



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



RAFAEL THIAGO PEREIRA DA SILVA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA, VIRULÊNCIA E CLONALIDADE EM ISOLADOS DE *Acinetobacter baumannii* ASSOCIADOS A PACIENTES DE UTI SRAG/COVID-19 EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA EM RECIFE, PERNAMBUCO, BRASIL**

Recife, 2023

RAFAEL THIAGO PEREIRA DA SILVA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA, VIRULÊNCIA E CLONALIDADE EM ISOLADOS DE  
*Acinetobacter baumannii* ASSOCIADOS A PACIENTES DE UTI Srag/COVID-19  
EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA EM RECIFE, PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Biológicas (PPGCB) do  
Centro de Biociências (CB) da  
Universidade Federal de Pernambuco  
(UFPE), como parte dos requisitos para  
a obtenção do título de mestre em  
Ciências Biológicas.

Área de concentração: Sistemas  
Biológicos

Orientadora: Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira

Coorientadora: Dra. Ana Vitória Araújo Lima

Recife, 2023

## FICHA CATALOGRÁFICA

Catalogação na Fonte:

Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva  
CRB4/1381

Silva, Rafael Thiago Pereira da.

Perfil de resistência, virulência e clonalidade em isolados *Acinetobacter baumannii* associados a pacientes de UTI SRAG/Covid-19 em um hospital de referência em Recife, Pernambuco, Brasil. / Rafael Thiago Pereirada Silva – 2023.

99 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria Betânia Melo de Oliveira.

Coorientadora: Ana Vitória Araújo Lima.

Mestrado (dissertação) – Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Biológicas (PPGCB) do Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco,  
2023.

Inclui referências .

1. Resistência bactereiana. 2. *Acinetobacter baumannii*. 3. Pandemia de coronavírus. 4. Infecção hospitalar. 5. ERIC-PCR. I. Oliveira, Maria Betânia Melo de. (Orient.). II. Lima, Ana Vitória Araújo.(Coorient.). III.Título.

570

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-014

RAFAEL THIAGO PEREIRA DA SILVA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA, VIRULÊNCIA E CLONALIDADE EM ISOLADOS DE  
*Acinetobacter baumannii* ASSOCIADOS A PACIENTES DE UTI SRAG/COVID-19  
EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA EM RECIFE, PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas  
da Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de mestre/doutor em Ciências  
Biológicas.

Aprovado em: / /

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Betânia Melo de Oliveira (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Tereza Correia (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Igor Vasconcelos Rocha

Departamento de Microbiologia, Instituto Aggeu Magalhães  
(IAM)

“De um começo tão singelo  
evoluíram as formas mais  
belas e maravilhosas”.

(Charles Darwin)

## AGRADECIMENTOS

Sou grato a Deus, por me fazer um ser humano forte. Ao meu pai, ao meu irmão e principalmente à minha mãe, pela a dedicação e os esforços realizados para que hoje eu pudesse me tornar um homem honrado, independente e livre.

A todos os familiares que a vida me presenteou, mesmo aqueles que não estão mais presentes, sou grato pelo incentivo, apoio e torcida para que tudo desse certo, sempre me lembrando do meu valor.

Agradeço a admirável mulher que Deus colocou na minha vida, minha querida orientadora Maria Betânia Melo de Oliveira, pela sensibilidade, companheirismo, competência, generosidade e doação permanentes com o qual acompanhou e direcionou este trabalho.

A minha co-orientadora, maravilhosa, Dra. Ana Vitória Araújo Lima, por todos os ensinamentos passados, por todo amor e atenção que uma verdadeira amiga poderia me proporcionar. Sou grato a ela por compartilhar idéias visionárias e, principalmente, por nunca desistir de gerar conhecimento para a ciência brasileira, por mais que nos falte recursos.

Ao laboratório de microbiologia do hospital estudado, que abriu suas portas para o desenvolvimento deste trabalho, em especial a brilhante biomédica Aeda A. De Oliveira, e ao ilustríssimo Luciano Brinner, pela disponibilidade e prestatividade.

Aos meus colegas do laboratório acadêmico, o biomol: Jaqueline dos Santos Silva, Rafael Artur De Queiroz Ca Valcanti De Sa, Tainara Fernandes Dantas por serem extremamente prestativos e resolutivos diante de qualquer adversidade de surgesse.

