



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

MARCILEIDE ALMEIDA AMARAL

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE *ACINETOBACTER* SPP.
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS PROVENIENTES DE AMOSTRAS
CLÍNICAS HOSPITALARES DE MOSSORÓ-RN**

MOSSORÓ

2023

MARCILEIDE ALMEIDA AMARAL

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE ACINETOBACTER SPP.
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS PROVENIENTES DE AMOSTRAS
CLÍNICAS HOSPITALARES DE MOSSORÓ-RN**

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

Orientador: Nome Completo, Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires

MOSSORÓ

2023

© Todos os direitos estão reservados a 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 tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Aa485 Amaral, Marcileide Almeida.
c Caracterização fenotípica e molecular de
 Acinetobacter spp. resistentes aos carbapenêmicos
 provenientes de amostras clínicas hospitalares de
 Mossoró-RN / Marcileide Almeida Amaral. - 2023.
 50 f. : il.

 Orientador: Caio Augusto Martins Aires.
 Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
2023.

 1. Acinetobacter spp.. 2. Infecções
Relacionadas à Assistência à saúde. 3. Resistência
antimicrobiana. I. Aires, Caio Augusto Martins ,
orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

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.

MARCILEIDE ALMEIDA AMARAL

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE *ACINETOBACTER* SPP.
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS PROVENIENTES DE AMOSTRAS
CLÍNICAS DE UM HOSPITAL EM MOSSORÓ-RN**

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

Defendida em: 11 / 10 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 CAIO AUGUSTO MARTINS AIRES
Data: 13/10/2023 13:00:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires (UFERSA)
Presidente

Documento assinado digitalmente
 FRANCISCO MARLON CARNEIRO FEIJÓ
Data: 13/10/2023 16:00:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó (UFERSA)
Membro Examinador interno

Documento assinado digitalmente
 KALIDY JAMAYRA OLIVEIRA REIS DE FREITAS
Data: 20/10/2023 13:20:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Msc. Kalidyjamayra Oliveira Reis de Freitas (SESAP-RN)
Membro Examinador externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois todas as pessoas e coisas foram colocadas em minha vida por Ele.

Agradeço aos meus pais, Maria das Graças Teixeira de Almeida e Macilone Almeida do Amaral, pelo suporte emocional e financeiro que tornaram possível minha permanência no curso.

Agradeço a minha avó, Maria Hilda Teixeira de Almeida, que me inspirou a cultivar o hábito da leitura ainda na infância. Nenhuma das realizações obtidas até aqui seria possível sem isso.

Agradeço ao Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires por todos os ensinamentos, mas principalmente pela paciência e empatia na hora de realizar correções, sejam elas de conduta ou de textos acadêmicos.

Agradeço à Banca Examinadora pela disponibilidade para participar desse momento, em especial ao Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó, meu primeiro orientador de iniciação científica.

Agradeço a toda equipe que fez parte do Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (LABMIC-UFERSA) entre os anos de 2020 e 2023. Com este agradecimento geral me eximo da possibilidade de esquecer de citar o nome de pessoas que contribuíram para a realização do trabalho, mas que não me recordo neste momento ou desconheço o nome completo.

Agradeço aos técnicos de laboratório do prédio Biomédicas I, aos profissionais de limpeza e segurança que contribuíram de forma direta ou indireta para que eu pudesse realizar os experimentos corretamente, em um ambiente higiênico e no qual me sentia segura.

Agradeço a meu amigo Luís Gustavo de Oliveira Santo por ouvir minhas incessantes reclamações durante os dias mais atribulados desta graduação.

Quem de vocês, por mais que se preocupe, pode acrescentar uma hora que seja à sua vida? Por que vocês se preocupam com roupas? Vejam como crescem os lírios do campo. Eles não trabalham nem tecem. Contudo, eu digo que nem Salomão, em todo o seu esplendor, vestiu-se como um deles. Se Deus veste assim a erva do campo, que hoje existe e amanhã é lançada ao fogo, não vestirá muito mais a vocês, homens de pequena fé? Portanto, não se preocupem, dizendo: 'Que vamos comer?' ou 'Que vamos beber?' ou 'Que vamos vestir?' Pois os pagãos é que correm atrás dessas coisas; mas o Pai celestial sabe que vocês precisam delas. Busquem, pois, em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça, e todas essas coisas serão acrescentadas a vocês. Portanto, não se preocupem com o amanhã, pois o amanhã trará as suas próprias preocupações. Basta a cada dia o seu próprio mal.

Mateus 6, 27-34

RESUMO

Acinetobacter spp. abrange patógenos oportunistas considerados de grande interesse do ponto de vista clínico. *Acinetobacter baumannii*, principal representante do gênero, é frequentemente descrita como causadora de infecções relacionadas à assistência à saúde. Por possuírem resistência antimicrobiana intrínseca a diversas drogas e propensão a adquirir mecanismos exógenos de resistência, esses microrganismos comprometem a qualidade dos sistemas de saúde a nível global. Tendo em vista a necessidade de vigilância sobre esse patógeno para a elaboração de medidas de contenção de surtos hospitalares, o objetivo deste estudo foi determinar o perfil fenotípico e genotípico de resistência em isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. de um hospital de Mossoró-RN. Um total de 48 isolados identificados como *Acinetobacter* spp. e resistentes a pelo menos um carbapenêmico, bem como seus respectivos dados, foram coletados entre 2019 e 2023. Para confirmar a identificação dos isolados foi realizada a detecção do gene *bla*_{OXA-51}, intrínseco de *A. baumannii*. O perfil de resistência foi determinado por meio do Teste de disco-difusão em ágar (Kirby-Bauer). Os genes de carbapenemases foram identificados através da técnica de PCR. Foi possível observar que a maioria dos isolados foi oriunda de aspirado traqueal e fragmento de lesão. Além das altas taxas de resistência para os carbapenêmicos e cefalosporinas, foram detectadas altas taxas de resistência acima de 70% para todas as outras classes testadas. O gene de resistência mais prevalente foi o *bla*_{OXA-23}. Também foram detectados os genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} e *bla*_{OXA-143}. Em alguns isolados foi detectado mais de um gene codificante de carbapenemases. Portanto, esses dados reafirmam que *Acinetobacter* spp. é um gênero bacteriano disseminado em ambientes hospitalares que apresenta alta capacidade de obtenção de mecanismos de resistência a diversos antimicrobianos, tornando cada vez mais escassas as alternativas terapêuticas para o tratamento. Por isso, medidas de vigilância e contenção desses patógenos são necessárias.

Palavras-chave: *Acinetobacter* spp., Infecções Relacionadas à Assistência à saúde, Resistência antimicrobiana

ABSTRACT

Acinetobacter spp. encompasses opportunistic pathogens considered of great clinical interest. *Acinetobacter baumannii*, the main representative of the genus, is often described as a cause of healthcare-associated infections. Due to their intrinsic antimicrobial resistance to various drugs and propensity to acquire exogenous resistance mechanisms, these microorganisms compromise the quality of healthcare systems globally. Considering the need for surveillance of this pathogen to develop measures for containing hospital outbreaks, the objective of this study was to determine the phenotypic and genotypic resistance profile in clinical isolates of *Acinetobacter* spp. from a hospital in Mossoró-RN. A total of 48 isolates identified as *Acinetobacter* spp. and resistant to at least one carbapenem, along with their respective data, were collected between 2019 and 2023. To confirm the identification of the isolates, the *bla*_{OXA-51} gene, intrinsic to *A. baumannii*, was detected. The resistance profile was determined through the agar disk diffusion test (Kirby-Bauer). Carbapenemase genes were identified using the PCR technique. It was observed that most isolates originated from tracheal aspirate and lesion fragments. In addition to high resistance rates for carbapenems and cephalosporins, high resistance rates above 70% were detected for all other tested classes. The most prevalent resistance gene was *bla*_{OXA-23}. The genes *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, and *bla*_{OXA-143} were also detected. Multiple isolates were found to have more than one carbapenemase-encoding gene. Therefore, these data reaffirm that *Acinetobacter* spp. is a widespread bacterial genus in hospital environments with a high capacity to acquire resistance mechanisms against various antimicrobials, making therapeutic alternatives increasingly scarce. Hence, surveillance and containment measures for these pathogens are necessary.

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

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Ilustração dos procedimentos de coleta de dados, processamento e armazenamento de amostras	29
Figura 2	– Ilustração da realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos por disco-difusão	30
Figura 3	– Ilustração dos procedimentos de extração do DNA, das técnicas de PCR e eletroforese e da visualização das bandas obtidas.....	32
Figura 4	– Foto do gel de agarose demonstrando a presença dos fragmentos correspondentes ao tamanho dos genes <i>bla</i> _{OXA-51} (353-pb) e <i>bla</i> _{OXA-23} (501-pb).	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	–	Distribuição dos isolados clínicos por setor hospitalar	33
Gráfico 2	–	Distribuição de isolados de acordo com o sítio infeccioso de origem	34
Gráfico 3	–	Perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados estudados	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Oligonucleotídeos utilizados para detecção dos genes de carbapenemases	31
Tabela 2	–	Detecção de genes de resistência por ano de isolamento...	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AMI	Amicacina
BHI	Brain Heart Infusion
BrCAST	Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
CAZ	Ceftazdima
CCBS	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIP	Ciprofloxacina
CM	Clínica Médica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EUA	Estados Unidos da América
FEP	Cefepime
GEN	Gentamicina
IMP	Imipenem
IPCS	Infecção Primária de Corrente Sanguínea
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
IS	Sequências de Inserções
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
LABMIC	Laboratório de Microbiologia Clínica
LACEN-PR	Laboratório Central do Estado do Paraná
LABMIC	Laboratório de Microbiologia Clínica
MBLs	Metallo- β -lactamases
MER	Meropenem
NDM	Nova Delhi Metallo- β -lactamase
NHSN	National Healthcare Safety Network
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxacilinas
PAV	Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica

PBPs	Proteínas de Ligação à Penicilina
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SUT	Sulfametoxazol/Trimetoprim
TBE	Tris/Borato/EDTA
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UPI	Unidade de Pacientes Infectados
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta
VDH	Virginia Department of Health
VIM	Verona Imipemenase

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
μl	Microlitros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	GESTÃO DO CONHECIMENTO (GC)	17
2.1	Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS).....	17
2.2	Características de <i>Acinetobacter</i> spp.....	18
2.3	Resistência aos carbapenêmicos em <i>Acinetobacter</i> spp.....	20
2.4	Distribuição global das carbapenemases em <i>Acinetobacter</i> spp.....	21
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo geral.....	26
3.2	Objetivos específicos.....	26
4	METODOLOGIA.....	27
4.1	Tipo de estudo.....	27
4.2	Área de Estudo.....	27
4.3	População de estudo.....	27
4.4	Considerações Éticas.....	27
4.5	Coleta dos isolados e dados.....	28
4.6	Processamento e armazenamento das amostras.....	28
4.7	Testes de sensibilidade aos antimicrobianos.....	29
4.8	Extração do Ácido desoxirribonucleico (DNA) e detecção dos genes de resistência.....	30
5	RESULTADOS.....	33
6	DISCUSSÃO.....	36
7	CONCLUSÃO.....	39
8	REFERÊNCIAS	40
9	ANEXOS.....	50

1 INTRODUÇÃO

As Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são um desafio para os sistemas de saúde em todo o mundo. Essas infecções comprometem a qualidade dos serviços de assistência à saúde, ameaçam a segurança dos pacientes e são capazes de elevar as taxas de morbimortalidade (FERREIRA *et al.*, 2020). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classifica como IRAS, além das infecções hospitalares, todas as infecções adquiridas por pacientes que estão recebendo serviços de assistência à saúde em clínicas e domicílios (ANVISA, 2021).

As bactérias são os principais microrganismos causadores de IRAS. Dentre elas, espécies descritas como agentes patogênicos de IRAS pertencentes ao gênero bacteriano *Acinetobacter* spp., com destaque para *A. baumannii*, podem elevar o risco de mortalidade em até 40% nos pacientes imunocomprometidos (PELEG *et al.*, 2008, CARVALHEIRA, 2021). Esse aumento se deve à capacidade dos isolados *Acinetobacter* spp. de apresentar resistência aos antimicrobianos geralmente prescritos pelos médicos como primeira opção ao tratar doenças infecciosas, a exemplo dos carbapenêmicos, o que diminui as alternativas terapêuticas (NORDMANN, 2019).

