobactérias, não fermentadores, anaeróbios, *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp. e *Mycobacterium* spp. (ANVISA, 2004).

3.4. Teste de resistência a Antibióticos com discos

Visando proporcionar o teste antibiograma, foram necessários alguns materiais e equipamentos sendo uma estufa bacteriológica, alças bacteriológicas em platina, agar Mueller Hinton em placas 90X15mm, tubo com escala 0,5 Mac Farland, solução salina estéril (NaCl 0,85%); termômetro de máxima e mínima para

controle da estufa, swabs estéreis para espalhamento da suspensão, tabelas com os valores esperados de halos inibitórios e um Bico de Bunsen (ANVISA, 2005, 2008; LABORCLIN, 2011).

Em posse de tais materiais, retirou-se as placas e os frascos com os discos da geladeira cerca de vinte a trinta minutos antes da execução da prova para que adquirissem a temperatura ambiente. Com uma alça bacteriológica em platina devidamente flambada e resfriada, coletou-se as colônias cultivadas nas últimas 24 horas, para então suspendê-las em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala Mac Farland (1×10^6 UFC/mL), para essa foi realização utilizado um tubo aferido na escala 0,5 de MacFarland. Em seguida embebedou-se um swab estéril na suspensão bacteriana, pressionando-o contra as paredes do tubo visando retirar o excesso da suspensão, e semear em seguida de forma suave em cinco direções, visando abranger todas direções da superfície da placa, foi determinado que a superfície do ágar secasse por 15 minutos e com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada, colocou-se os monodiscos, sobre a superfície do meio inoculado, exercendo uma leve compressão com a extremidade distal da pinça visando uma boa adesão dos discos. O próximo passo foi incubar as placas com os discos em uma estufa bacteriológica a 36°C por 24 horas (ANVISA, 2005, 2008; LABORCLIN, 2011).

Os resultados foram colhidos com o auxílio de uma régua, medindo o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco, e consultou-se a tabela de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos, fornecidas pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) para determinar se as bactérias em análise eram sensíveis, intermediárias ou resistentes aos antimicrobianos testados (ANVISA, 2005, 2008; LABORCLIN, 2011).

Os testes de resistência a antimicrobianos foram feitos por meio do método padrão Mueller Hinton de disco-difusão em meio Mueller Hinton. Foram testados os seguintes antimicrobianos: Tetraciclina 30 µg (TET), sulfametoxazol/trimetoprim 1,25/23,75 µg (SUT), ciprofloxacina 5 µg (CIP), cefalotina 30 µg (CFL), gentamicina 10 µg (GEN), amicacina 30 µg (AMI), ampicilina 10 µg (AMP), cefepime 30 µg (CPM), cloranfenicol 30 µg (CLO), ceftazidima 30 µg (CAZ), cefoxitina 30 µg (CFO),

piperacilina/tazobactam 100/10 µg (PIT), aztreonam 30 µg (ATM), ceftriaxona 30 µg (CRO) e amoxicilina/ácido clavulânico 20/10 µg (AMC) (HAN et al.,2018).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As três cepas, não responsivas a antibioticoterapia, foram coletadas de pacientes atendidos no Hospital Regional Tarcísio Maia, Mossoró-RN. Inicialmente, foram submetidas a uma série de testes para sua classificação, sendo a coloração de Gram e os testes bioquímicos, posteriormente realizou-se um antibiograma para aferir a quais antibióticos essas bactérias apresentavam resistência, segue nos itens a seguir.

4.1. Testes para classificação

A classificação das cepas usadas como objeto de estudo é de grande importância pois estão relacionadas a fatores negativos que afetam diretamente a saúde humana, o que tornou necessário uma classificação minuciosa chegando até ao gênero e espécie, respectivamente (ANVISA, 2004). Os testes de classificação feitos neste estudo foram a coloração de Gram, testes bioquímicos e o antibiograma, serão descritos detalhadamente logo abaixo:

4.1.1. Coloração de Gram

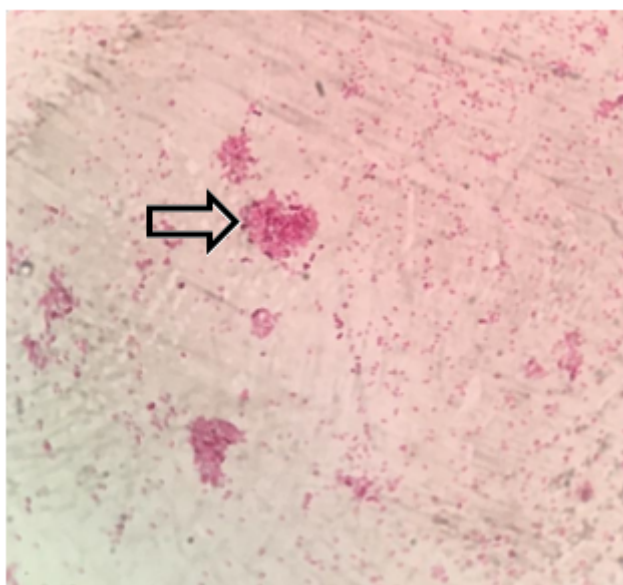


Figura 22: Na lâmina, observou-se que a colônia bacteriana, indicada pela seta, da cepa AB99B2 foi corada de vermelho (rosa), identificando-a como cocobacilo Gram-negativa;

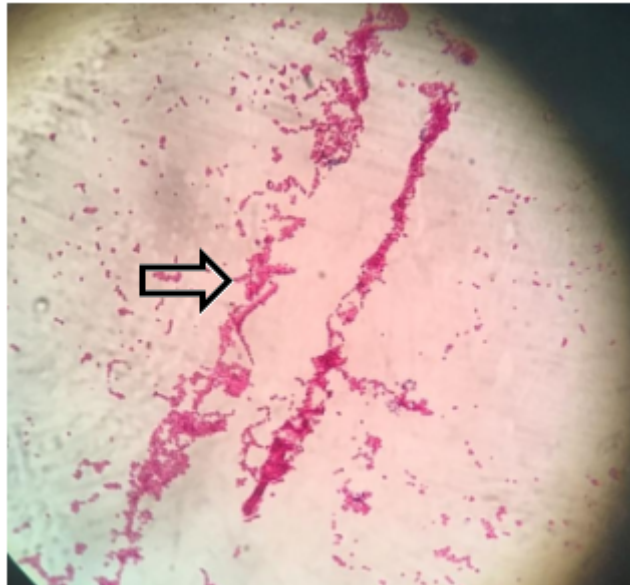


Figura 23: Na lâmina, observou-se que a colônia bacteriana, indicada pela seta, da cepa AL6756 foi corada de vermelho (rosa), identificando-a como cocobacilo Gram-negativa;

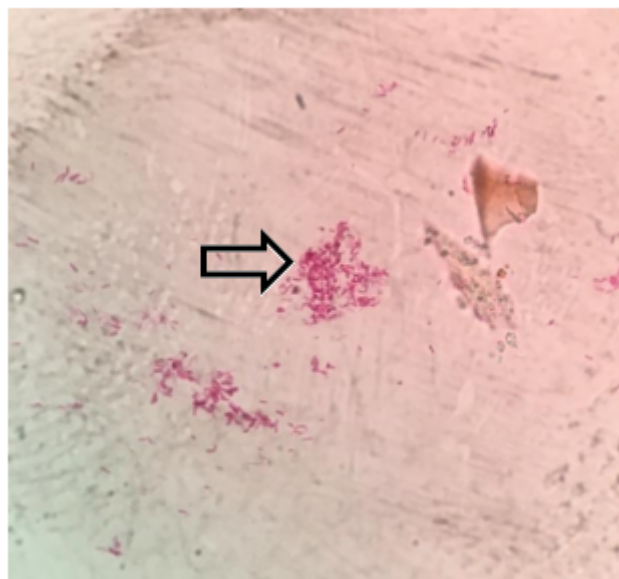


Figura 24: Na lâmina, observou-se que a colônia bacteriana, indicada pela seta, da cepa AB742 foi corada de vermelho (rosa), identificando-a como cocobacilo Gram-negativa;

Os respectivos testes do esfregaço das três cepas coraram-se de vermelho (rosa), comprovando-se assim que os microrganismos são bactérias Gram-negativas, o que não refutou a identificação destas como *Acinetobacter* spp. ou propriamente a espécie *A. baumannii*.