À Pós-Graduação (PPGCB) pelos serviços prestados e aos professores do Programa por auxiliar no aprimoramento dos nossos conhecimentos acadêmicos, bem como aos funcionários do Departamento de Bioquímica, que estão sempre predispostos a nos auxiliar.

Por fim, agradeço a FIOCRUZ, a UFPE e ao Departamento de Bioquímica pelo espaço cedido e aos órgãos de fomento, especialmente a CAPES, pelo apoio financeiro. Pois os resultados de uma elucidação científica não se deve apenas aos pesquisadores que a realizam e

apresentam ao público, mas também às muitas pessoas que ajudaram e impulsionaram esta caminhada, contribuindo seja direta ou indiretamente para a materialização deste trabalho. Assim, agradeço especialmente a todas estas pessoas e em particular: ao Dr Sérgio Dias da Costa Júnior, que não medi esforços para contribuir com este trabalho, se fazendo presente sempre quando precisei, mesmo estando distante fisicamente.

A todos vocês, minha mais sincera gratidão!!!

## RESUMO

A pandemia causada pelo novo coronavírus, o SARS-CoV-2, detectada em dezembro de 2019, trouxe consigo várias problemáticas. Durante seu acontecimento houve aumento significativo pela demanda de leitos de enfermaria e Unidades de Terapia Intensiva (UTI's). Muitos desses pacientes foram colonizados e desenvolveram co-infecções oriundas do ambiente hospitalar. O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de  $\beta$ -lactamases e Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos (EMA's), além da capacidade para formação de biofilmes em isolados de *Acinetobacter baumannii* provenientes de um surto ocorrido em uma UTI-COVID de um hospital público em Recife-PE, durante os anos de 2020 a 2021. Foram analisados 36 isolados de *A. baumanii*, identificados inicialmente pelo equipamento Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 e confirmados pela Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS). Estes, foram analisados quanto ao seu perfil de resistência fenotípico através do Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 e submetidos à reação em Cadeia da Polimerase – PCR para detecção de genes  $\beta$ -lactâmicos (*blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* e *blaSHV*) e aminoglicosídeos (*aac (6')-Ib-cr*, *ant (3')-Ia* e *aph (3')-Ia*). Todos os genes tiveram amostras purificadas e sequenciadas para confirmação da região amplificada. Adicionalmente, foi avaliado o potencial para formação de biofilme por meio do método Cristal Violeta e, por fim, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) do consenso repetitivo intergênico enterobacteriano (ERIC-PCR) para avaliar a relação clonal dos isolados. Os dados confirmaram que os isolados correspondem a *A. baumanii*, e apresentam perfis de resistência/susceptibilidade distintos. Foi observada a disseminação de 5,4% (n=2) bactérias Multidroga-Resistentes (MDR); 75,67% (n=28) Extensivamente-Resistentes (XDR) e 18,9% (n=7) N-MDR. Ainda em relação ao perfil fenotípico de resistência, dois isolados (AB21; AB30) foram resistentes à colistina. Em relação às análises moleculares dos  $\beta$ -lactâmicos, foi observada a incidência do gene *blaVIM* 18,91% (n=7), seguido do *blaSHV*: 16,21% (n=6), *blaKPC*: 10,81% (n=4) e *blaIMP* 8,10% (n=3). Já em relação aos aminoglicosídeos, houve uma predominância do *aac (6')-Ib-cr* 25% (n=9), seguido do *ant (3')-Ia*, 13,88% (n=5), e do *aph (3')-Ia* 5,33% (n=2). Todos os isolados formaram biofilme, porém com diferentes intensidades. Não foi possível correlacionar o perfil de resistência com a capacidade de formação de biofilmes. Pela técnica de ERIC-PCR foram encontrados, 22 perfis genéticos indicando uma disseminação clonal nos ambientes investigados. Os dados encontrados são alarmantes e revelam a crescente capacidade adaptativa da espécie *A. baumannii* no ambiente hospitalar, o que dificulta e retarda seu tratamento. A presença de clones dessa espécie enfatiza a necessidade de monitoramento constante e vigilância epidemiológica para combater essas infecções hospitalares.

**Palavras-chave:** Resistência bactereiana; *Acinetobacter baumannii*; Pandemia de coronavírus; Infecção hospitalar; ERIC-PCR.