Bactérias pertencentes a *Acinetobacter* spp. podem possuir resistência aos antimicrobianos por mecanismos intrínsecos ou adquiridos. O mecanismo que permite a maior disseminação de resistência aos carbapenêmicos é a transferência horizontal de elementos genéticos que codificam enzimas carbapenemases (RAMIREZ, 2020). Os genes codificantes de carbapenemases mais comuns encontrados em *Acinetobacter* spp. são os dos grupos *bla*_{OXA} (Oxacilinase), *bla*_{NDM} (Nova Delhi Metallo-β-lactamase), *bla*_{IMP} (Imipenemase) e *bla*_{VIM} (Verona imipenemase). Embora seja menos recorrente, também é possível detectar genes *bla*_{KPC} (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) (VÁZQUEZ *et al.*, 2020).

Diante da redução da eficácia dos antimicrobianos disponíveis no mercado sobre os patógenos causadores de IRAS, é preciso conhecer as suas características fenotípicas e genotípicas de resistência antimicrobiana. Dados obtidos na pesquisa de Menezes e colaboradores (2016) levaram à conclusão de que a falta de políticas hospitalares de monitorização de infecções favorece a disseminação de IRAS. Por isso, são incentivados estudos de vigilância para a elaboração de medidas efetivas de prevenção e controle (WHO, 2017).

Desta forma, este trabalho visa caracterizar o perfil fenotípico de isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de amostras clínicas hospitalares de Mossoró-RN utilizando

o teste de sensibilidade aos antimicrobianos por disco-difusão (BAUER *et al.*, 1966). Além de determinar o perfil genotípico por meio da investigação da presença de genes relacionados à resistência aos carbapenêmicos com auxílio das técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e eletroforese em gel de agarose (MULLIS *et al.*, 1986, LEE *et al.*, 2012).

2 GESTÃO DO CONHECIMENTO (GC)

2.1 Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) são classificadas como Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) as infecções que acometem pacientes em decorrência de procedimentos de assistência à saúde, seja nos ambientes hospitalares, clínicos e até mesmo domiciliares. Essas infecções podem ser desencadeadas por fatores endógenos e exógenos (ANVISA, 2021b).

Em relação aos fatores endógenos, pode ocorrer um desequilíbrio entre a microbiota normal e os microrganismos invasores em pacientes imunocomprometidos, submetidos a procedimentos invasivos ou a terapias antimicrobianas de longo período (SARTOR, 2021). Quanto aos fatores exógenos pode-se citar microrganismos vindos do ambiente como água, alimentos, ar, animais e superfícies além dos microrganismos adquiridos do contato com acompanhantes, profissionais da saúde e outros pacientes (ANVISA, 2017).

A contaminação cruzada é considerada uma das principais rotas de transmissão de IRAS. Esse tipo de contaminação pode ocorrer a partir do contato direto do paciente infectado com o paciente susceptível, por meio do compartilhamento de objetos usados em procedimentos de assistência à saúde que não foram esterilizados adequadamente e pelo contato físico com profissionais da saúde ou visitantes contaminados (MACIEL, 2021).

As IRAS ameaçam a segurança dos pacientes, uma vez que, são capazes de elevar as taxas de morbimortalidade, os custos de hospitalização e o tempo de permanência (FERREIRA *et al.*, 2020). Segundo Souza *et al.* (2015), no Brasil, a pequena quantidade de estudos disponíveis impossibilita dimensionar de forma precisa a magnitude do problema, porém, é possível encontrar na literatura taxas de ocorrência de IRAS entre pacientes internados que remontam 13% (SOUZA *et al.*, 2015).

Um fator que pode agravar ainda mais a situação de um paciente acometido por IRAS é a resistência antimicrobiana emergente nos principais gêneros de patógenos causadores dessas infecções. A resistência antimicrobiana nos ambientes de assistência à saúde pode ser

atribuída ao uso exacerbado de antimicrobianos que gera uma pressão seletiva selecionando os microrganismos que possuem resistência intrínseca ou adquirida (SOUZA, 2021).

De acordo com Costa *et al.* (2019), as bactérias são as principais responsáveis pelas IRAS em detrimento de fungos e vírus. Os gêneros bacterianos frequentemente descritos como causadores de IRAS em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) são bactérias oportunistas. Esta nomenclatura lhes é atribuída devido a sua menor capacidade de trazer riscos a indivíduos saudáveis, porém, representam um grande risco para pacientes imunocomprometidos (LABNHOMÉ, 2020).

Um dos grupos bacterianos de maior destaque nesse contexto é o grupo de patógenos “ESKAPE” composto por *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*, que por apresentarem fatores de virulência e resistência antimicrobiana foram incluídos na lista de patógenos prioritários para a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes antibacterianos publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (ROSA *et al.*, 2020).

Conforme é possível inferir com o estudo de Menezes *et al.* (2016) uma das principais vulnerabilidades dos sistemas de saúde que favorece a disseminação dessas infecções é a falta de uma política hospitalar de monitorização de infecções hospitalares comprovado pelos baixos índices de realização de cultura de microrganismos e antibiogramas. Por isso, é preciso realizar estudos que obtenham dados acerca das características fenotípicas e genotípicas dos patógenos causadores dessas infecções, em especial os considerados “Prioridade 1 - Crítica” pela OMS, como *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, para a elaboração de medidas adequadas para prevenção e controle de IRAS (WHO, 2017).

2.2 Características de *Acinetobacter* spp.

Reconhecido como gênero bacteriano apenas em 1971 a partir dos estudos de Bauman *et al* (1968), *Acinetobacter* spp., contava inicialmente com uma única espécie descrita, a *A. calcoaceticus*. Na atualidade pertencem a esse gênero 63 espécies bastante diversas de microrganismos cocobacilares. Essas bactérias são Gram-negativas, possuem uma parede celular composta por uma fina camada de peptidoglicano rodeada por uma membrana lipídica externa que contribui para sua resistência a muitos antimicrobianos (MEGRAN *et al.*, 2020). Além disso, são aeróbios, não fermentadoras, imóveis, produtoras de catalases, oxidase-negativas (PELEG *et al*, 2008, LPSN, 2020).

As bactérias do gênero *Acinetobacter* spp. são capazes de sobreviver em diversos ambientes, podendo ser isoladas na natureza em amostras de solo, águas residuais, vegetais e

até mesmo na pele de humanos e animais (DANDACHI, 2019). Em sua maioria os representantes de *Acinetobacter* spp. não são patogênicos, porém as espécies do complexo *A. calcoaceticus-baumannii*, composto por *A. baumannii*, *A. pittii* e *A. nosocomialis* emergiram como patógenos oportunistas capazes de infectar humanos (VIJAYAKUMAR, 2019).

Os representantes patogênicos de *Acinetobacter* spp. estão relacionados principalmente à IRAS (CARVALHEIRA, 2021). Devido à característica de resistir longos períodos sem contato com fontes de água e nutrientes, somada a aptidão na produção de biofilme e resistência intrínseca a alguns desinfetantes, esses microrganismos podem persistir de três dias a cinco meses no ambiente hospitalar, aumentando o risco de ocasionarem infecções e surtos hospitalares (KRAMER *et al.*, 2006, ROCA *et al.*, 2012).

A transmissão desses patógenos ocorre por contato direto, passando do indivíduo infectado ou colonizado para o indivíduo suscetível, ou contato indireto, por meio de objetos inanimados que atuam como reservatório. Na literatura, é relatado o acúmulo de *Acinetobacter* spp. em superfícies, equipamentos de proteção individual (EPI), dispositivos e instrumentos médicos (QUEIROZ *et al.*, 2022).

Conforme o *Virginia Department of Health* (VDH), *Acinetobacter* spp. pode causar pneumonias, infecções na corrente sanguínea e no trato urinário. Apesar da baixa probabilidade de causarem infecções em pessoas saudáveis, representa um grande risco para pessoas com doenças crônicas, sistema imune debilitado e pacientes hospitalizados. Sobretudo os que possuem feridas abertas, usam dispositivos invasivos, ventiladores mecânicos de suporte respiratório ou permanecem longos períodos em ambiente hospitalar. Os sintomas das infecções causadas por *Acinetobacter* spp. surgem entre 4 e 40 dias após a exposição à bactéria, embora geralmente ocorram por volta do 12º dia (VDH, 2018).

Na Europa, o *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) publicou um documento em 2019 no qual consta que *Acinetobacter* spp. esteve entre os 10 microrganismos mais frequentemente isolados em episódios de infecção da corrente sanguínea adquirida na UTI representando 1,9 % do total de 5.146 bactérias identificadas.

De acordo com relatório do Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde de nº 30 da ANVISA (2022), *Acinetobacter* spp. ocupou a segunda posição entre os microrganismos Gram-negativos mais isolados em UTI adulto para Infecção Primária de Corrente Sanguínea Laboratorial (IPCSL) no ano de 2022, levando em consideração os estados brasileiros exceto São Paulo, que não foi incluído no boletim disponibilizado pela ANVISA. Reafirmando a importância clínica desse grupo de microrganismos que representa um grande desafio para profissionais e sistemas de saúde.

Dados disponibilizados *National Healthcare Safety Network* (NHSN) evidenciam que dos 224 isolados de *Acinetobacter* spp. identificados desencadeando IRAS durante o ano de 2020, nos seis estados dos EUA que disponibilizaram dados considerados suficientes para análise, aproximadamente 40% eram resistentes aos antimicrobianos carbapenêmicos.

Em informações disponibilizadas pelo Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR), analisando isolados recebidos de hospitais de cinco estados brasileiros, foi registrado aumento de 130% no envio de isolados de *A. baumannii* comparando os primeiros trimestres de 2019 e 2021. Embora os carbapenêmicos continuem sendo a primeira escolha para o tratamento de infecções causadas por esses microrganismos, quase todos esses isolados apresentaram resistência a esses antimicrobianos (ANVISA, 2021). Demonstrando que a eficácia dessa classe antimicrobiana está sendo comprometida devido ao surgimento de resistência em *Acinetobacter* spp..

2.3 Resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* spp.

Os carbapenêmicos são antimicrobianos do grupo dos β -lactâmicos que agem interrompendo a síntese adequada do peptidoglicano, enfraquecendo assim a parede celular bacteriana e levando à morte da bactéria (TOOKE, 2019). O uso frequente de carbapenêmicos para o tratar de infecções por *A. baumannii* gerou uma pressão seletiva que levou ao aumento da incidência de resistência a esses antimicrobianos (SILVA *et al.*, 2021).

Os mecanismos de resistência aos antimicrobianos podem ser não enzimáticos e enzimáticos (SILVA *et al.*, 2021). Entre os mecanismos não enzimáticos tem-se mutações que alteram o nível de produção ou diminuem a afinidade de ligação de Proteínas de Ligação à Penicilina (PBPs); expressão diferencial de canais de porina; elevada expressão de bombas de efluxo sendo a adeABC, composta por AdeA — proteína de fusão de membrana; AdeB — canal proteico da membrana interna e AdeC — canal proteico da membrana externa, a mais estudada e que apresenta forte associação com a resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii* (XU *et al.*, 2019, JU *et al.*, 2021).

Quanto aos mecanismos enzimáticos tem-se a produção de β -lactamases, enzimas que catalisam a hidrólise de antimicrobianos β -lactâmicos e podem ser divididas em classes A, B, C e D pelo sistema de classificação de Ambler com base em diferenças no mecanismo hidrolítico. Sendo as principais relacionadas à resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii* as de classe A, B e D (NORDMANN *et al.*, 2019).

Kyriakidis e colaboradores (2021) relatam que as β -lactamases de Classe A são descritas como mediadoras de resistência à penicilina, cefalosporinas, monobactâmicos e

carbapenêmicos em *A. baumannii* sendo subdivididas quanto ao espectro. As de espectro estreito são ativas, principalmente contra penicilinas, enquanto as de espectro estendido (ESBLs) podem hidrolisar cefalosporinas, como ceftazidima, ceftriaxona e aztreonam. São disseminadas por meio de plasmídeos e outros elementos genéticos móveis sendo codificadas por genes como *bla*_{TEM-92}, *bla*_{SHV}. As β -lactamases de classe A com capacidade hidrolítica para os carbapenêmicos são denominadas carbapenemases, dentre elas, KPC, é uma das mais importantes, codificada pelo gene *bla*_{KPC} (KYRIAKIDIS, 2021).