4.1.2. Testes bioquímicos

Os teste bioquímicos são uma importante ferramenta para identificar microrganismos, neste contexto, as três cepas bacterianas do estudo (ANVISA, 2004).

Foram realizados os testes SIM (Figura 20), FEN (Figura 21), CIT, ESC, 42, OF, G, e NIT, conforme vemos nas figuras abaixo:

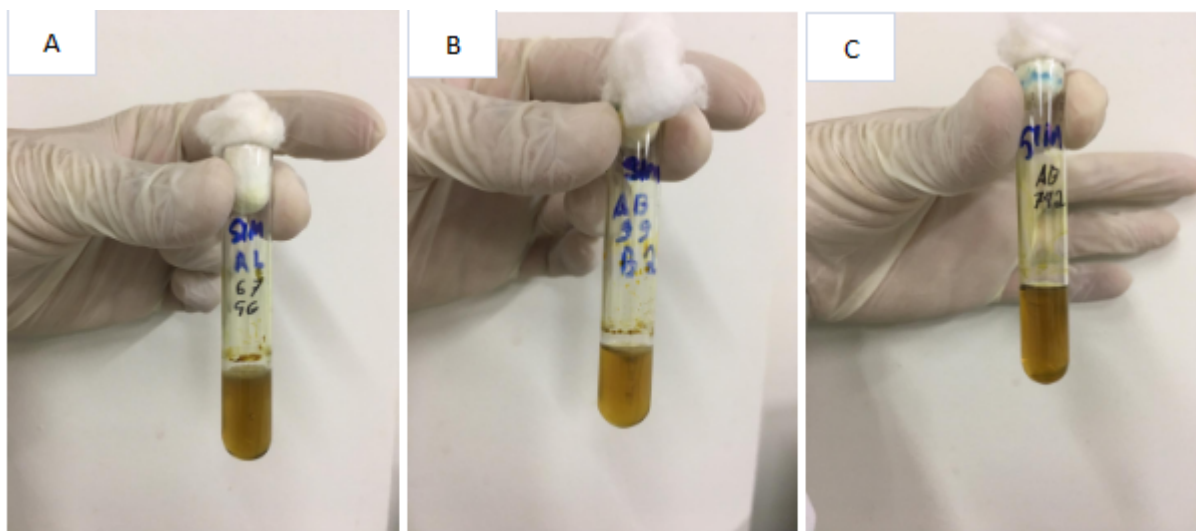


Figura 25: Teste SIM (S=Enxofre I=indol e M=motilidade). Meio semi sólido usado para diferenciar bacilos entéricos baseando-se na produção de sulfeto, formação de indol e motilidade. Na imagem A observa-se o teste SIM para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste SIM para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste SIM para a cepa AB742;

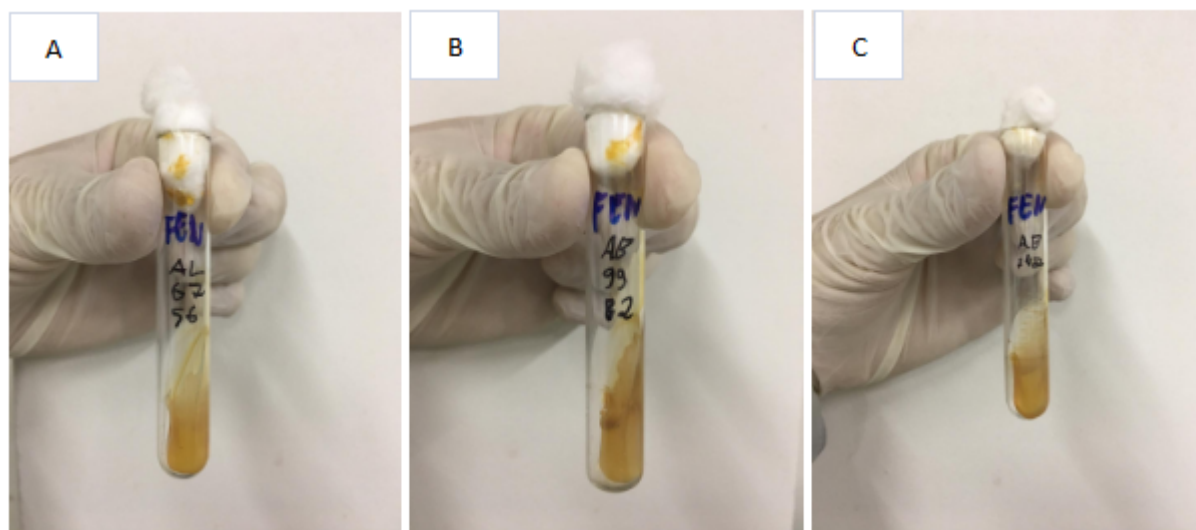


Figura 26: Teste FEN (teste da fenilalanina). Consiste na detecção de ácido fenilpirúvico, após crescimento do microrganismo em meio caldo BHI contendo fenilalanina. Na imagem A observa-se o teste FEN para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste FEN para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste FEN para a cepa AB742;