## ABSTRACT

The pandemic caused by the novel coronavirus, SARS-CoV-2, detected in December 2019, brought several challenges. During its occurrence, there was a significant increase in demand for hospital ward beds and Intensive Care Units (ICUs). Many of these patients were colonized and developed co-infections originating from the hospital environment. The aim of this study was to investigate the occurrence of  $\beta$ -lactamases and Aminoglycoside-Modifying Enzymes (AMEs), as well as the capacity for biofilm formation in isolates of *Acinetobacter baumannii* from an outbreak that occurred in a COVID-19 ICU of a public hospital in Recife, Pernambuco, during the years 2020 to 2021. A total of 36 isolates of *A. baumannii* were analyzed, initially identified by the Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 equipment and confirmed by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS). They were analyzed for their phenotypic resistance profile using the Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 and subjected to Polymerase Chain Reaction (PCR) for the detection of  $\beta$ -lactam genes (*bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, and *bla<sub>SHV</sub>*) and aminoglycosides (*aac(6')*-*Ib-cr*, *ant(3')*-*Ia*, and *aph(3')*-*Ia*). All genes had purified samples and sequenced for confirmation of the amplified region. Additionally, the potential for biofilm formation was evaluated using the Crystal Violet method, and finally, Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC-PCR) was performed to assess the clonal relationship of the isolates. The data confirmed that the isolates correspond to *A. baumannii* and exhibit distinct resistance/susceptibility profiles. The dissemination of 5.4% (n=2) Multidrug-Resistant (MDR) bacteria, 75.67% (n=28) Extensively Drug-Resistant (XDR), and 18.9% (n=7) Non-MDR was observed. Still, regarding the phenotypic resistance profile, two isolates (AB21; AB30) were resistant to colistin. Regarding the molecular analyses of  $\beta$ -lactams, an incidence of *bla<sub>VIM</sub>* gene was observed at 18.91% (n=7), followed by *bla<sub>SHV</sub>* at 16.21% (n=6), *bla<sub>KPC</sub>* at 10.81% (n=4), and *bla<sub>IMP</sub>* at 8.10% (n=3). As for aminoglycosides, there was a predominance of *aac(6')*-*Ib-cr* at 25% (n=9), followed by *ant(3')*-*Ia* at 13.88% (n=5) and *aph(3')*-*Ia* at 5.33% (n=2). All isolates formed biofilms but with different intensities. It was not possible to correlate the resistance profile with the capacity for biofilm formation. Using ERIC-PCR, 22 genetic profiles were found, indicating clonal dissemination in the investigated environments. The data found are alarming and reveal the growing adaptive capacity of *A. baumannii* in the hospital environment, which complicates and delays its treatment. The presence of clones of this species emphasizes the need for constant monitoring and epidemiological surveillance to combat these hospital infections.

**Keywords:** Bacterial resistance; *Acinetobacter baumannii*; Coronavirus pandemic; Hospital-acquired infection; ERIC-PCR.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> Linha do tempo com o aparecimento de diferentes espécies de coronavírus.....	17
<b>Figura 2</b> Estrutura viral simplificada do SARS-CoV-2.....	19
<b>Figura 3</b> Partículas virais do SARS - CoV-2.....	20
<b>Figura 4</b> Leitos destinados a pacientes infectados pela COVID-19 por 100 mil habitantes nos Estados brasileiros ao final do primeiro semestre de 2020.....	27
<b>Figura 5</b> Esquema dos mecanismos de resistência bacteriana.....	33
<b>Figura 6</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> em meio Brain Heart Infusion (BHI) Agar.....	33
<b>Figura 7</b> Relação entre a introdução da utilização de betalactâmicos e o surgimento das enzimas betalactamases.....	41
<b>Figura 8</b> Representação esquemática do ciclo de formação de biofilme.....	49

### Artigo

<b>Figura 1</b> Ocorrência de microrganismos isolados durante o ano de 2020 nas UTI's SRAGS direcionadas ao tratamento de pacientes testados positivos para COVID-19.....	61
<b>Figura 2</b> Ocorrência de microrganismos isolados durante o ano de 2021 nas UTI's SRAGS direcionadas ao tratamento de pacientes testados positivos para COVID-19.....	62
<b>Ficura 3</b> Genotipagem das amostras de <i>Acinetobacter baumannii</i> oriundas de pacientes positivos para COVID-19.....	68