Metallo- β -lactamases (MBLs), como são conhecidas as enzimas pertencentes à Classe B, podem ser codificadas por DNA móvel (plasmídeos, integrons) e recebem esse nome por necessitarem da presença de zinco ou outro metal pesado para realizarem a catálise hidrolítica. Degradam praticamente todos os β -lactâmicos, com exceção dos monobactâmicos. Dentre as MBLs descritas em *A. baumannii*, tem-se NDM (Nova Delhi Metallo- β -lactamase), IMP (imipenemases) e VIM (Verona imipenemase) (CORNAGLIA *et al.*, 2011; Bassetti *et al.*, 2020).

A classe C engloba cefalosporinas codificadas cromossomicamente intrínsecas ao *A. baumannii*. Costumam conferir resistência significativa apenas quando superexpressas sob influência de sequências de inserções (IS), elementos transponíveis curtos que são repetidos múltiplas vezes ao longo do genoma. As IS mais importantes são *ISAbal* e *ISAbal25* a montante do gene codificador *bla*_{ADC}, anteriormente conhecido como *bla*_{AmpC} (HAMIDIAN *et al.*, 2019; AMBROSE *et al.*, 2022; NOEL, 2022).

Também chamadas de oxacilinasas (OXA), as β -lactamases de classe D, não são inibidas pelo ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam, mas podem ser inibidas *in vitro* pelo cloreto de sódio a uma concentração de 100 mM. Dependem de serina, como as classes A e C. São codificadas por genes *bla*_{OXA}, incluindo *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-24/40} e *bla*_{OXA-143} e podem ser encontrados tanto no cromossomo quanto nos plasmídeos e constituem o principal mecanismo de resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii*. Essas enzimas possuem muitas variantes com pequenas alterações nas sequências de aminoácidos que as agrupam em diferentes famílias, por isso a terminação *like* é dada ao grupo enzimático (GUPTA, 2022).

2.4 Distribuição global das carbapenemases em *Acinetobacter* spp.

As enzimas do grupo KPC foram inicialmente relatadas em 2001 em um isolado clínico de *K. pneumoniae* coletado no estado da Carolina do Norte, EUA, em 1996 (YIGIT *et al.*, 2001). A disseminação rápida e eficiente dos genes *bla*_{KPC} se deve à sua localização usual

em plasmídeos conjugativos (CHEN *et al.*, 2013; HO *et al.*, 2013). Existem numerosos relatos de *A. baumannii* carregando genes *bla*_{KPC} encontradas em estudos com isolados clínicos em países como Porto Rico, Brasil, Irã e Arábia Saudita (ROBLEDO *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2016; AZIMI *et al.*, 2016; ALAMRI *et al.*, 2019). Na Europa, o primeiro isolado de *A. baumannii* produtor de KPC-3 em Portugal foi identificado em um Centro Hospitalar Universitário Terciário por Caneiras e colaboradores em 2018. Nos EUA, durante um estudo que incluiu isolados de *A. baumannii* obtidos em seis hospitais não houve detecção de genes codificantes de KPC (PEREZ *et al.*, 2010).

A enzima metalo- β -lactamase NDM foi isolada pela primeira vez na Índia em 2008 de um paciente com infecção do trato urinário causada por *K. pneumoniae* (YONG *et al.*, 2009). O grupo de genes *bla*_{NDM} contém 27 variantes descritas, podem ser cromossômicos ou plasmídeos e sua transferência ocorre por conjugação, o que favorece rápida disseminação (WU *et al.*, 2019). As variantes NDM-1, NDM-2, NDM-3, NDM-5 e NDM-7 já foram detectadas em *A. baumannii* (WU *et al.*, 2019, KHALID *et al.*, 2019). Em uma pesquisa no *National Center for Biotechnology Information Pathogen Detection Browser* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens>) foram encontrados 2.407 isolados produtores de NDM-1 dos quais 240 eram isolados de *A. baumannii*, mostrando que esta é a espécie não pertencente à família *Enterobacteriaceae* mais recorrente em relação à produção de NDM-1 (GROUNDWATER *et al.*, 2016).

Na Europa, foi registrado em 2013 o primeiro surto de *A. baumannii* produtor de NDM-1 em uma unidade de terapia intensiva francesa (DECOUSSER *et al.*, 2013). Nos EUA, em 2021, houve um surto de *A. baumannii* co-produtor de NDM/OXA-23 em múltiplas instalações hospitalares na Califórnia (HOLDEN *et al.*, 2021). Na Colômbia, apenas 3 dos 101 isolados hospitalares de *Acinetobacter* spp. analisados por Ovalle e colaboradores (2017) apresentaram *bla*_{NDM}. As pesquisas realizadas no Oriente Médio com isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. em 2014 por Hakemi e sua equipe, no Irã, com 28 isolados, e em 2015 por Aksoy e seus colaboradores, na Turquia, com 52 isolados, não detectaram nenhum isolado portador do gene *bla*_{NDM}.

Descrito inicialmente em *P. aeruginosa* na cidade de Verona, Itália e em seguida na França em 1997, o grupo VIM conta com 70 variantes sendo mais recorrente em *Enterobacteriaceae* (POIREL *et al.*, 2000; BUSH, BRADFORD, 2020). Vários estudos identificaram enzimas do tipo VIM em isolados clínicos de *A. baumannii* no Egito, na Arábia Saudita e no Irã (BENMAHMOD, IBRAHIM, 2019; AMIN *et al.*, 2019; ALAMRI *et al.*, 2019). As variantes mais frequentes em *Acinetobacter* spp. são VIM-1 e 2, ambos foram

detectados em estudos na Arábia Saudita e no Irã, (EL-AGEERY, AL-HAZMI, 2014; BEIGVERDI *et al.*, 2019). Em hospitais gregos, análises realizadas nos anos de 2004 e 2005 detectaram isolados *Acinetobacter* spp. que incluíam *bla*_{VIM-1} (TSAKRIS *et al.*, 2006). VIM 2 foi descrito em hospitais coreanos (YUM, 2002; LEE *et al.*, 2003). Outras enzimas do tipo VIM identificadas em *A. baumannii* foram VIM-3 e VIM-11 em isolados de um hospital universitário em Taiwan (LEE *et al.*, 2008). Na Colômbia, em um estudo envolvendo 101 isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de 19 departamentos do país, apenas 1 isolado apresentava *bla*_{VIM} (OVALLE *et al.*, 2017). Nos EUA, de acordo com os resultados de Perez e sua equipe (2010) nenhum gene *bla*_{VIM} foi identificado nos isolados de *A. baumannii* avaliados no estudo.

A primeira MBL do grupo IMP foi identificada em um isolado clínico de *P. aeruginosa* resistente ao imipenem coletada em 1988 no Japão (WATANABE *et al.*, 1991). Essas enzimas são codificadas pelo grupo de genes plasmídeos *bla*_{IMP} de rápida disseminação (HIRAKATA *et al.*, 1998; KOH *et al.*, 1999). Os primeiros relatos de enzima do tipo IMP na Europa ocorreram em *A. baumannii* isolado do trato respiratório de um paciente de UTI na Itália (CORNAGLIA *et al.*, 1999, RICCIO *et al.*, 2000). Também foram identificados produtores de IMP em um estudo com isolados de *A. baumannii* multirresistentes provenientes de UTI 's no Irã (AZIZI *et al.*, 2016). No Brasil, um estudo com isolados coletados de dois hospitais entre os anos de 2000 e 2016 mostrou espécies de *Acinetobacter* spp. não-*baumannii* abrigando genes *bla*_{IMP} (CAYÔ *et al.*, 2018). Nos EUA, em um estudo envolvendo isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos provenientes de seis hospitais no nordeste de Ohio coletados entre 2007 e 2008, os genes codificantes de IMP não foram detectados (PEREZ *et al.*, 2010).

Em 1985 foi identificada primeira enzima OXA, atualmente denominada OXA-23, com atividade carbapenemase em um isolado clínico de *A. baumannii* na Escócia (DONALD *et al.*, 2000). Os genes *bla*_{OXA-23-like} são prevalentes entre isolados resistentes em vários países (MUGNIER *et al.*, 2009, NIGRO, 2016). Estudos relataram a sua presença em 39,5%, 58%, 74,5% e até 100% dos isolados de *Acinetobacter* spp. dos Estados Unidos, países do Oriente Médio, Europa e América Latina, respectivamente (HACKEL; STONE; SAHM; 2021, AL-SULTAN *et al.*, 2015, MENDES *et al.*, 2022, ALFARO *et al.*, 2016).

O grupo OXA-24/40, é um grupo de enzimas OXA que conta com menor número de representantes. A primeira enzima deste grupo isolada de *A. baumannii* em um surto na Espanha foi denominada OXA-24 (BOU; OLIVER; MARTÍNEZ-BELTRÁN, 2000). Após uma revisão do sequenciamento percebeu-se que OXA 24 e 40 se tratava da mesma enzima

capaz de hidrolisar penicilinas, mas de fraca atividade contra cefalosporinas e carbapenêmicos (HAMIDIAN; NIGRO, 2019, BOU; OLIVER; MARTÍNEZ-BELTRÁN, 2000). Estudos relataram que genes semelhantes a *bla*_{OXA-24/40} estavam presentes em 13%, 29,0% e 20,5% dos isolados de *Acinetobacter* spp. de países do Oriente Médio, Estados Unidos e Europa, respectivamente (AL-SULTAN *et al.*, 2015, HACKEL; STONE; SAHM, 2021, MENDES *et al.*, 2022). Na América Latina, ao analisar os perfis genéticos de resistência de 252 isolados de *A. baumannii* em três hospitais mexicanos genes *bla*_{OXA-24/40} estavam presentes em 61,8% dos isolados (ALCÁNTAR-CURIEL *et al.*, 2019).

Inicialmente encontrado como uma β -lactamase mediada por cromossomo em um isolado clínico de *A. baumannii* da Argentina (BROWN; YOUNG; AMYES, 2005), OXA-51 possui uma grande diversidade de variantes (EVANS; AMYES, 2014). Estudos sobre a enzima OXA-51 também mostraram que genes semelhantes a *bla*_{OXA-51} são intrínsecos a *A. baumannii*. As carbapenemases OXA-51 são consideradas fracas, mas têm sua atividade hidrolítica potencializada e podem levar à resistência aos carbapenêmicos quando associadas a sequências de inserção ISAbal ou outros mecanismos (NIGRO; HALL, 2018, WONG *et al.*, 2019).

Embora o primeiro gene do grupo *bla*_{OXA-58} tenha sido detectado em um plasmídeo em um *A. baumannii* isolado de um hospital francês a diferença nas porcentagens de bases nitrogenadas que compõem *bla*_{OXA-58} e o cromossomo da espécie bacteriana *A. baumannii* leva a crer que os genes *bla*_{OXA-58} se originaram em outra bactéria (EVANS; AMYES, 2014, POIREL *et al.*, 2005). Relatórios descreveram uma atividade fraca em relação aos carbapenêmicos e à penicilina, mas são capazes de conferir resistência quando combinadas com os mecanismos adicionais presentes em *A. baumannii* assim como OXA-51 (RAMIREZ; BONOMO; TOLMASKY, 2020, HÉRITIER *et al.*, 2005). Esse grupo de genes tem a transmissão horizontal como principal mecanismo de disseminação e rapidamente se espalhou para outros países.

No trabalho de Marque *et al.* (2005) ao analisar isolados clínicos de seis países da Europa continental, 52% do total de isolados de *A. baumannii* apresentaram genes semelhantes a *bla*_{OXA-58}. Em contrapartida, a porcentagem de isolados portadores desse grupo de genes no Brasil encontrada por Rocha e participantes para a mesma espécie bacteriana foi de apenas 3,6% (ROCHA *et al.*, 2017). Nos EUA conforme dados do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY de 2020 a 2021 dos 788 isolados clínicos hospitalares de *Acinetobacter* spp. apenas um isolado continha *bla*_{OXA-58} (CASTANHEIRA; MENDES;

GALES, 2023). Também foram encontrados isolados com resistência associada aos genes *bla*_{OXA-58} na Turquia e no Líbano (PAGANO; MARTINS; BARTH, 2016).