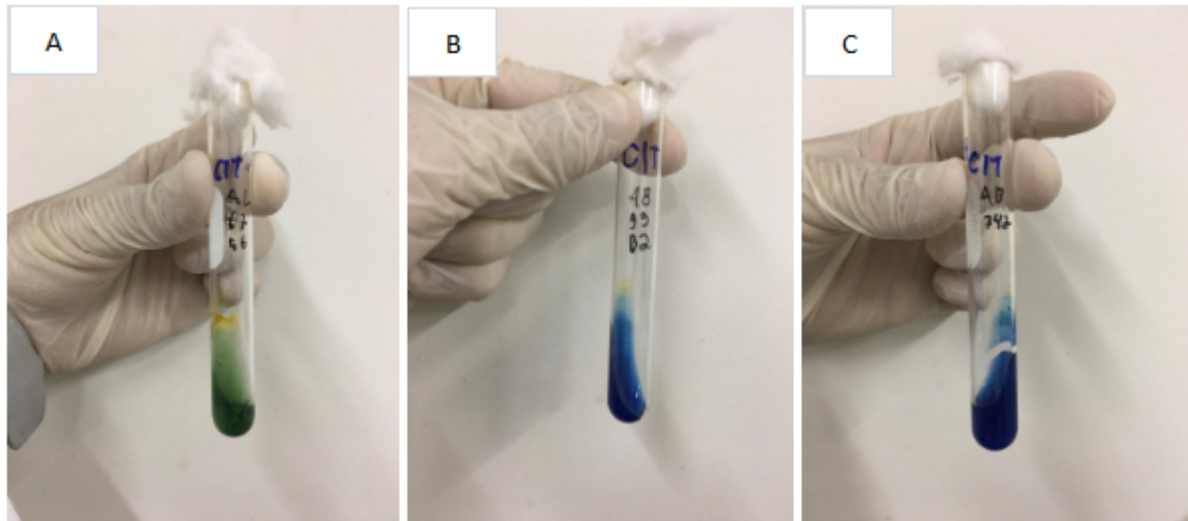


Figura 27: Teste CIT (teste do Citrato). Determina a capacidade bacteriana de utilizar o citrato como única fonte de carbono para o seu metabolismo, contém citrato de sódio como única fonte de carbono, fosfato de amônia como única fonte de nitrogênio e o azul de bromotimol como indicador de pH. Na imagem A observa-se o teste CIT para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste CIT para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste CIT para a cepa AB742;

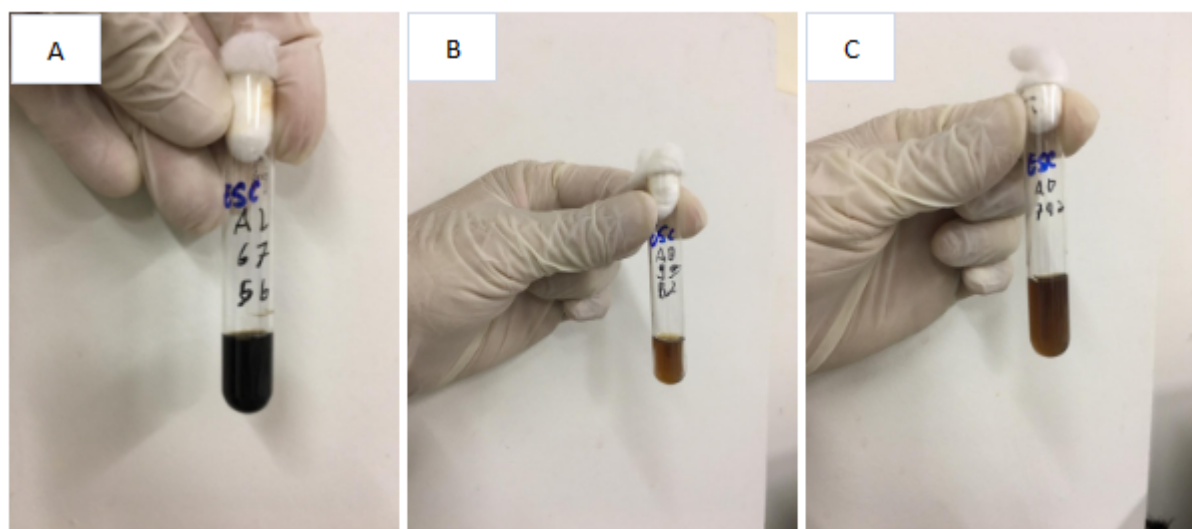


Figura 28: Teste ESC (teste da esculina). Consiste em verificar se a bactéria é capaz de hidrolisar a esculina presente neste meio. Na imagem A observa-se o teste ESC para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste ESC para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste ESC para a cepa AB742;

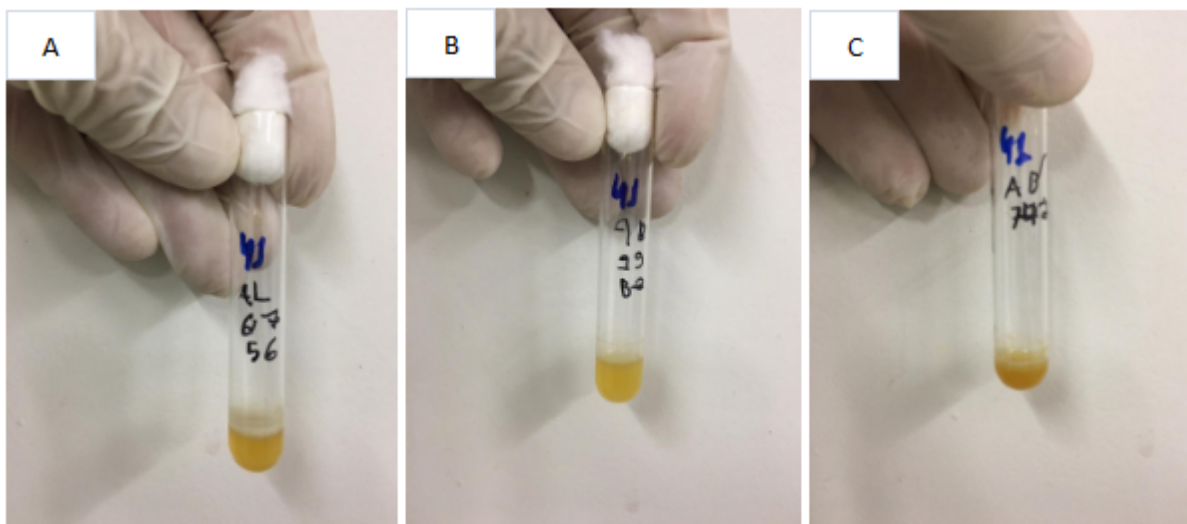


Figura 29: Teste 42 (teste BHI a 42° C). Consiste em verificar a capacidade dos microrganismos crescerem em altas temperaturas. Na imagem A observa-se o teste 42 para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste 42 para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste 42 para a cepa AB742;

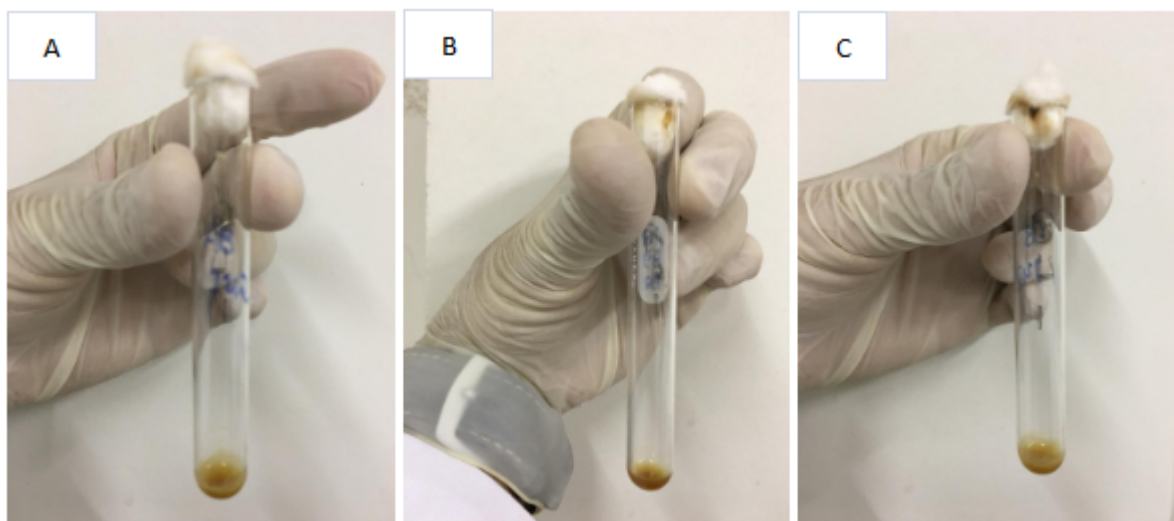


Figura 30: Teste OF. Consiste em verificar a capacidade do microrganismo em utilizar os carboidratos, presentes no meio, pela via oxidativa ou fermentativa; Na imagem A observa-se o teste OF para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste OF para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste OF para a cepa AB742;