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Visão geral da COVID-19; gravidade da doença e suas manifestações clínicas.....	22
<b>Tabela 2</b>	Infecções causadas pelo Sars CoV-2 no Brasil. Os dados revelam, dentre outras informações, o número de casos confirmados por estados da federação, número de óbitos acumulados e taxa de letalidade (%) ao final do primeiro semestre de 2020.....	24
<b>Tabela 3</b>	Porcentagem de crescimento do número de Leitos UTI Adulto tipo II destinados à pacientes contaminados com COVID-19 nas Unidades da Federação ao final do primeiro semestre de 2020.....	25
<b>Tabela 4</b>	Espécies de <i>Acinetobacter spp.</i> descritas na literatura.....	33
<b>Tabela 5</b>	Principais mecanismos de resistência a antimicrobianos encontrados em <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	35
<b>Tabela 6</b>	Fatores de virulência descritos para <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	36
<b>Tabela 7</b>	Visão geral da estrutura química dos principais grupos dos β-lactâmicos.....	48
<b>Tabela 8</b>	Classificação molecular e agrupamento funcional de β-lactamases.....	42

### Artigo

<b>Tabela 1</b>	Sequência dos primers de resistência e virulência utilizados no presente estudo	58
<b>Tabela 2</b>	Sequência dos primers utilizados para tipagem molecular (ERIC-PCR) mostrando as condições de temperatura e referência utilizada.....	60
<b>Tabela 3</b>	Características gerais do perfil fenotípico de resistência de isolados de <i>A. baumanii</i> oriundos de pacientes positivados para COVID-19 em um hospital público em Recife, Pernambuco, Brasil.....	64
<b>Tabela 4</b>	Tabela 4. Detecção e associação dos genes de resistência a aminoglicosídeos e β-lactâmicos, além da capacidade para formação de biofilme em isolados de <i>A. baumannii</i> oriundos de pacientes positivos para COVID-19.....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ANVISA</b> - Agência Nacional de Vigilância Sanitária	<b>KPC</b> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemases
<b>ANSU</b> : Advanced Neurosurgery Support Unit	<b>LB</b> - Luria Bertani
<b>AMI</b> - Amicacina	<b>MALDI-TOF-MS</b> - Espectrometria de Massa por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz / Tempo de Voo
<b>AMP</b> - Ampicilina	<b>MER</b> - Meropenem
<b>BHI</b> - Brain Heart Infusion	<b>MERS</b> - Middle East Respiratory Syndrome
<b>BTU</b> - Burn Treatment Unit	<b>MDR</b> - Multidroga-Resistentes
<b>CAZ</b> - Ceftazidime	<b>NDM</b> - <i>New Delhi metallo-β-lactamase</i>
<b>CFZ</b> - Cefazolina	<b>N-MDR</b> - Não Multidroga-Resistentes
<b>CIM</b> - Concentração Inibitória Mínima	<b>OXA</b> - <i>Oxacillin-hydrolyzing</i>
<b>CIP</b> - Ciprofloxacin	<b>PB</b> - Polimyxin B
<b>CLSI</b> - Clinical and Laboratory Standards Institute	<b>PCR</b> - Polymerase Chain Reaction
<b>COVID-19</b> - Coronavirus Disease 2019	<b>PDR</b> - Pan-Droga-Resistentes
<b>CPM</b> - Cefepime	<b>SARS-CoV-2</b> - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
<b>CRO</b> - Ceftriaxone	<b>SRAG</b> - Síndrome Respiratória Aguda Grave
<b>DNA</b> - Ácido desoxirribonucleico	<b>SRPA</b> - Sala de Recuperação
<b>DO</b> – Densidade Óptica	<b>TET</b> - Tetraciclina
<b>EDTA</b> - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético	<b>TRI</b> – Trimetoprim
<b>EPS</b> - Exopolissacarídeo	<b>TSB</b> - Tryptose Soy Broth
<b>ESBL</b> - β-lactamases de espectro estendido	<b>UCO</b> - Coronary Unit
<b>ESKAPE</b> - <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterobacter</i> spp.	<b>UFPE</b> - Universidade Federal de Pernambuco
<b>GEN</b> – Gentamicina	<b>UTI</b> - Unidade de Terapia Intensiva
<b>ICU</b> - Intensive Care Unit	<b>UV</b> – Ultravioleta
<b>IH</b> - Infecção Hospitalar	<b>VIM</b> - <i>Verona integron-encoded metallo-β-Lactamase</i>
<b>IMP</b> – Imipenemase	<b>XDR</b> - Extensivamente-Droga-Re
<b>IMP</b> - Imipenem	
<b>IRAS</b> - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde	