O grupo de genes *bla*_{OXA-143} foi identificado pela primeira vez em um plasmídeo de *A. baumannii* isolado de hemocultura de um paciente em uma UTI, em 2004, no Brasil (HIGGINS *et al.*, 2009). As enzimas codificadas por *bla*_{OXA-143-like} possuem capacidade de hidrolisar significativamente penicilina e carbapenêmicos. A sequência de aminoácidos de OXA-143 apresenta 88%, 63% e 52% de semelhança com OXA-40, OXA-23 e OXA-58, respectivamente. Enzimas semelhantes a OXA-143 foram detectadas em países como Brasil, Coréia, Peru e Honduras (KIM *et al.*, 2010, GIONCO *et al.*, 2012, MOSTACHIO *et al.*, 2012, ZANDER *et al.*, 2014, GIRLICH *et al.*, 2014, LEVY-BLITCHTEIN *et al.*, 2018). No Oriente Médio, o primeiro relato de *A. baumannii* produtor de OXA-143 no Irã ocorreu no ano de 2017, em um estudo promovido por Zohreh e colaboradores. Nesse estudo, analisaram 97 isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos obtidos de quatro hospitais universitários em Qom e observaram que 14,43% continha *bla*_{OXA-143}. Além disso, genes codificantes de OXA-143 foram descritos também em *Acinetobacter* não-*baumannii* no estado de Indiana, EUA, e na Áustria (ZANDER *et al.*, 2014, GRISOLD *et al.*, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar os isolados de *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos provenientes de amostras clínicas hospitalares quanto ao perfil fenotípico e genotípico de sensibilidade aos antimicrobianos.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a prevalência dos isolados de acordo com os sítios de isolamento;
- Mapear a prevalência dos isolados segundo sua localização dentre as unidades hospitalares;
- Identificar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados estudados;
- Estabelecer a evolução do perfil de resistência ao longo dos anos do estudo;
- Detectar a presença de genes codificantes de carbapenemases.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo do tipo exploratório, observacional, quantitativo e longitudinal.

4.2 Área de Estudo

A pesquisa foi realizada com isolados provenientes do laboratório de microbiologia do Hospital Regional Tarcísio de Vasconcelos Maia, localizado na cidade de Mossoró/RN. Trata-se de um hospital de grande porte, que atende casos de urgência e emergência de Mossoró e da região do Alto Oeste do estado, abarcando mais de 60 municípios. Atualmente, possui 157 leitos, sendo 29 de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), e centro cirúrgico com quatro salas. O atendimento é realizado 24 horas por dia, para serviços de média e alta complexidades, sendo oferecido serviços em: clínica médica, cirúrgica e pediátrica; UPI (Unidade de Pacientes Infectados) e UTI (Unidade de Terapia Intensiva); ortopedia e traumatologia; cirurgia bucomaxilofacial; cirurgia geral; enfermagem; fisioterapia e terapia ocupacional; psiquiatria e psicologia; otorrinolaringologia; neurocirurgia; neurologia; oftalmologia; hemodiálise à beira leito. Além disso, ainda há disponível serviço de diagnóstico e imagem com: raio-X; endoscopia, ultrassonografia, tomografia computadorizada e um laboratório de análises clínicas e microbiológicas (BRASIL, 2023).

As cepas bacterianas foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia Clínica (LABMIC) pertencente ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) para processamento das análises.

4.3 População de estudo

Isolados bacterianos da espécie *Acinetobacter* spp. identificados pelo laboratório de microbiologia do hospital colaborador, coletados no período de 2019 a 2023, com o critério de ser resistente a pelo menos um carbapenêmico.

4.4 Considerações Éticas

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), sob o parecer de número 4.708.190. Ademais, para assegurar e garantir a confidencialidade,

privacidade e segurança das informações, ao final da pesquisa os dados serão armazenados em armário fechado, sob responsabilidade do coordenador, por no mínimo cinco anos.

4.5 Coleta dos isolados e dados

Os isolados utilizados na pesquisa foram recolhidos do laboratório de microbiologia do hospital parceiro após a identificação em relação ao gênero bacteriano e determinação do perfil fenotípico de resistência. O período de coleta se estendeu entre os anos de 2019 e 2023. Isolados bacterianos identificados como *Acinetobacter* spp. que apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano carbapenêmico foram selecionados por conveniência. Ressalta-se que durante a coleta foi obrigatório o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) como avental, máscara e luvas para biossegurança do pesquisador. Além disso, os dados relativos aos isolados foram coletados dos livros de registro do laboratório de microbiologia do hospital parceiro, incluindo informações como número de identificação do isolado, sexo dos pacientes dos quais essas culturas foram isoladas, sítio de isolamento, a data de coleta, setor de internação do paciente, o gênero/espécie identificado e o perfil de resistência.

4.6 Processamento e armazenamento das amostras:

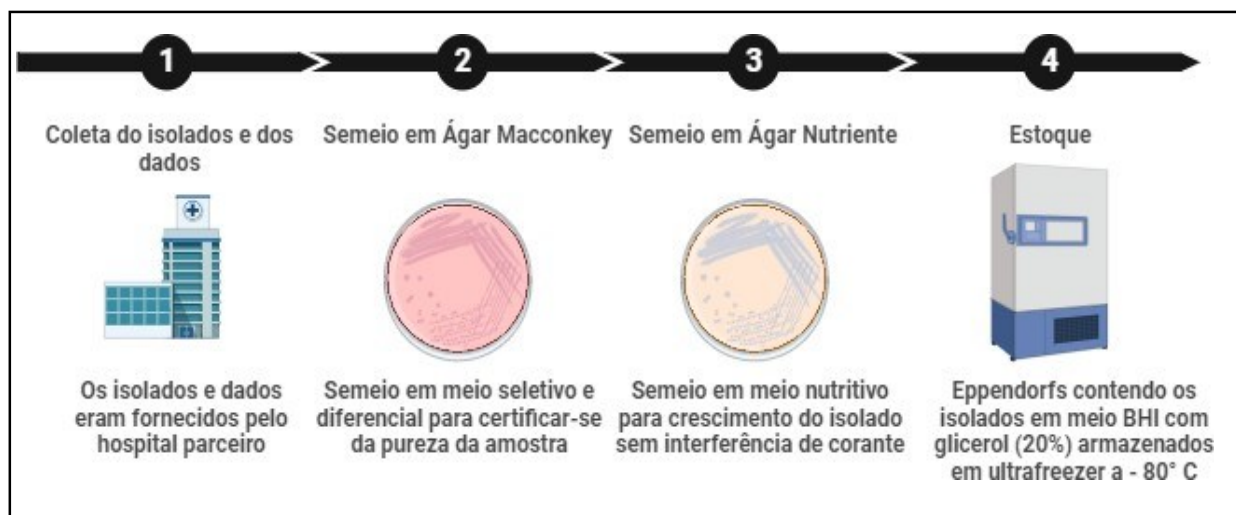
Após a coleta, os isolados bacterianos foram levados ao Laboratório de Microbiologia Clínica (LABMIC) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) localizado no prédio Biomédicas I, onde foram semeados em ágar seletivo e diferencial MacConkey para certificação de que não havia bactérias contaminantes. Em seguida, uma colônia bacteriana era coletada com a alça bacteriológica e semeada em Ágar nutriente para garantir o crescimento dos isolados sem interferência de corantes.

Após o crescimento em meio Ágar nutriente as colônias eram transferidas, com o auxílio de uma alça bacteriológica, para microtubos de 1,5 ml contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) com o criopreservador extracelular glicerol na concentração de 20%. Todos os procedimentos envolvendo semeio e transferência de microrganismos foram realizados utilizando alças bacteriológicas descartáveis estéreis e em uma cabine de segurança biológica classe 2. Os microtubos contendo os isolados foram acondicionados em caixas apropriadas e armazenados em ultra freezer a - 80°C, conforme a Figura 1.

Cepas contendo os genes de resistência investigados neste estudo foram doadas por laboratórios colaboradores do Instituto Aggeu Magalhães-Fiocruz-PE e Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Essas amostras foram processadas igualmente como citado acima e

posteriormente, foram utilizadas como controles positivos para os experimentos de detecção dos genes de resistência, a serem mencionados.

Figura 1 - Ilustração dos procedimentos de coleta de dados, processamento e armazenamento de amostras.



Fonte: Autoria própria, 2023.

4.7 Testes de sensibilidade aos antimicrobianos

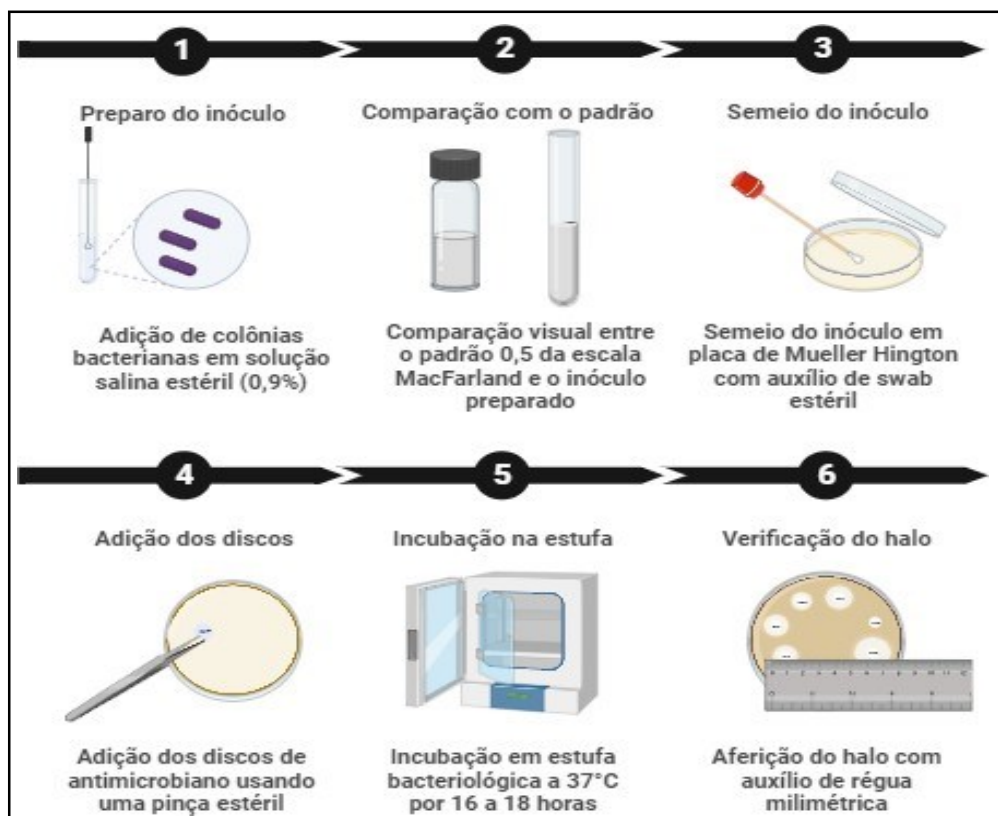
Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram executados pela metodologia de disco-difusão descrita por Kirby-Bauer (1966) aderindo às atualizações propostas pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2023), procedimento ilustrado na Figura 2. Os antimicrobianos utilizados para o teste foram: imipenem, meropenem, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim, gentamicina e ampicacina, conforme é determinado pelo BrCAST (2023).

Para esse método, foram produzidos inóculos padronizados na concentração 0,5 de McFarland ajustados visualmente com os isolados de *Acinetobacter* spp. em solução salina (0,9%). Os inóculos foram semeados em placas de ágar Mueller-Hinton usando *swab* estéril. Em seguida, os discos de antimicrobianos foram depositados na superfície do ágar com uma pinça.

As placas foram incubadas em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 20h. Período após o qual elas foram analisadas em relação à presença ou ausência de halos de inibição. Os halos formados foram medidos com uma régua milimétrica, os resultados obtidos foram registrados em uma planilha no *Google Sheets* e a partir da comparação do valor observado com pontos

de corte preconizados pelo BrCAST (2023), os isolados foram classificados como suscetíveis, resistentes ou intermediários.

Figura 2 - Ilustração da realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos por disco-difusão



Fonte: Autoria própria, 2023.

4.8 Extração do Ácido desoxirribonucleico (DNA) e detecção dos genes de resistência

Para a extração do DNA, uma suspensão de colônias em água destilada estéril foi submetida ao banho ultrassônico em dois ciclos de 30 segundos em banho ultrassônico. Após isso, foi submetido à centrifugação a 13.000 rpm por dois minutos, e o DNA foi coletado do sobrenadante (RIBEIRO, 2016).