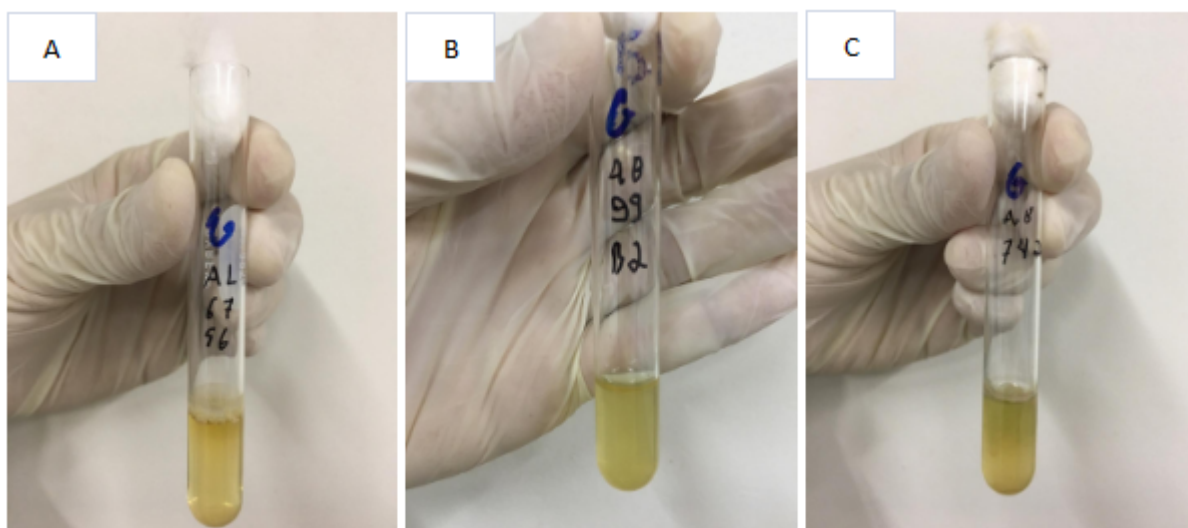


Figura 31: Teste G (Teste da gelatinase). Consiste em determinar a habilidade do microrganismo de produzir enzimas proteolíticas (gelatinases) que liquefaz/hidrolisa gelatina. Na imagem A observa-se o teste G para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste G para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste G para a cepa AB742;

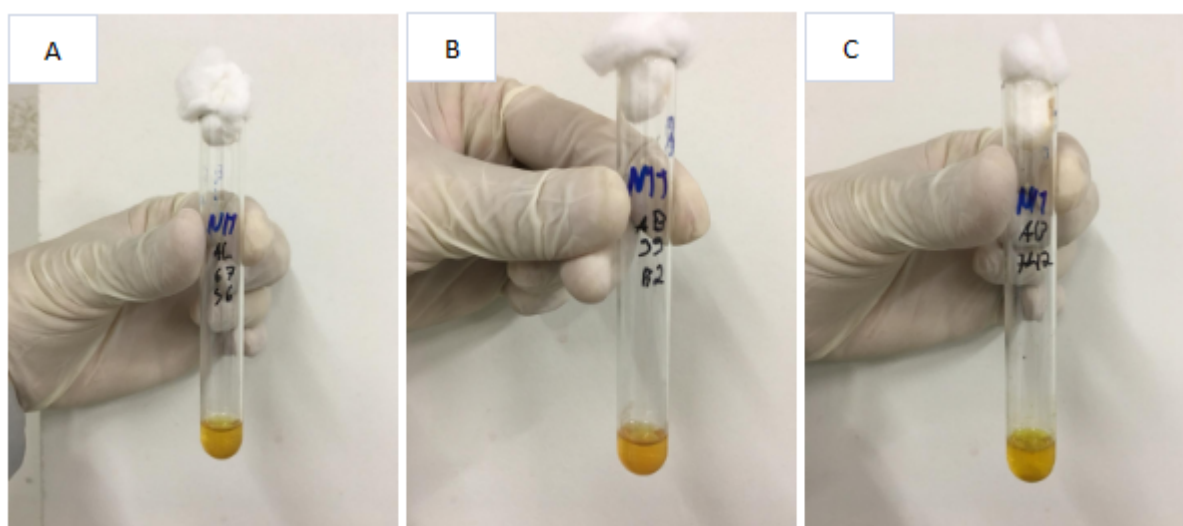


Figura 32: Teste NIT (teste do nitrato). Consiste em Determinar a habilidade do microrganismo de reduzir o nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) ou gás nitrogênio (N_2) (desnitrificação). Na imagem A observa-se o teste NIT para a cepa AL6756, já na imagem B é apresentado o teste NIT para a cepa AB99B2 e na imagem C é apresentado o teste NIT para a cepa AB742;

Os testes bioquímicos confirmaram as cepas AB99B2 e AB742 como de fato *A. baumannii*, e baseando-se na classificação de MacFaddin, onde é utilizado uma tabela contendo as reações bioquímicas para cada espécie bacteriana, classificando estas em positivas, negativas ou variáveis (MACFADDIN, 2000). Todavia, os testes refutaram que a cepa AL6756 seja uma *A. baumannii*, sobrepondo os dados na tabela de MacFaddin evidenciou que se trata de uma *Enterobactéria* sp.:

Tabela 01: Testes bioquímicos para caracterização bacteriana

Testes/Cepas	AL6756	AB99B2	AB742
SIM	Sulfato - Indol - Motilidade +	Sulfato - Indol - Motilidade +	Sulfato - Indol - Motilidade +
FEN + cloreto férico a 10%	Não reagente	Não reagente	Não reagente
CIT	Não reagente	Reagente	Reagente
ESC	Reagente	Não reagente	Não reagente
42	Não reagente	Não reagente	Não reagente
OF	Não reagente	Não reagente	Não reagente
G	Não reagente	Não reagente	Reagente
L	Não reagente	Não reagente	Não reagente
A	Reagente	Reagente	Reagente
O	Não reagente	Não reagente	Não reagente
C	Não reagente	Não reagente	Não reagente
NIT	Não reagente	Não reagente	Não reagente

4.3. Crescimento em meio de cultura com antibióticos (antibiograma)

As figuras 33, 34 e 35 apresentam o perfil de crescimentos bacteriano das três cepas em placa usando o método padrão Kirby-Bauer de disco-difusão com antibióticos em meio caldo BHI.