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	O COVID-19 - ASPECTOS GERAIS.....	16
<b>3.2</b>	ESTRUTURA VIRAL SIMPLIFICADA DO SARS-COV-2.....	18
<b>3.3</b>	SINTOMATOLOGIA DA COVID-19.....	21
<b>3.4</b>	ANÁLISE DE OCUPAÇÃO DE LEITOS DE UTI COVID-19 (%) NO BRASIL COM DESTAQUE EM PERNAMBUCO.....	23
<b>3.5</b>	INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE” (IRAS).....	27
<b>3.6</b>	RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	29
<b>3.7</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DE <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	32
<b>3.8</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS B-LACTAMASES.....	40
<b>3.9</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS AMPICILINASES C.....	43
<b>3.10</b>	B-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO.....	43
<b>3.11</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA METALO-B-LACTAMASES (MLB)...	44
<b>3.12</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SERINO-B-LACTAMASES.....	44
<b>3.13</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS AMINOGLICOSÍDEOS.....	45
<b>3.14</b>	TIPAGEM MOLECULAR E RELAÇÃO CLONAL.....	46
<b>3.15</b>	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO BIOFILME.....	48
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
<b>4.1</b>	ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL FENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA.....	50
<b>4.2</b>	IDENTIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS .....	50
<b>4.3</b>	FORMAÇÃO DE BIOFILME.....	52
<b>4.3</b>	ERIC-PCR.....	52
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>73</b>

## 1. INTRODUÇÃO

No final do ano de 2019, instaurou-se uma crise na saúde pública em escala mundial, após a descoberta de um novo coronavírus (SARS-CoV-2), que causa predominantemente danos ao sistema respiratório. O SARS-CoV-2 dissemina-se fácil e rapidamente e vem gerando um expressivo número de óbitos em escala global (KHALIL; KHALIL, 2020). Como consequência, no início do ano de 2020, houve o aumento na demanda por leitos de enfermaria e Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) para o suporte adequado aos pacientes (GARCIA E DUARTE, 2020). Muitos destes, desenvolveram coinfeções oriundas do próprio ambiente hospitalar, agravando ainda mais seus casos clínicos (LAMARI, CHAKROUN E RTIMI, 2017).

Os protocolos de tratamento utilizados após o diagnóstico de COVID-19, incluíam antimicrobianos e corticosteróides, inicialmente. Alguns especialistas informam que, em aproximadamente 40% dos casos, após a admissão em leito de UTI, os pacientes apresentam alguma infecção bacteriana associada e, apesar do percentual elevado, pouco se sabe sobre o perfil microbiológico destes agentes (HE et al, 2020).

A disseminação de microrganismos multirresistentes causadores de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) apresenta-se como um grande desafio aos Serviços de Controle de Infecções Hospitalares (SCIH). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o fenômeno mundial da resistência antimicrobiana é tão perigoso quanto uma pandemia, ameaçando destruir um século de progresso médico (OMS, 2020; OMS, 2015).

Em Recife-Pernambuco, durante a pandemia de COVID-19, em um hospital público de grande porte, o número de isolados de *Acinetobacter baumannii* se destacou, sobretudo nos pacientes positivados para COVID-19, internados em leitos de terapia intensiva nesta unidade hospitalar. Esta informação é baseada em evidências apresentadas nos relatórios de prevalência, elaborados mensalmente pela Comissão de Controle de Infecção Humana (CCIH) do referido hospital, os quais indicaram um provável surto endêmico desses microrganismos nesta unidade de saúde, especialmente em paciente com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG). Deste modo, este trabalho tem como objetivo investigar o perfil de resistência, a capacidade de formação de biofilme e o perfil de clonalidade de isolados de *A. baumannii*, obtidos de UTI-SRAG, em um hospital público de referência em Recife-Pernambuco, Brasil.