A detecção dos genes codificantes de carbapenemases *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24/40-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-143-like}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} e *bla*_{IMP}, foi realizada por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em um termociclador BIO-RAD T100. Para as reações de amplificação dos genes, foram usados 12,5 µl de Master mix GoTaq® (Promega), 1 µl de oligonucleotídeo *forward* e 1 µl de oligonucleotídeo *reverse* específicos para os genes em questão e 9,5 microlitros de água ultrapura e 1 µl de DNA

molde, resultando em um volume final de 25 µl. As condições de ciclagem foram ajustadas com base na temperatura de anelamento ideal para cada par de oligonucleotídeo (Tabela 1).

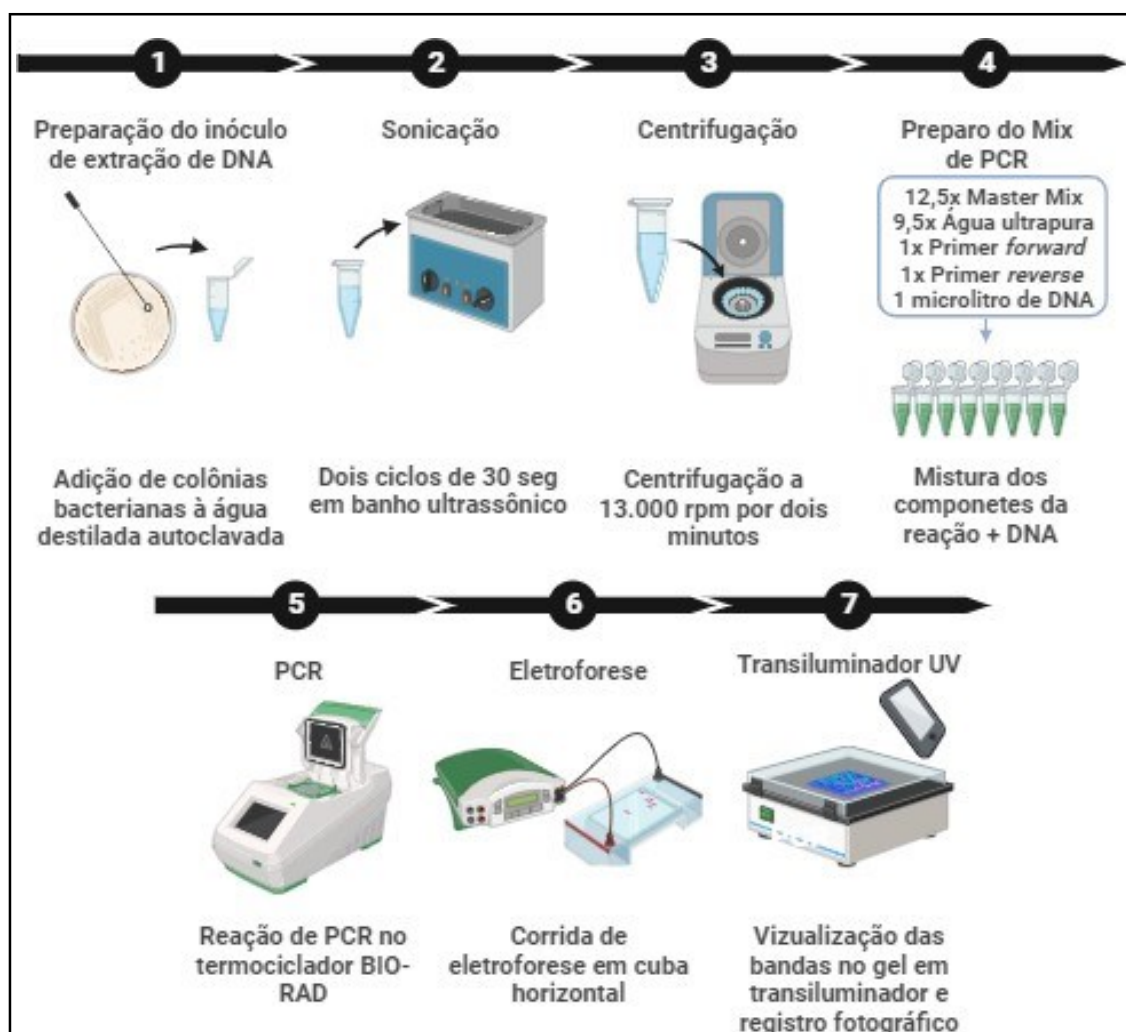
Tabela 1 - Oligonucleotídeos utilizados para detecção dos genes de carbapenemases.

Gene alvo	Sequência	Tamanho do fragmento	Referência
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	F: 5'–TAATGCTTTGATCGGCCTTG–3' R: 5'–TGGATTGCACTTCATCTTGG–3'	353pb	
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	F: 5'–GATCGGATTGGAGAACCAGA–3' R: 5'–ATTTCTGACCGCATTTCAT–3'	501pb	HIGGINS et al., 2010
<i>bla</i> _{OXA-24/40-like}	F: 5'–GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA–3' R: 5'–AGTTGAGCGAAAAGGGGATT–3'	246pb	
<i>bla</i> _{OXA-58-like}	F: 5'–AAGTATTGGGGCTTGTGCTG–3' R: 5'–CCCCTCTGCGCTCTACATAC–3'	599pb	
<i>bla</i> _{OXA-143}	F: 5'–TGGCACTTTCAGCAGTTCCT–3' R: 5'–TAATCTTGAGGGGGCCAACC–3'	149pb	
<i>bla</i> _{IMP}	F: 5'–GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC–3' R: 5'–GGTTTAAYAAAACAACCACC–3'	232pb	POIREL et al., 2011
<i>bla</i> _{VIM}	F: 5'–GATGGTGTTTGGTCGCATA–3' R: 5'–CGAATGCGCAGCACCAG–3'	390pb	
<i>bla</i> _{KPC}	F: 5'–TGTCAGTGTATCGCCGTC–3' R: 5'–CTCAGTGCTCTACAGAAAACC–3'	900pb	DOYLE et al., 2012
<i>bla</i> _{NDM}	F: 5'–GCAGCTTGTCGGCCATGCGGGC–3' R: 5'–GGTCGCGAAGCTGAGCACCGCAT–3'	782pb	

Legenda: pb - Pares de base. Fonte: Autoria própria, 2023.

Os produtos da amplificação da PCR (amplicons) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1,5%) corado com GelRed® (BioTium). As condições de corrida foram 120V, 500mA, 150W por 60 minutos em cuba horizontal em tampão TBE 1X. Após o término da eletroforese o gel foi retirado da cuba, depositado sobre um transiluminador UV e fotografado para registro dos resultados obtidos. Todas as corridas apresentavam um marcador de peso molecular de 100pb e amostras de controle externo e positivo. Portanto, o tamanho dos fragmentos visualizados era comparado aos fragmentos dos controles positivos, juntamente com a comparação do tamanho esperado para a banda no marcador de peso molecular. A Figura 3 ilustra os passos desta etapa.

Figura 3 - Ilustração dos procedimentos de extração do DNA, das técnicas de PCR e eletroforese e da visualização das bandas obtidas.



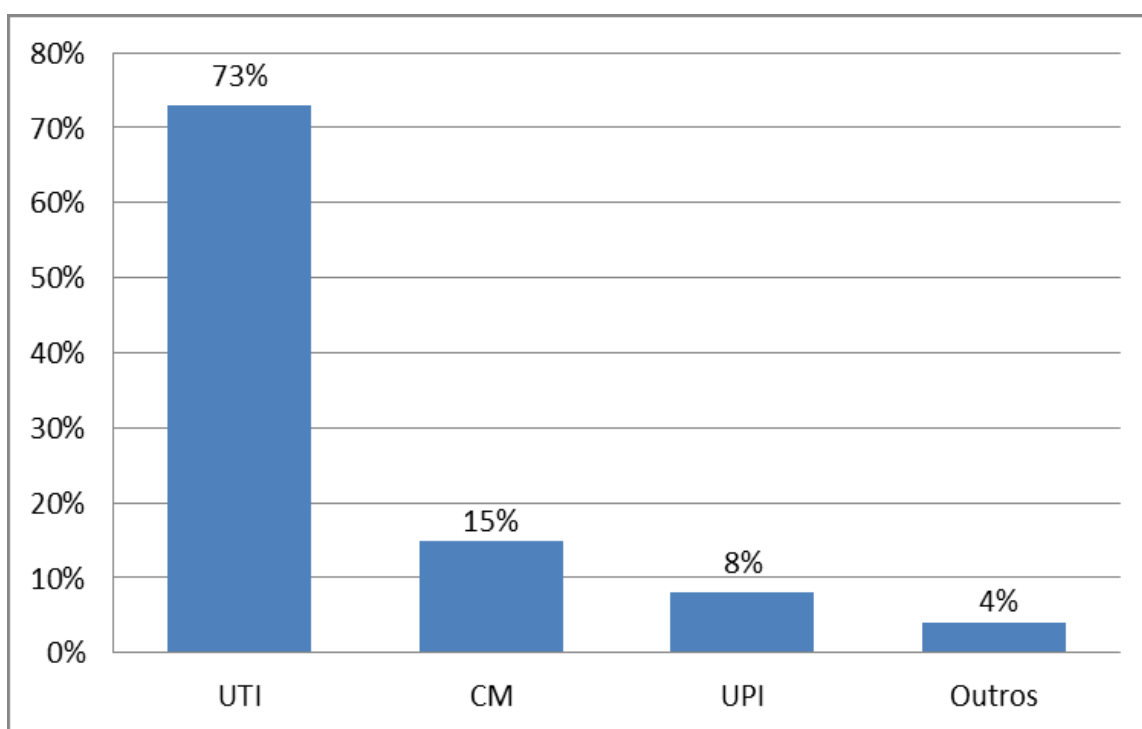
Fonte: Autoria própria, 2023.

5 RESULTADOS

No total, foram inseridos neste estudo 48 isolados clínicos hospitalares com identificação prévia realizada pelo laboratório de microbiologia do hospital colaborador. Para confirmar a identificação, os isolados foram submetidos à detecção molecular do gene *bla*_{OXA-51}, intrínseco da espécie *A. baumannii*, por meio da amplificação por PCR. Neste sentido, todos foram positivos para a presença do gene em questão.

Do total de isolados estudados, 73% (n=35) foi provenientes de pacientes internados na UTI, 15% (n=7) na CM (Clínica Médica), 8% (n=4) na UPI (Unidade de Pacientes Infectados) e 4% (n=2) em outros setores hospitalares. Esses resultados podem ser observados no Gráfico 1.

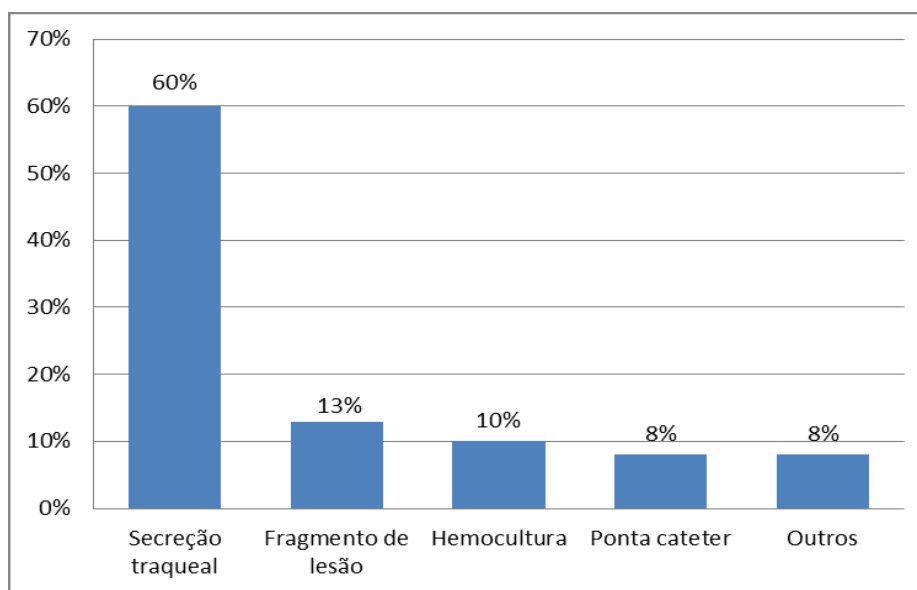
Gráfico 1 - Distribuição dos isolados clínicos por setor hospitalar.



Legenda: UTI - Unidade de terapia intensiva; CM - Clínica médica; UPI - Unidade de pacientes infectados.