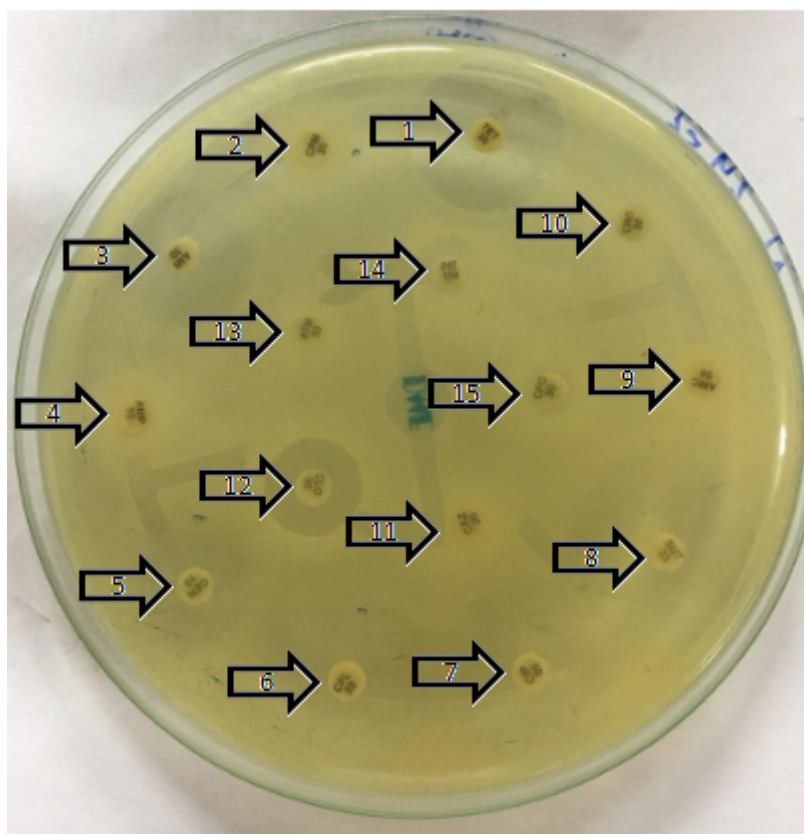


Figura 33: Antibiograma contendo uma placa com quinze discos de antibióticos e uma colônia da cepa AL6756. Os discos são referentes a tetraciclina (TET) indicado pela seta 1, cefepime (CPM) indicado pela seta 2, amicacina (AMI) indicado pela seta 3, ampicilina (AMP) indicado pela seta 4, gentamicina (GEN) indicado pela seta 5, cefalotina (CFL) indicado pela seta 6, ciprofloxacina (CIP) indicado pela seta 6, sulfametoxazol/trimetoprim (SUT) indicado pela seta 8, amoxicilina/ácido clavulânico (AMC) indicado pela seta 9, ceftriaxona (CRO) indicado pela seta 10, ceftazidima (CAZ) indicado pela seta 11, cloranfenicol (CLO) indicado pela seta 12, aztreonam (ATM) indicado pela seta 13, piperacilina/tazobactam (PIT) indicado pela seta 14, cefalotina (CFL) indicado pela seta 15;

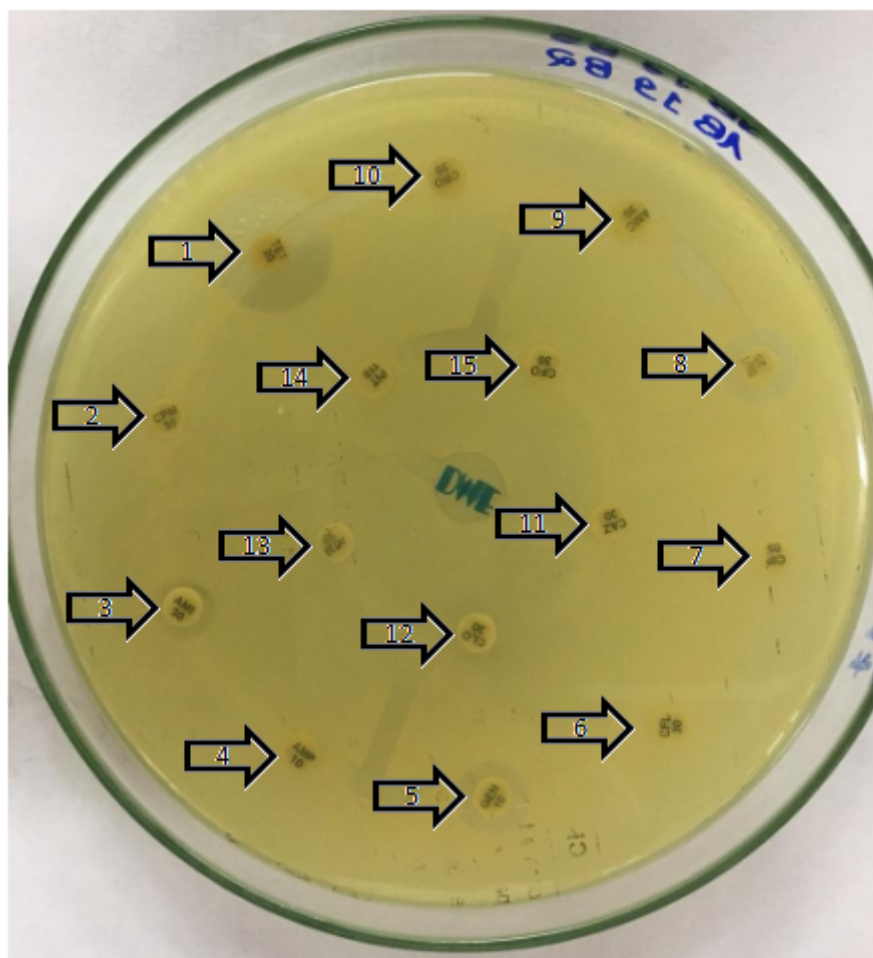


Figura 34: Antibiograma contendo uma placa com quinze discos de antibióticos e uma colônia da cepa AB99B2. Os discos são referentes a tetraciclina (TET) indicado pela seta 1, cefepime (CPM) indicado pela seta 2, amicacina (AMI) indicado pela seta 3, ampicilina (AMP) indicado pela seta 4, gentamicina (GEN) indicado pela seta 5, cefalotina (CFL) indicado pela seta 6, ciprofloxacina (CIP) indicado pela seta 6, sulfametoxazol/trimetoprim (SUT) indicado pela seta 8, amoxicilina/ácido clavulânico (AMC) indicado pela seta 9, ceftriaxona (CRO) indicado pela seta 10, ceftazidima (CAZ) indicado pela seta 11, cloranfenicol (CLO) indicado pela seta 12, aztreonam (ATM) indicado pela seta 13, piperacilina/tazobactam (PIT) indicado pela seta 14, cefalotina (CFL) indicado pela seta 15;