## **2. DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar o perfil de resistência e virulência de *Acinetobacter baumannii* para as diferentes classes de antimicrobianos, provenientes de paciente positivados para a COVID-19 em UTI SRAG de um hospital público de referência em Recife-Pernambuco entre os anos de 2020 e 2021.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Investigar a ocorrência e a frequência de genes produtores de betalactamases e de genes codificadores de EMAs em isolados clínicos de *A. baumanii*;
- Comparar o perfil fenotípico e molecular de resistência dos isolados investigados;
- Verificar o potencial para formação de biofilme nos isolados investigados;
- Analisar a relação clonal entre os isolados de *A. baumanii*;
- Fazer a devolutiva dos dados gerados nesta pesquisa à CCIH da unidade hospitalar investigada afim de auxiliar a adoção de medidas de prevenção e controle dos casos de coinfecção em pacientes vitimados pela COVID -19.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.2 O COVID-19 - ASPECTOS GERAIS

Os coronavírus (CoV) integram uma ampla família de vírus que causam infecções respiratórias, do resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) (NOGUEIRA et al., 2020; SHARMA et al., 2021; MALONE et al., 2022). Quarenta e seis espécies de Coronavírus já foram descritas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus e estima-se que, apenas em morcegos, existam mais de 3 mil espécies de coronavírus (ANTHONY et al., 2017). Algumas destas espécies são de fácil disseminação e podem apresentar diferentes níveis de virulência e, consequentemente, podem ser altamente contagiosas, causando doenças entéricas ou síndromes respiratórias graves (Wilde et al., 2018).

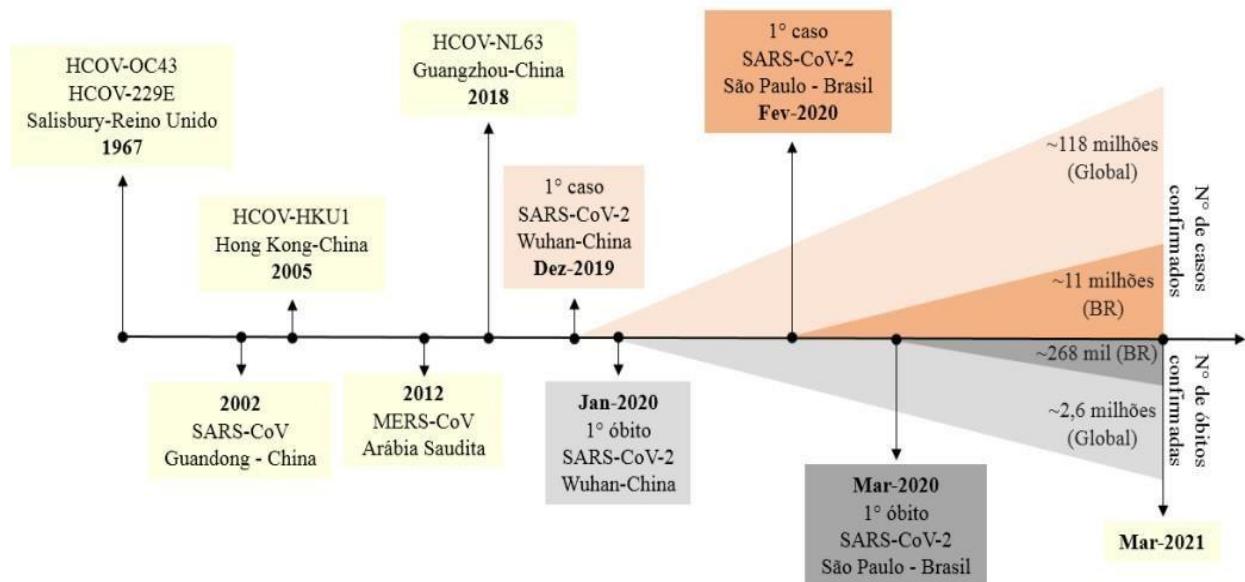
Inicialmente, sendo encontrado apenas em animais, os estudos voltados ao coronavírus surgiram por volta do final da década de 1930; desde então, ao longo do século passado até a atualidade, espécies vêm sendo descritas, como pode ser visto na figura 1 (COLVERO et al., 2015; SCHULZ; TONSOR, 2015). Nos seres humanos, o primeiro isolado de coronavírus foi descrito na década de 1960 e durante muito tempo foram associados apenas a quadros gripais leves. Foi apenas após o surgimento da SARS, em 2002 que os coronavírus entraram para a lista de potenciais ameaças à saúde humana mundial (ZHONG et al., 2003), NOGUEIRA et al., 2020; SHARMA et al., 2021; MALONE et al., 2022).