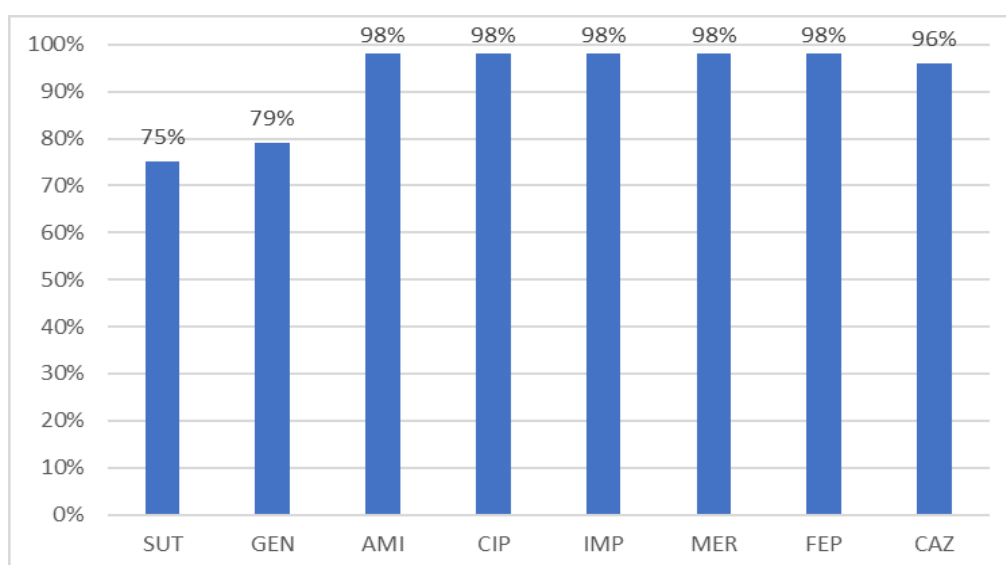
Fonte: Autoria própria, 2023.

Em relação ao sítio infeccioso de origem, cerca de 60% (n=29) dos isolados eram provenientes de amostras de secreção traqueal, 13% (n=6) fragmento de lesão, 10% (n=5) de hemocultura, 8% (n=4) de ponta cateter e 8% (n=4) de outros sítios infecciosos, como observado no gráfico 2.

Gráfico 2 - Distribuição de isolados de acordo com o sítio infeccioso de origem.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Em relação ao perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos (Gráfico 3), foram observadas taxas de resistência superiores a 70% para todos os antimicrobianos testados. Sendo a menor porcentagem de 75% (n=36) em relação ao Sulfametoxazol-trimetoprim (SUT). A porcentagem de isolados resistentes foi 79% (n=38) para Gentamicina (GEN), 96% (n=46) para Ceftazidima (CAZ) e 98% (n=47) para Ciprofloxacina (CIP), Amicacina (AMI), Imipenem (IMP), Meropenem (MER) e Cefepime (FEP).

Gráfico 3 - Perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados estudados.

Legenda: SUT - Sulfametoxazol-trimetoprim; GEN - Gentamicina; AMI - Amicacina; CIP - Ciprofloxacina; IMP - Imipenem; MER - Meropenem; FEP - Cefepime; CAZ - Ceftazidima. Fonte: Autoria própria, 2023.

Dentre os 48 isolados, 92% (n=44) apresentaram o gene *bla*_{OXA-23} (Figura 4). Foi detectado *bla*_{OXA-143} em 4% (n=2) dos isolados, os isolados produtores de OXA-143 não eram coprodutores de OXA-23. A tabela 2 mostra todos os genes detectados por bactéria de acordo com o ano que foram isolados.

Neste estudo detectamos coprodução de algumas carbapenemases. Em um mesmo isolado foi detectado *bla*_{IMP} e genes codificantes de VIM e OXA-23. O gene *bla*_{VIM} foi observado em 6% (n=3), dos quais apenas um não era coprodutor de OXA-23. No presente estudo não foram detectados isolados portadores de genes *bla*_{OXA-58-like} e *bla*_{OXA-24/40-like}.

Tabela 2 - Detecção de genes de resistência por ano de isolamento.

Genes detectados	Nº de isolados positivos por ano					Total
	2019	2020	2021	2022	2023	
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	3	8	8	12	17	48
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	3	7	8	10	16	44
<i>bla</i> _{OXA-24/40-like}	0	0	0	0	0	0
<i>bla</i> _{OXA-58-like}	0	0	0	0	0	0
<i>bla</i> _{OXA-143-like}	0	0	0	2	0	2
<i>bla</i> _{KPC}	0	0	0	0	1	1
<i>bla</i> _{NDM}	0	0	0	0	1	1
<i>bla</i> _{IMP}	0	0	0	0	1	1
<i>bla</i> _{VIM}	0	0	0	0	3	3

Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 4 - Foto do gel de agarose demonstrando a presença dos fragmentos correspondentes ao tamanho dos genes *bla*_{OXA-51} (353-pb) e *bla*_{OXA-23} (501-pb).



Legenda: M: Marcador de peso molecular, C-: Controle Negativo, C+: Controle Positivo. Fonte: Autoria própria, 2023.

6 DISCUSSÃO

Apesar de todos os isolados apresentarem o gene *bla*_{OXA-51-like} que é intrínseco para *A. baumannii*, a presença dele já foi detectada em outras espécies de *Acinetobacter* não-*baumannii*, como em *A. nosocomialis* (LEE *et al.*, 2012), portanto, apenas a detecção deste gene não é capaz de definir a espécie. Desta forma, apesar da presença do *bla*_{OXA-51-like} ser bastante sugestiva para *A. baumannii*, optou-se por nomear todos os isolados deste estudo como *Acinetobacter* spp..

Relativo aos sítios de isolamento dos patógenos estudados, o mesmo padrão de distribuição também pode ser notado no estudo desenvolvido em um hospital universitário de Cuiabá-MT, no qual 34% dos isolados dos estudos provinham de aspirado traqueal (RICAS; MARQUES; YAMAMOTO, 2013). É particularmente alarmante a alta frequência de *A. baumannii* em aspirados traqueais, uma vez que esse microrganismo tem o potencial de causar pneumonia, agravando ainda mais o estado de saúde dos pacientes (BERNARDS *et al.*, 2004). Além disso, o aumento do número de intubações orotraqueais ocorrido durante a pandemia favoreceu a ocorrência de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) causadas por *Acinetobacter* spp. como pode ser visto na pesquisa de Oliveira e seu grupo (2021) em que esse gênero microbiano foi responsável por 39,1% das PAVs adquiridas por pacientes com COVID-19.

A maior frequência de isolados de *Acinetobacter* spp. em UTIs era esperada, dada a natureza oportunista desse patógeno e o fato de muitos pacientes em terapia intensiva estarem imunocomprometidos e passarem por procedimentos invasivos (ROMANELLI *et al.*, 2009). Além disso, dispositivos e instrumentos médicos utilizados nesse setor podem funcionar como depósito para esse microrganismo como descrito por Queiroz e sua equipe em 2022. Uma pesquisa realizada em um hospital escola em Pelotas, RS mostrou uma porcentagem de isolados de *Acinetobacter* spp. oriundos de UTI ainda mais próxima de 80%, reforçando a necessidade de medidas de vigilância nesse setor (MILLER *et al.*, 2022).

Nossos resultados apontam para altas taxas de resistência para outras drogas entre *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos, com poucas opções terapêuticas disponíveis para tratamento. Um estudo elaborado por Campos, publicado em 2022, realizado com isolados clínicos *A. baumannii* provenientes de um hospital brasileiro coletados entre os anos de 2009 e 2018 demonstrava taxas de resistência significativas aos antimicrobianos pertencentes às classes das cefalosporinas e à ciprofloxacina e registrou o aumento de 40% na taxa de resistência antimicrobiano meropenem da classe do carbapenêmicos (CAMPOS,

2022). As porcentagens de resistência entre os antimicrobianos gentamicina e amicacina que pertencem à mesma classe antimicrobiana, denominada aminoglicosídeos, divergiram em quase 20%, mas uma porcentagem semelhante a essa pode ser encontrada em Albuquerque *et al.* (2021).

Embora a resistência a carbapenêmicos seja critério de inclusão no estudo, a porcentagem de resistência a essa classe, demonstrada no Gráfico 3, não atinge 100% devido a um isolado que apresentou halo de inibição correspondente à classificação de resistência intermediária conforme os pontos de corte clínicos do *BrCAST* (2023). O fármaco que se mostrou menos ineficaz diante dos isolados foi sufamtoxazol/trimetoprim. No entanto, na literatura há registro de isolados de UTI do Nordeste brasileiro apresentando 100% de resistência a esse antimicrobiano (NAUE *et al.*, 2019).

Apesar da prevalência de *bla*_{OXA-23-like} identificada neste estudo, as taxas de detecção desse gene foi inferior às obtidas em estudos nos estados de São Paulo, Paraná e Rio de Janeiro que detectaram a presença do gene *bla*_{OXA-23} em percentuais superiores a 95% (OLIVEIRA *et al.*, 2019; ROMANIN *et al.*, 2019; TAVARES *et al.*, 2019). O Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR), com base em dados das regiões sul e centro-oeste, relatou o aumento no número de bactérias produtoras de múltiplas carbapenemases durante o período de pandemia (2020-2021). Embora a produção simultânea de *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} seja mais comum em *K. pneumoniae* e não ocorra com frequência em *Acinetobacter* spp., neste estudo houve detecção de *bla*_{NDM} e *bla*_{KPC} em um mesmo isolado identificado pela numeração 10954 que também apresentava OXA-23. Isolados produtores de mais de uma carbapenemase causam infecções com poucas alternativas terapêuticas. Isolados produtores de KPC e NDM, por exemplo, são resistentes à ceftazidima-avibactam, combinação antimicrobiana desenvolvida para tratar infecções por bactérias resistentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Apenas um isolado identificado numericamente como 14604 não apresentou nenhum dos genes de carbapenemase, exceto *bla*_{OXA-51-like}, sugerindo que este isolado pode possuir alguma outra carbapenemase não investigada neste estudo, ou mesmo apresentar sequências de inserção à frente do gene *bla*_{OXA-51-like}, pois essa combinação já demonstrou aumentar a capacidade hidrolítica da enzima e culminar em resistência aos carbapenêmicos (KOBS, 2016)

Entre as MBLs, IMP costuma ser mais frequente em *Acinetobacter* spp. quando compara a VIM (ABBOTT *et al.*, 2013). Porém, detectamos três isolados portadores do gene *bla*_{VIM}. Além de uma única detecção de gene *bla*_{IMP} se tratava de um isolado que continha

simultaneamente o gene *blaVIM*. Genes codificantes de enzimas OXA-58 não foram detectados. Em trabalhos como o de Rocha e colaboradores, os resultados obtidos reforçam a baixa prevalência *bla*_{OXA-58} no Brasil (ROCHA *et al.*, 2017). Apesar de documentadas porcentagens superiores a 50% de detecção de *bla*_{OXA-24/40} na América Latina, os isolados que analisamos não apresentaram esse grupo de genes (ALCÁNTAR-CURIEL *et al.*, 2019).

7 CONCLUSÃO

- A maioria dos isolados são provenientes de secreção traqueal de pacientes internados nas UTIs, sugerindo uma forte relação desta bactéria com esses dois fatores;
- A resistência aos carbapenêmicos nos isolados de *Acinetobacter* spp. estudados foi acompanhada com taxas altas de resistência para outras classes de antimicrobianos;
- Co-produção de enzimas carbapenemases e a presença de carbapenemase menos comuns para *A. baumannii* foi detectada em alguns isolados e se tornou mais evidentes nos anos 2022-2023, sugerindo que a utilização exacerbada de antimicrobianos durante a pandemia de COVID-19 pode ter contribuído para esse fenômeno nos anos seguintes;
- A produção de OXA-23 é o principal mecanismo de resistência associado à resistência aos carbapenêmicos na população estudada;
- A detecção de carbapenemases foi essencial para o conhecimento dos mecanismos circulantes no hospital de estudo, podendo contribuir para futuras adoções de medidas de prevenção e tratamento apropriadas para o cenário visualizado.

8 REFERÊNCIAS

ABBOTT, I., et al. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.11, n.4, p.395-409. 2013.

ADAMS, M. D. et al. Distinct Mechanisms of Dissemination of NDM-1 Metallo- β -Lactamase in *Acinetobacter* Species in Argentina. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 64, n. 5, 21 abr. 2020.