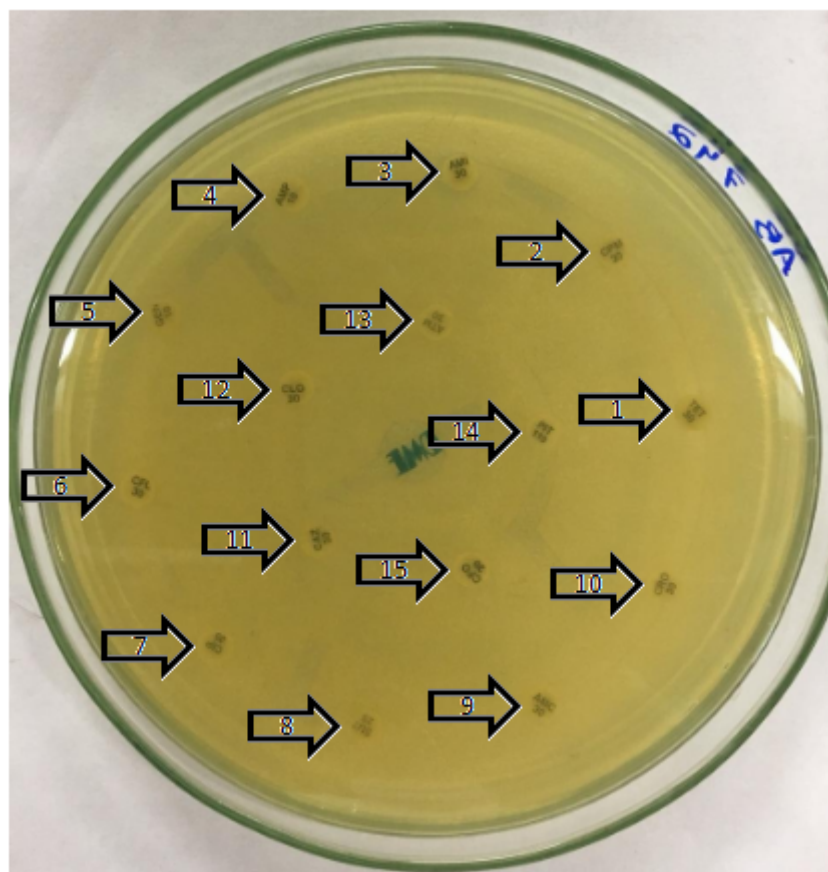


Figura 35: Antibiograma contendo uma placa com quinze discos de antibióticos e uma colônia da cepa AB742. Os discos são referentes a tetraciclina (TET) indicado pela seta 1, cefepime (CPM) indicado pela seta 2, amicacina (AMI) indicado pela seta 3, ampicilina (AMP) indicado pela seta 4, gentamicina (GEN) indicado pela seta 5, cefalotina (CFL) indicado pela seta 6, ciprofloxacina (CIP) indicado pela seta 6, sulfametoxazol/trimetoprim (SUT) indicado pela seta 8, amoxicilina/ácido clavulânico (AMC) indicado pela seta 9, ceftriaxona (CRO) indicado pela seta 10, ceftazidima (CAZ) indicado pela seta 11, cloranfenicol (CLO) indicado pela seta 12, aztreonam (ATM) indicado pela seta 13, piperacilina/tazobactam (PIT) indicado pela seta 14, cefalotina (CFL) indicado pela seta 15;

A tabela a seguir expressa o resultado do antibiograma, sendo os dados interpretados como o diâmetro de cada halo de inibição do crescimento bacteriano ao redor de cada disco. O tamanho do diâmetro do halo é proporcional a sensibilidade do microrganismo ao antibiótico utilizado. Os dados do teste são mensurados em milímetros:

Tabela 02: Aferições do diâmetro do halo do antibiograma para cada cepa

Antibióticos/Cepas	AL6756	AB99B2	AB742
TET(30)	28 mm	16 mm	Não formou halo
SUT((25)	30 mm	Não formou halo	Não formou halo

CIP(05)	29 mm	Não formou halo	Não formou halo
CFL(30)	28 mm	Não formou halo	Não formou halo
GEN(10)	19 mm	10 mm	Não formou halo
AMI(30)	20 mm	Não formou halo	Não formou halo
AMP(10)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
CPM(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
CLO(30)	14 mm	Não formou halo	Não formou halo
CAZ(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
CFO(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
PIT(110)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
ATM(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
CRO(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo
AMC(30)	Não formou halo	Não formou halo	Não formou halo

Visando caracterizar os dados gerados pelo antibiograma, foram utilizadas as tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos, fornecidas pelo BrCAST, como base de comparação e identificação. As informações contidas nas tabelas do BrCAST consideradas relevantes ao estudo foram sintetizadas por meio tabela 03 onde são apresentados os níveis de suscetibilidade da *Acinetobacter* spp. e da Enterobactéria, identificados pelos testes bioquímicos, em relação aos quinze antibióticos utilizados no antibiograma. Logo abaixo é exposto a tabela 03 onde a categoria S representa quantos milímetros o diâmetro do halo deve conter para se estabelecer que a cepa é sensível em exposição ao antimicrobiano em questão, a categoria I representa quantos milímetros o diâmetro do halo deve conter para se estabelecer que a cepa é sensível conforme o aumento da exposição ao antimicrobiano em questão e a categoria R representa quantos milímetros o diâmetro do halo deve conter para se estabelecer que a cepa é resistente ao antibiótico em questão.

Tabela 03: Resistência Intrínseca bacteriana

Cepas/ sens./ant.	A. baumannii			Enterobactéria		
	S	I	R	S	I	R
TET	-	-	-	-	-	-
SUT	14mm	11-13mm	<11mm	14mm	11-13mm	<11mm
CIP	50mm	21-49mm	<21	25mm	22-24mm	<22mm
CFL	-	-	-	-	-	-
GEN	17mm	-	<17mm	17mm	14-16mm	<14mm
AMI	19mm	17-18mm	<17mm	18mm	15-27mm	<15mm
AMP	Não ind.	Não ind.	Não ind.	14mm	-	<14mm
CPM	-	-	-	27mm	24-26mm	<24mm
CLO	-	-	-	17mm	-	<17mm
CAZ	-	-	-	22mm	19-21mm	<19mm
CFO	-	-	-	19mm	-	<19mm
PIT	Não ind.	Não ind.	Não ind.	20mm	17-19mm	<17mm
ATM	-	-	-	26mm	21-25mm	<21mm
CRO	-	-	-	25mm	22-24mm	<22mm
AMC	Não ind.	Não ind.	Não ind.	14mm	-	<14mm

De acordo com os dados expostos na tabela 02 e as informações presentes na tabela 03 (baseada nas informações do BrCAST), a cepa AL6756 apresentou sensibilidade à tetraciclina 30 µg, uma vez que na periferia do disco, contendo este fármaco, apresentou halo de 28 mm, sulfametoxazol/trimetoprim 1,25/23,75 µg com halo de 30 mm, ciprofloxacina 5 µg com halo de 29 mm, cefalotina 30 µg com halo de 28 mm, gentamicina 10 µg com halo de 19 mm, amicacina 30 µg apresentando halo de 20 mm, para os outros antimicrobianos, esta cepa apresentou resistência, incluindo o disco contendo cloranfenicol 30 µg apresentando halo de 14 mm, os outros discos não formaram halo.

A cepa AB99B2 apresentou sensibilidade à tetraciclina 30 µg uma vez que na periferia do disco, contendo este fármaco, apresentou halo de 16 mm, para os outros antimicrobianos esta cepa apresentou resistência, incluindo o disco contendo gentamicina 10 µg com halo de 10 mm, os outros discos não formaram halo.

Por último, a cepa AB742 não apresentou sensibilidade a nenhum antimicrobiano, ou seja, possui resistência a todos os fármacos testados no

experimento, pois não houve formação de halo na periferia de nenhum dos quinze fármacos utilizados no estudo.