AKSOY, M. D.; CAVUSLU, S.; TUGRUL, H. M. Investigation of Metallo Beta Lactamases and Oxacilinases in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Inpatients. **Balkan Medical Journal**, v. 32, n. 1, p. 79–83, 16 fev. 2015.

ALAMRI, A. M. et al. Molecular Surveillance of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. **Current Microbiology**, v. 77, n. 3, p. 335–342, 12 dez. 2019.

ALBUQUERQUE, A. M. S. et al. Investigação de genes de resistência aos aminoglicosídeos em isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. em um hospital de Recife - PE. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e543101220526, 30 set. 2021.

ALCÁNTAR-CURIEL, M. D. et al. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Three Tertiary Care Hospitals in Mexico: Virulence Profiles, Innate Immune Response and Clonal Dissemination. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 20 set. 2019.

ALFARO, C. E. et al. **Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in South America**. v. 65, n. 10, p. 1088–1091, 18 out. 2016.

ALMEIDA, Rosângela Nunes; ALIAGA, Kelly Myriam Jimenez de. *Acinetobacter baumannii*: infecções associadas, resistência antimicrobiana, tratamento, prevenção e controle. In: FREITAS, Daniela Reis Joaquim de (org.). **Microbiologia: clínica, ambiental e alimentos**. 2. ed. Atena Editora, 2021. p. 38-48. Disponível em: <<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/acinetobacter-baumannii-infeccoes-associadas-resistencia-antimicrobiana-tratamento-prevencao-e-controle>>. Acesso em: 26 set. 2023.

AL-SULTAN, A. A. et al. Dissemination of multiple carbapenem-resistant clones of *Acinetobacter baumannii* in the Eastern District of Saudi Arabia. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2 jul. 2015.

AMBROSE, S. J.; EVANS, B. A.; HALL, R. M. Origin of the oxa235 carbapenem resistance gene found in transposon Tn6252. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 77, n. 4, p. 1197–1199, 30 jan. 2022.

AMIN, M. et al. Association of the genes encoding Metallo- β -Lactamase with the presence of integrons among multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 12, p. 1171–1180, maio 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. **Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Série Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde**. 2017. Disponível em:

<<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33852/3507912/Caderno+4+-+Medidas+de+Preven%C3%A7%C3%A3o+de+Infec%C3%A7%C3%A3o+Relacionada+%C3%A0+Assist%C3%A2ncia+%C3%A0+Sa%C3%BAde/a3f23dfb-2c54-4e64-881cfccf9220c373>>. Acesso em: 13 set. 2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. **NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 05/2021b** - Orientações para prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/notas-tecnicas/2021/nota-tecnica-gvims-ggtes-anvisa-no-05-2021-resistencia-microbiana-na-pandemia-da-covid-19>>. Acesso em: 13 set. 2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. **Programa Nacional De Prevenção e Controle De Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS) 2021 a 2025.** 2021b. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/snpnciras_2021_2025.pdf>. Acesso em: 04 set. 2023.

A.R. & Patient Safety Portal. Disponível em: <<https://arpsp.cdc.gov/profile/antibiotic-resistance?tab=antibiotic-resistance>>.

AZIMI, L. et al. Comparison of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis with pulsed-field gel electrophoresis typing of carbapenemases producing *Acinetobacter baumannii* isolated from burn patients. **Burns**, v. 42, n. 2, p. 441–445, mar. 2016.

AZIZI, O. et al. Class 1 integrons in non-clonal multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from Iran, description of the new bla IMP-55 allele in In1243. **Journal of Medical Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 928–936, 1 set. 2016.

BASSETTI, M. et al. Treatment of Bloodstream Infections Due to Gram-Negative Bacteria with Difficult-to-Treat Resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 9, p. 632, 22 set. 2020.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4_{ts}, p. 493–496, 1 abr. 1966.

BAUMANN, P.; DOUDOROFF, M.; STANIER, R. Y. A Study of the *Moraxella* Group II. Oxidative-negative Species (Genus *Acinetobacter*)1. **Journal of Bacteriology**, v. 95, n. 5, p. 1520–1541, 1968

BEIGVERDI, R. et al. Status of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring carbapenemase: First systematic review and meta-analysis from Iran. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 73, p. 433–443, set. 2019.

BENMAHMOD, A. B.; SAID, H. S.; IBRAHIM, R. H. Prevalence and Mechanisms of Carbapenem Resistance Among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in Egypt. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 4, p. 480–488, maio 2019.

BERNARDS A.T., HARINCK H.I., DIJKSHOORN L., et al. Persistent *Acinetobacter baumannii*? Look inside your medical equipment. **Infect Control Hosp Epidemiol** 2004; 25:1002.

BOUG.; OLIVER, A.; MARTÍNEZ-BELTRÁN. OXA-24, a Novel Class D β -Lactamase with Carbapenemase Activity in an *Acinetobacter baumannii* Clinical Strain. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 6, p. 1556–1561, jun. 2000.

BROWN, S.; YOUNG, H. K.; AMYES, S. G. B. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, n. 1, p. 15–23, jan. 2005.

BUSH, K.; BRADFORD, P. A. Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 2, p. e00047-19, 26 fev. 2020.

CANEIRAS, C. et al. First Description of Colistin and Tigecycline-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing KPC-3 Carbapenemase in Portugal. **Antibiotics**, v. 7, n. 4, p. 96, 6 nov. 2018.

CARVALHEIRA, A.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. *Acinetobacter* spp. in food and drinking water – A review. **Food Microbiology**, v. 95, p. 103675, 1 maio 2021.

CASTANHEIRA, M.; MENDES, R. E.; GALES, A. C. **Global Epidemiology and Mechanisms of Resistance of *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex**. v. 76, n. Supplement_2, p. S166–S178, 1 maio 2023.

CAYÔ, R. et al. Occurrence of IMP-1 in non-*baumannii* *Acinetobacter* clinical isolates from Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 628–630, 1 maio 2018.

CDC. **Antibiotic resistance threats in the United States**. Centers for Disease Control; Atlanta, GA, USA: 2019.

CHEN, L. et al. Complete Nucleotide Sequence of a bla KPC -Harboring IncI2 Plasmid and Its Dissemination in New Jersey and New York Hospitals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 10, p. 5019–5025, 1 out. 2013.

CORNAGLIA, G. et al. Appearance of IMP-1 metallo- β -lactamase in Europe. **The Lancet**, v. 353, n. 9156, p. 899–900, mar. 1999.

CORNAGLIA, G.; GIAMARELLOU, H.; ROSSOLINI, G. M. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 11, n. 5, p. 381–393, maio 2011.

COSTA, M. et al. Principais micro-organismos responsáveis por infecções relacionadas à assistência em saúde (iras) em UTIs: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 8, n. 1, p. 30-30, 2019.

DECOUSSER, J. W. et al. Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. **Eurosurveillance**, v. 18, n. 31, 1 ago. 2013.

DONALD, H. M. et al. Sequence Analysis of ARI-1, a Novel OXA β -Lactamase, Responsible for Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. v. 44, n. 1, p. 196–199, 1 jan. 2000.

DORTET, L.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Worldwide Dissemination of the NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–12, 2014.

DE OLIVEIRA SÁ, P. K. et al. Pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes com COVID-19: avaliação das culturas de aspirados traqueais. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, p. 101089, jan. 2021.

El-Ageery, S M.; AL-HAZMI SS. Microbiological and molecular detection of VIM-1 metallo beta lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*. **PubMed**, v. 18, n. 7, p. 965–70, 1 jan. 2014.

EVANS, B. A.; AMYES, S. G. B. OXA -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 2, p. 241–263, 1 abr. 2014.

FERREIRA, Ellen Roberta et al. Adesão ao checklist de cateter venoso central e infecção de corrente sanguínea em uma unidade coronária. **CuidArte, Enferm**, p. 132-137, 2020. Disponível em: Acesso em: 10 set. 2023.

GIONCO, B. et al. Detection of OXA-231, a new variant of blaOXA-143, in *Acinetobacter baumannii* from Brazil: a case report. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 10, p. 2531–2532, 26 jun. 2012.

GIRLICH, D. et al. OXA-253, a Variant of the Carbapenem-Hydrolyzing Class D - Lactamase OXA-143 in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 2976–2978, 3 mar. 2014.

GRISOLD, A. et al. Diversity of Oxacillinases and Sequence Types in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* from Austria. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 4, p. 2171, 23 fev. 2021.

GROUNDWATER, P. W. et al. New Delhi metallo- β -lactamase-1: structure, inhibitors and detection of producers. **Future Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 9, p. 993–1012, jun. 2016.

GUPTA, N.; ANGADI, K.; JADHAV, S. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* with Special Reference to Carbapenemases: A Systematic Review. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 15, p. 7631–7650, dez. 2022.

HACKEL, M.; STONE, G.; SAHM, D. F. 1271. In vitro Activities of Ceftriaxone and Comparator Agents Against Bacterial Pathogens Frequently Causing Community-Acquired Respiratory Tract Infections in Patients from a Global Population: ATLAS Surveillance Program 2016-2019. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 8, n. Supplement_1, p. S724–S724, 1 nov. 2021.

HAKEMI VALA M et al. Detection of Ambler class A, B and D β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from burn patients. **PubMed**, 31 mar. 2014.

HAMIDIAN, M. et al. Evolution of a clade of *Acinetobacter baumannii* global clone 1, lineage 1 via acquisition of carbapenem- and aminoglycoside-resistance genes and dispersion of ISAbal. **Microbial Genomics**, v. 5, n. 1, 1 jan. 2019.

HAMIDIAN, M.; NIGRO, S. J. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Microbial Genomics**, v. 5, n. 10, 1 out. 2019.

HIGGINS, P. G. et al. OXA-143, a Novel Carbapenem-Hydrolyzing Class D β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 5035–5038, 21 set. 2009.

HÉRITIERC. et al. Contribution of Acquired Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinases to Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 8, p. 3198–3202, ago. 2005.

HOLDEN, D. et al. Multifacility Outbreak of NDM/OXA-23–Producing *Acinetobacter baumannii* in California, 2020–2021. **Antimicrobial stewardship & healthcare epidemiology**, v. 1, n. S1, p. s79–s79, 1 jul. 2021.

HO, P. et al. Molecular Characterization of an Atypical IncX3 Plasmid pKPC-NY79 Carrying bla KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae*. **Current Microbiology**, v. 67, n. 4, p. 493–498, 1 jun. 2013.

IMAN DANDACHI et al. *Acinetobacter* spp in a Third World Country with Socio-economic and Immigrants Challenges. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 13, n. 11, p. 948–955, 30 nov. 2019.

JU, Y. et al. Relationship between AdeABC Efflux Pump Genes and Carbapenem in Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Biomedical Science Letters**, v. 27, n. 2, p. 59–68, 30 jun. 2021.

KARTHIKEYAN, K.; THIRUNARAYAN, M. A.; KRISHNAN, P. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 10, p. 2253–2254, 21 jul. 2010.

KHALID, S. et al. Outbreak of Efficiently Transferred Carbapenem-Resistant blaNDM–Producing Gram-Negative Bacilli Isolated from Neonatal Intensive Care Unit of an Indian Hospital. **Microbial Drug Resistance**, 9 ago. 2019.

KHAN, A. U.; MARYAM, L.; ZARRILLI, R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. **BMC Microbiology**, v. 17, n. 1, 27 abr. 2017.

KIM, C.-K. et al. Prevalence and diversity of carbapenemases among imipenem-nonsusceptible *Acinetobacter* isolates in Korea: emergence of a novel OXA-182. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 68, n. 4, p. 432–8, 2010.

KOBS, Vanessa Cristine et al. The role of the genetic elements bla oxa and IS Aba 1 in the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex in carbapenem resistance in the hospital setting. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 433–440, 2016.

KOH, T. et al. Carbapenem-hydrolysing IMP-1 β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* from Singapore. **The Lancet**, v. 353, n. 9170, p. 2162, jun. 1999.

KRAMER, A.; SCHWEBKE, I.; KAMPF, G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. **BMC Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, 16 ago. 2006.

KYRIAKIDIS, I. et al. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 373, 19 mar. 2021.

LEE, K. et al. VIM- and IMP-Type Metallo- β -lactamase-Producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean Hospitals. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 7, p. 868–871, jul. 2003.

LEE, P. Y. et al. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. **Journal of Visualized Experiments**, v. 3923, n. 62, 20 abr. 2012.