De acordo com as informações da tabela 03 e por meio da leitura interpretativa do crescimento em meio de cultura com antibióticos da tabela 02 (LIVERMORE e SHANNON, 2001) é sugerido que o perfil de susceptibilidade apresentado nas cepas bacterianas deste estudo não é decorrente de um mecanismo de resistência isolado, ao contrário, vem da combinação de vários mecanismos, gerando um fenótipo de multirresistência, sendo este comumente encontrado em *Acinetobacter* spp. (YIN et al., 2008).

Dentro deste contexto, por serem cepas bacterianas isoladas e coletadas em ambiente hospitalar, sua apresentação fenotípica é frequentemente encontrada, uma vez que tais ambientes propiciam as condições adequadas para a permutação entre as cepas bacterianas de material genético, principalmente por meio dos capsídeos, que podem gerar tais características multirresistentes (TENNSTEDT et al., 2003). Em relação a *Acinetobacter* spp. é muito frequente suas cepas apresentarem bombas de efluxo, conferindo a essas resistência a muitos antibióticos em especial os aminoglicosídeos, cefotaxima, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, trimetoprim e fluoroquinolonas (POIREL, NAAS e NORDMANN, 2008).

5. CONCLUSÕES

Foram isolados e identificados três cepas provenientes do Hospital Regional Tarcísio Maia, sendo duas cepas classificadas como sendo da espécie *Acinetobacter baumannii* (AB99B2 e AB742) e uma identificada preliminarmente como enterobactéria (AL6756).

Quanto à resistência aos antibióticos, quinze fármacos diferentes foram testados no antibiograma. Como observado, as três colônias, das três respectivas cepas, apresentaram crescimento ou não na presença de diferentes classes de antibióticos. Especificamente, baseando-se nas informações do BrCAST, a cepa AL6756 apresentou resistência a nove tipos de antibióticos e sensibilidade a seis antibióticos; a cepa AB99B2 apresentou-se resistente a treze dos quinze tipos testados e sensível a apenas um antibiótico; por fim a cepa AB742 apresentou

crescimento na presença de todos os quinze tipos de antibióticos, sendo resistente a todos os antimicrobianos utilizados. Concluindo assim que as três cepas são multirresistentes.

6. REFERÊNCIAS

AL-KADMY, Ims. Molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* isolated from Iraqi hospital environment. 2018. 9 f. Tese (Doutorado) - Curso de College Of Science, Department Of Biology, Mustansiriyah University, Baghdad, 2017. Cap. 21.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. 5 ed. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/microbiologia/mod_5_2004.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2020.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. M2-A8: Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8 ed. Brasil: Nccls, 2005. 58 p. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos. 5 ed. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interpretacao.htm>. Acesso em: 15 jan. 2020.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Relatório de Atividades 2009. Brasília: Copyright, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/281258/2742545/Relat%C3%B3rio+de+atividades+2009.pdf/8df089d4-ef3f-4ddf-a62f-fae9a97c2a61>>. Acesso em: 06 maio 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO – RDC N° 174, DE 15 DE SETEMBRO DE 2017: LISTA DE ANTIMICROBIANOS REGISTRADOS NA ANVISA. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017. Disponível em: <https://www.pharmaconnection.com.br/pdfs/170715-rdc_174.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2020.

ARAOS, Rafael; GARCÍA, Patricia; CHANQUEO, Leonardo. Daptomicina: características farmacológicas y aporte en el tratamiento de infecciones por cóceas Gram-positivas. 2012. 20 f. Tese (Doutorado) - Curso de Facultad de Medicina Clínica Alemana, Departamento de Medicina Interna (ra), Universidad del Desarrollo, Santiago, 2012. Disponível em: <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182012000200001&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 20 jan. 20.

ARIYANCHIRA, S.. Overcoming antibiotic-resistant bacteria. 2010. 293 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotechnology, Genetic Engineering, Polybus Consulting, Cingapura, 2010.

AVILA-CAMPOS, Mario Julio. Departamento de Microbiologia. Beta-lactamases: Sua importância na resistência bacteriana. USP, Universidade de São Paulo. 2010. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=57&lang=br>. Acesso em: 20 jan. 2020.

BARCELLOS, Ruy de Almeida et al. Bactérias multirresistentes produtoras de carbapenemase: um problema de saúde pública. Revista Espaço Ciência & Saúde, Cruz Alta, v. 6, n. 2, p.63-75, dez. 2018.

BERGOGNE-BEREZIN, E e Towner, KJ. *Acinetobacter* spp. como patógenos nosocomiais: aspectos microbiológicos, clínicos e epidemiológicos. Clin Microbiol Rev . 1996 ; 9 : 148–165.

BISWAS, Indranil; RATHER, Philip N.. *Acinetobacter baumannii* Methods and Protocols. Hertfordshire: Humana Press, 2019. 338 p.

CARVALHEIRA, Ana et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* spp. isolated from meat. International Journal Of Food Microbiology, [s.l.], v. 243, p.58-63, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.001>.

CDC. Center Disease Control and Prevention. Healthcare-associated Infections: Data and Statistics. [acesso 2015 Set 13]. Disponível em:<<https://www.cdc.gov/hai/surveillance/index.html>>.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S28. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute 2019.

EUA, Estados Unidos da América. Biblioteca Nacional de Medicina dos Eua. Centro Nacional de Informação Biotecnológica. Quinupristina e dalfopristina. Bethesda, 2020. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quinupristin-and-dalfopristin#section=Information-Sources>>. Acesso em: 20 jan. 20.

EVEILLARD M., Soltner C., Kempf M., JP Saint-Andre, Lemarie C., Randrianarivelo C. A variabilidade de virulência de diferentes estirpes de *Acinetobacter baumannii* em pneumonia experimental. *J Infect.* 2010; 60 : 154–161.

FLEMING A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol.* 1929;10(3):226–236.

GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. 2010. 13 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v33n3/35.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

HALEY, RW, Culver DH. The nationwide nosocomial infection rate: a new need for vital statistic. *Am J Epidemiol* 1985; 121:159.

HAN, Mei-ling. Metabolic Analyses Revealed Time-Dependent Synergistic Killing by Colistin and Aztreonam Combination Against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers In Microbiology*, [s.i.], v. 9, n. 2776, p.01-12, 16 nov. 2018.

HITONE TECHNOLOGY. Teicoplanina CAS NO.61036-62-2 C77H77N9O31Cl2: Antibióticos. 2015. Disponível em: <<http://hitonetech-com.sell.everychina.com/p-106729847-teicoplanin-cas-no-61036-62-2-c77h77n9o31cl2-antibiotics.html>>. Acesso em: 20 jan. 20.

KANEHISA, M., and Goto, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000 ; 28, 27–30.

KARAGEORGOPOULOS, DE e Falagas, ME Controle atual e tratamento de infecções por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes . *Lancet Infect Dis* . 2008 ; 8 : 751–762.

KARP, P. D., Ouzounis, C. A., Moore-Kochlacs, C., Goldovsky, L., Kaipa, P., Ahrén, D., et al. (2005). Expansion of the biocyc collection of pathway/genome databases to 160 genomes. *Nucleic Acids Res.* 33, 6083–6089.

KIM, Uh Jin; KIM, Hee Kyung; AN, Joon Hwan. Update on the Epidemiology, Treatment, and Outcomes of Carbapenem-resistant *Acinetobacter* infections. 2014.

8 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicine, Department Of Infectious Diseases, Chonnam National University Medical School, Gwangju, 2014.

KONEMAN, M.; Learning with hypermedia: the germ ware hypermedia learning system bacteriology. 1997.

KOVACIC, Ana. Transmission and survival of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* outside hospital setting. 2017. 5 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicine, Institute Of Public Health Of Split And Dalmatia Country, Split, Croatia, Split, 2017. Disponível em: <http://revistes.iec.cat/index.php/IM/article/viewFile/144199/pdf_1358>. Acesso em: 05 maio 2019.

LABEYOND CHEMICALS (China). Sulfato de estreptomicina. 2011. Disponível em: <<http://www.labeyond.com/pt/streptomycin-sulfate.html>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

LABORCLIN (Paraná). Manual para ANTIBIOGRAMA: Difusão em Disco (Kiry & Bauer). Pinhais: Laborclin Produtos Para Laboratórios Ltda, 2011. 29 p.

LABORATORY CORPORATION OF AMERICA. VANCOMICINA. 2016. 20 p. Disponível em: <http://www.biolider.com.br/media/images/00003024_VANCOMICINA.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2020.

LETUNIC, I., Yamada, T., Kanehisa, M., and Bork, P. iPath: interactive exploration of biochemical pathways and networks. Trends Biochem. Sci. 2012 ; 33, 101–103.

LIVERMORE DM, Winstanley TG, SHANNON KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 48:87-102, 2001.

MACFADDIN, Jean F. Mac. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Eua: Lippincott, 2000. 912 p.

MEDEIROS, Micheli; LINCOPAN, Nilton. *Acinetobacter baumannii*, produtor de oxacilinase (OXA), no Brasil: impacto clínico e ambiental e opções terapêuticas. J. Bras. Patol. Med. Lab. Rio de Janeiro, v. 49, n. 6, p. 391-405, dezembro de 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442013000600003&lng=en&nrm=iso>. acesso em 11 jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442013000600003>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: Técnica de Coloração de GRAM. 1 ed. Brasília: Telelab, 2001. 67 p.

MURRAY, Patrick R.. Microbiologia Médica. 7. ed. Elsevier Health Education, 2014. 1808 p.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Comitê de Especialistas da OMS para a seleção e uso de medicamentos essenciais. 2019. 330 p. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/UNEDITED_TRS_2019_EC22_Sept.pdf?ua=1>. Acesso em: 17 jan. 2020.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Overcoming Antimicrobial Resistance. Genebra: WHO; 2000.

PEREIRA-MAIA, Elene Cristina; SILVA, Priscila Pereira; ALMEIDA, Wagner Batista de. TETRACICLINAS E GLICILCICLINAS: UMA VISÃO GERAL. 2009. 7 f. Tese (Doutorado) - Curso de Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v33n3/38.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 20.

PFALLER, M.a. et al. Comparison of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of the echinocandins against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, [s.l.], v. 73, n. 4, p.365-368, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.05.008>.

POIREL L, NAAS T, NORDMANN P. Genetic support of extended-spectrum b-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection* 14: 75-81, 2008.

QUEENAN AM, Bush K. carbapenemases: The versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:440-58.

QUEIROZ, Geisiany Maria de et al. Multirresistência microbiana e opções terapêuticas disponíveis. *Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, Araraquara, v. 10, n. 2, p.132-138, mar. 2012. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2012/v10n2/a2783.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2020.

RADÓ, Júlia et al. First isolation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from an environmental sample. *Acta Microbiologica Et Immunologica Hungarica*, [s.l.], v. 66, n. 1, p.113-130, mar. 2019. Akademiai Kiado Zrt.. <http://dx.doi.org/10.1556/030.66.2019.004>.

REZENDE, Luis Gustavo P.; PRADO, Vânia M. do; ROCHA, Robson S.. Degradação eletroquímica do cloranfenicol em reator de fluxo. 2010. 5 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Engenharia Mecânica, Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v33n5/15.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

RICHET HM, Mohammed, J. MCDONALD, LC e JARVIS, WR. Construindo redes de comunicação: rede internacional para o estudo e prevenção da resistência antimicrobiana emergente. *Emerg Infect Dis* . 2001 ; 7 : 319–322.

RODRIGUES TS, Santos AMR, Lima PC, Moura MEB, Goiano PDOL, Fontinele DRS. Resistência Bacteriana á Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa. *Rev Pre Infec e Saúde*[Internet]. 2018;4:7350. Available from: <http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/6892>

RODRIGUES-SILVA, Caio. Departamento de Saneamento e Ambiente. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. 2014. 50 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=165>. Acesso em: 20 jan. 2020.

ROBINSON, John Anthony. Folded Synthetic Peptides and Other Molecules Targeting Outer Membrane Protein Complexes in Gram-Negative Bacteria. 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30788339>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

RODRIGUES TS, Santos AMR, Lima PC, Moura MEB, Goiano PDOL, Fontinele DRS. Resistência Bacteriana a Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa.

SISMOTTO, Marcela; PASCHOAL, Jonas Augusto Rizzato. Aspectos analíticos e regulatórios na determinação de resíduos de macrolídeos em alimentos de origem animal por cromatografia líquida associada à espectrometria de massas. 2013. 66 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013000300016>. Acesso em: 20 jan. 2020.

SBQ, Sociedade Brasileira de Química (Rio de Janeiro). Penicilina G. 2009. Disponível em:

<http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=lyQzWsCfZW2orcNLT L9x4YfxKyaEmMYNJlwJxhwLhSc_0BjtuCe27gjf23tAcxWtnnXJQjsMCGeaxWtXIS8z Fg==>. Acesso em: 20 jan. 20.

SBQ, Sociedade Brasileira de Química (Rio de Janeiro). Sulfanilamida. 2009. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=UPVHs9Y04NhLjtjvGO bL_v-pCd_voY6-ta6r-ILOE_MGmjLxVK_ljihC86oxhw2EW9MRDNu-eAXDiebv-QE6x Q==>. Acesso em: 20 jan. 20.

SEIFERT, H, Schulze, A, Baginski, R, e Pulverer, G. impressões digitais de ADN de plasmídeo de *Acinetobacter* outras espécies de *Acinetobacter baumannii* . J Clin Microbiol . 1994 ; 32 : 82–86

SMITH, C. A., Want, E. J., O'maille, G., Abagyan, R., and Siuzdak, G. XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification. Anal. Chem. 2006 ; 78, 779–787.

TENNSTEDT T, Szczepanowski R, Braun S, Pühler A, Schlüter A. Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. FEMS Microbiology Ecology 45:239-252, 2003.

UJVARI, Stefan Cunha. A história da disseminação dos microrganismos. 2008. 12 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Hospital Alemão Oswaldo Cruz, São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v22n64/a11v2264.pdf>>. Acesso em: 01 jan. 2020.

VAN LOOVEREN M, Goosens H, ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. Clin Microbiol Infect 2004;10(8):684-704.

VEGASA, Elsa Zuleima Salazar de; NIEVES, Beatriz. *Acinetobacter* spp.: Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología, Caracas, v. 25, n. 2, p.178-191, dez. 2005. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199416579003>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

XIA, J., Sinelnikov, I. V., Han, B., and Wishart, D. S. Metaboanalyst 3.0- making metabolomics more meaningful. Nucleic Acids Res. 2015 ; 43, W251–W257.

YIN XL, Hou TW, Xu SB, Ma CQ, Yao ZY, Li W, Wei L. Detection of Drug ResistanceAssociated Genes of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Drug Resistance* 14:145-150, 2008.