LEE, M.-F. et al. Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. **International journal of antimicrobial agents**, v. 32, n. 6, p. 475–80, 2008.

LEE, Yi-Tzu et al. Emergence of carbapenem-resistant non-*baumannii* species of *Acinetobacter* harboring a bla OXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 1124-1127, 2012.

LEVY-BLITCHTEIN, S. et al. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 4 jul. 2018.

LPSN - **Lista de nomes procarióticos com posição na nomenclatura**. Gênero *Acinetobacter*. 2019. [Acessado em: 12 de março de 2020]. Disponível em: <http://www.bacterio.net/Acinetobacter.html>.

MACIEL, N. S. **Revisão bibliográfica de dados epidemiológicos das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) reportadas no Brasil**. 2021. 92 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciência Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/233967/Natiele_da_Silva_Maciel.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 24 set. 2023.

MARQUE, S. et al. Regional Occurrence of Plasmid-Mediated Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 9, p. 4885–4888, 1 set. 2005.

MEGRAN, D. et al. One or two membranes? Diderm Firmicutes challenge the Gram-positive/Gram-negative divide. **Molecular Microbiology**, v. 113, n. 3, p. 659–671, mar. 2020.

MENDES, R. E. et al. 643. Cefiderocol In vitro Activity Against Molecularly Characterized *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex Clinical

Isolates Causing Infection in United States Hospitals (2020-2021). **Open Forum Infectious Diseases**, v. 9, n. Supplement_2, 1 dez. 2022.

MENEZES, Joana M R; PORTO, Maria L S; PIMENTA, Carla L; Perfil da infecção bacteriana em ambiente hospitalar. R. M. Rev. **Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 15, n. 2, p. 199-207, mai./ago. 2016

MILLER, L. et al. **Complexo *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* (ACB): ocorrência e perfil de resistência aos carbapenêmicos e polimixina B durante pandemia de SARS-CoV-2 em Pelotas, RS.** v. 11, n. 1, p. e42811125128-e42811125128, 10 jan. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **NOTA TÉCNICA Nº 74/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS.** 2022.

MOSTACHIO, A. K. et al. High prevalence of OXA-143 and alteration of outer membrane proteins in carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. isolates in Brazil. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 5, p. 396–401, maio 2012.

MUGNIER, P. D. et al. Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbapenemase Gene of *Acinetobacter baumannii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 35–40, jan. 2009.

MULLIS, K. et al. Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 51, n. 0, p. 263–273, 1 jan. 1986.

NAUE, C. R. et al. Ocorrência e perfil bacteriano de culturas coletadas em pacientes internados na unidade de terapia intensiva em um hospital terciário. **HU Revista**, v. 45, n. 2, p. 122–133, 7 nov. 2019.

NOEL, H. R.; PETREY, J. R.; PALMER, L. D. Mobile genetic elements in *Acinetobacter* antibiotic-resistance acquisition and dissemination. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1518, n. 1, p. 166–182, 31 out. 2022.

NORDMANN, P.; POIREL, L. **Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria.** **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. Supplement_7, p. S521–S528, 13 nov. 2019.

NIGRO, S. J.; HALL, R. M. Does the intrinsic oxaAb (blaOXA-51-like) gene of *Acinetobacter baumannii* confer resistance to carbapenems when activated by ISAba1? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 16 ago. 2018.

NIGRO, S. J.; HALL, R. M. Structure and context of *Acinetobacter* transposons carrying the oxa23 carbapenemase gene. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 5, p. 1135–1147, 10 jan. 2016.

OVALLE, M. V. et al. Results of the national surveillance of antimicrobial resistance of Enterobacteriaceae and Gram negative bacilli in health care-associated infections in Colombia, 2012-2014. **Biomédica**, v. 37, n. 4, p. 473, 1 dez. 2017.

PAGANO, M.; MARTINS, A. F.; BARTH, A. L. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 785–792, out. 2016.

PATÓGENOS PRIMÁRIOS X OPORTUNISTAS: QUAIS SÃO AS DIFERENÇAS?. LABnHOME, 2020. Disponível em: <<https://www.labnhome.com.br/post/pat%C3%B3genos-prim%C3%A1rios-x-oportunistas-quaais-s%C3%A3o-as-diferen%C3%A7as>>. Acesso em 24 set. 2023.

PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 3, p. 538–582, 1 jul. 2008.

PEREZ, F. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* across a hospital system: impact of post-acute care facilities on dissemination. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 8, p. 1807–1818, 31 maio 2010.

POIREL, L. et al. Characterization of VIM-2, a Carbapenem-Hydrolyzing Metallo- β -Lactamase and Its Plasmid- and Integron-Borne Gene from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate in France. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 4, p. 891–897, 1 abr. 2000.

POIREL, L. et al. OXA-58, a Novel Class D β -Lactamase Involved in Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 1, p. 202–208, jan. 2005.

QUEIROZ, Y. M. DE; MACIEL, I. A.; SANTOS, F. DA S. DOS. Mecanismo de resistência da bactéria *Acinetobacter Baumannii* e suas implicações no controle das infecções hospitalares. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 54, n. 1, p. 37–43, 2022.

RAMIREZ, M. S.; BONOMO, R. A.; TOLMASKY, M. E. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 720, 6 maio 2020.

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

RICAS, R. V.; MARQUES, T. C.; YAMAMOTO, A. C. A. Perfil de resistência de *A. baumannii* a antimicrobianos em um hospital universitário de Cuiabá-MT. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 25, n. 4, p. 178–181, 30 dez. 2013.

RICCIO, M. L. et al. Characterization of the Metallo-beta -Lactamase Determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 Reveals the Existence of blaIMP Allelic Variants Carried by Gene Cassettes of Different Phylogeny. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 5, p. 1229–1235, 1 maio 2000.

ROBLED, I. E. et al. Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 1354–1357, 28 dez. 2009.

ROCA, I., ESPINAL, P., VILA-FARRES, X., VILA, J. The *Acinetobacter baumannii* Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. **Front**

Microbiol, 2012.

ROCHA, S. et al. **Acinetobacter baumannii strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility profiles**. v. 12, n. 5, p. e0176790–e0176790, 5 maio 2017.

ROMANELLI, R.M.C.; JESUS, L.A.; CLEMENTE, W.T.; LIMA, S.S.S.; REZENDE, E.M.; COUTINHO, R.L.; MOREIRA, R.L.F.; NEVES, F.A.C.; BRÁS, N.J. Outbreak of resistant *Acinetobacter baumannii*: measures and proposal for prevention and control. **Braz. J. Infect. Dis**, v. 13, n. 5, 2009.

ROSA et al. Estratégias emergentes para tratamento de ESKAPE. **Revista Saúde**, v. 46, n. 1, 21 abr. 2020.

SARTOR, Vanessa. **O que é Infecção Hospitalar, IRAS e Infecções Hospitalares. 2021. HEALTHCARE**. Disponível em: <https://grupomidia.com/hcm/o-que-e-infeccao-hospitalariras-e-infeccoes-hospitalares/>. Acesso em: 08 set. 2023.

SILVA, L. S. et al. Perfil das infecções relacionadas à assistência à saúde em um centro de terapia intensiva de Minas Gerais. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 9, n. 4, 9 out. 2019.

SOUZA, E. E. S. **Descrição do perfil de resistência microbiana das infecções relacionadas à assistência à saúde de um hospital de doenças infectocontagiosas de uma capital do Nordeste brasileiro**. 2021. 54 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Enfermagem) - Universidade Federal de Alagoas, 2021. Disponível em: [https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/7713/1/Descrição do perfil de resistência microbiana das infecções relacionadas à assistência à saúde de um hospital de doenças infectocontagiosas de uma capital do Nordeste brasileiro.pdf](https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/7713/1/Descrição%20do%20perfil%20de%20resistência%20microbiana%20das%20infecções%20relacionadas%20à%20assistência%20à%20saúde%20de%20um%20hospital%20de%20doenças%20infectocontagiosas%20de%20uma%20capital%20do%20Nordeste%20brasileiro.pdf). Acesso em: 24 set. 2023.

SOUZA, E. S. et al. Mortality and risks related to healthcare-associated infection. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 24, n. 1, p. 220–228, mar. 2015.

TOOKE, C. L. et al. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 18, p. 3472–3500, ago. 2019.

TSAKRIS, A. et al. VIM-1 Metallo- β -lactamase in *Acinetobacter baumannii* - Volume 12, Number 6—June 2006 - **Emerging Infectious Diseases journal** - CDC. wwwnc.cdc.gov, [s.d.].

VIJAYAKUMAR, S.; BISWAS, I.; VEERARAGHAVAN, B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update. **Future Science OA**, v. 5, n. 6, 1 jul. 2019.

VIRGINIA DEPARTMENT OF HEALTH. **Acinetobacter Infection Fact Sheet**. 2018. Disponível em: <https://www.vdh.virginia.gov/epidemiology/epidemiology-fact-sheets/acinetobacter-infection/>. Acesso em: 13 set. 2023.

WATANABE, M. et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 1, p. 147–151, 1 jan. 1991.

WONG, M. H. et al. Over-Expression of ISAbal-Linked Intrinsic and Exogenously Acquired OXA Type Carbapenem-Hydrolyzing-Class D- β -Lactamase-Encoding Genes Is Key Mechanism Underlying Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 4 dez. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>.

WU, W. et al. NDM Metallo- β -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, 30 jan. 2019.

XU C.F., BILYA S.R., XU W. adeABC efflux gene in *Acinetobacter baumannii*. **New Microbes New Infect.** 2019.

YIGIT, H. et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1151–1161, 1 abr. 2001.

YOICHI HIRAKATA et al. **Rapid Detection and Evaluation of Clinical Characteristics of Emerging Multiple-Drug-Resistant Gram-Negative Rods Carrying the Metallo- β -Lactamase Gene bla_{IMP}**. v. 42, n. 8, p. 2006–2011, 1 ago. 1998.

YONG, D. et al. Characterization of a New Metallo- β -Lactamase Gene, bla_{NDM-1}, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 5046–5054, 1 dez. 2009.

YUM, J. H. Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the bla_{VIM-2} gene cassettes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, n. 5, p. 837–840, 1 jun. 2002.

ZANDER, E. et al. Characterization of bla_{OXA-143} Variants in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter pittii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 2704–2708, 24 fev. 2014.

ZOHREH SARIKHANI; NAZARI, R.; MAHMOUD NATEGHI ROSTAMI. First report of OXA-143-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* in Qom, Iran. **PubMed**, v. 20, n. 11, p. 1282–1286, 1 nov. 2017.

9 ANEXOS

Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização de bactérias resistentes aos antimicrobianos isoladas de amostras clínicas em hospitais de Mossoró-RN

Pesquisador: Caio Augusto Martins Aires

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 42842521.6.0000.5294

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO - UFRSA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.541.757

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO: As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são um grave problema de saúde pública mundial. Dentre os microorganismos multirresistentes causadores de IRAS, atenção especial deve ser conferida aos bacilos Gram-negativos (BGN) como *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.* resistentes aos carbapenêmicos e polimixinas, devido a prevalência destes nos estabelecimentos de

saúde e elevada morbimortalidade associada aos patógenos em questão. **JUSTIFICATIVA:** É cada vez mais importante conhecer o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em bactérias oportunistas dentro do ambiente hospitalar e esclarecer os mecanismos de resistência envolvidos nesses fenômenos. **METODOLOGIA:** Trata-se de um estudo

observacional, exploratório, quantitativo de caráter longitudinal. Serão estudados isolados bacterianos clínicos previamente identificados e com perfil de multirresistência provenientes dos laboratórios de microbiologia de hospitais da cidade de Mossoró-RN, bem como os dados referentes às IRAS. Serão realizados os testes de susceptibilidade a antimicrobianos através do método Kirby-Bauer de disco-difusão e microdiluição em caldo para diversas classes de antimicrobianos. A detecção da produção fenotípica de carbapenemase será feita através dos testes de Hodge modificado e método de inibição de carbapenemase. A detecção da presença de genes que codificam carbapenemases e outros genes de resistência será realizada com a extração do DNA genômico por fervura, seguida da pesquisa dos genes através da técnica de PCR. Além

Endereço: Rua Miguel Antonio da Silva Neto, s/n

Bairro: Aeroporto

CEP: 59.607-360

UF: RN

Município: MOSSORO

Telefone: (84)3312-7032

E-mail: cep@uern.br