Até o presente momento, a literatura elenca sete espécies de coronavírus identificadas como infecciosas ao ser humano; duas delas pertencem ao gênero *Alfacoronavírus*, 229E e NL63, e quatro pertencem ao gênero *Betacoronavírus*, OC43, HKU1, SARS-CoV (causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave ou SARS) e MERS-CoV (causador da Síndrome Respiratória do Oriente Médio ou MERS) (ANDERSEN et al., 2020; CORMAN et al., 2018).

O primeiro caso de coronavírus ocorreu no Reino Unido por volta da década de 1967. Nos anos subsequentes registrou-se o surgimento de novas cepas, incluindo as três variantes mais patogênicas: SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 (o novo coronavírus). Casos de infecções causadas por estes coronavírus vêm sendo registrados ao longo do tempo em

vários lugares do mundo. Após o SARS-CoV, ter ocorrido como um surto epidêmico no final de 2002 na China, e considerado erradicado em meados de 2003 (POON et al., 2004), o MERS-CoV –coronavírus causador da síndrome respiratória do Oriente Médio – emergiu em humanos em 2012 (ZAKI et al., 2012). Comelevada taxa de mortalidade dos infectados, tendo assim causado pequenos surtos todos os anos, principalmente na península arábica. (DONNELLY et al., 2019). Em relação ao SARS-CoV-2, este foi inicialmente chamado de “nCoV-2019”; corresponde a segunda estirpe dentro da espécie Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus (GORBALENYA et al., 2020) e ficou conhecido como novo coronavírus, com os primeiros casos de infecção ocorridos na China em dezembro de 2019 (ANDERSEN et al., 2020; CORMAN et al., 2018).

**Figura 1** - Linha do tempo com o aparecimento de diferentes espécies de coronavírus



FONTE: PEREIRA; CRUZ; LIMA, (2021)

O papel dos morcegos na evolução de coronavírus é notável, similarmente ao que ocorre com porcos e aves para o vírus influenza. Esta relação insalúbre entre o homem e estes animais, provenientes da caça ilegal, estatisticamente destaca as regiões de maior risco para o surgimento de viroses emergentes. Fatores antropogênicos e não apenas a capacidade do vírus de adaptar-se a novos hospedeiros, são também determinantes na emergência de novas zoonoses (JONES et al., 2008; KARESH et al., 2012).

Os mecanismos que permitem aos coronavírus terem grande plasticidade de adaptação a novos hospedeiros, ainda não foram completamente elucidados, porém a elevada capacidade de recombinação viral, chegando a 25% do seu genoma, favorece a sua disseminação entre as diferentes espécies de animais, sobretudo os seres humanos (BANERJEE et al., 2019).

### 3.3 ESTRUTURA VIRAL SIMPLIFICADA DO SARS-COV-2

Há diferentes componentes estruturais que formam a partícula viral, dentre os quais se destacam: uma molécula de RNA, o nucleocapsídeo, o envelope, proteínas de membrana, glicoproteínas Spike e o dímero hemaglutinina–esterase (Fang Li, 2017 e Song et al. 2019). Os coronavírus são vírus envelopados e seu genoma é composto por uma molécula de RNA de fita simples, não segmentada, de polaridade positiva. As partículas virais são esféricas, embora pleomórficas, com aproximadamente 80-220 nm. O RNA genômico do SARS-CoV-2 possui aproximadamente 30 kb e, junto com os demais coronavírus, está entre os maiores vírus de RNA identificados até o momento (CHAN et al., 2020; ICTV, 2011).

Nos coronavírus, o RNA genômico está associado a múltiplas cópias de nucleoproteína, formando um nucleocapsídeo helicoidal, que pode ser liberado por tratamento com detergente. O envelope que envolve o nucleocapsídeo é formado por uma bicamada lipídica, na qual estão ancoradas as proteínas de Espícula (S), Membrana (M) e Envelope (E), ver figura 2 (HELMY et al., 2020; LI et al., 2020).

As glicoproteínas S formam estruturas denominadas espículas com formato aparente de coroa, característica que deriva o nome coronavírus, que se projetam do envelope para o meio externo e são fundamentais para a interação vírus-hospedeiro. Devido ao reconhecimento das espículas por receptores específicos, localizados na superfície da membrana plasmática da célula hospedeira, ocorre a fusão da partícula viral e a liberação do material genético do vírus no interior da célula (Yuan et al. 2020). Em síntese, este é o processo de invasão do coronavírus. As mutações na proteína S são as mais relevantes do ponto de vista clínico-epidemiológico (MICHELON et al., 2021; PAHO, 2022; GISAID, 2023).

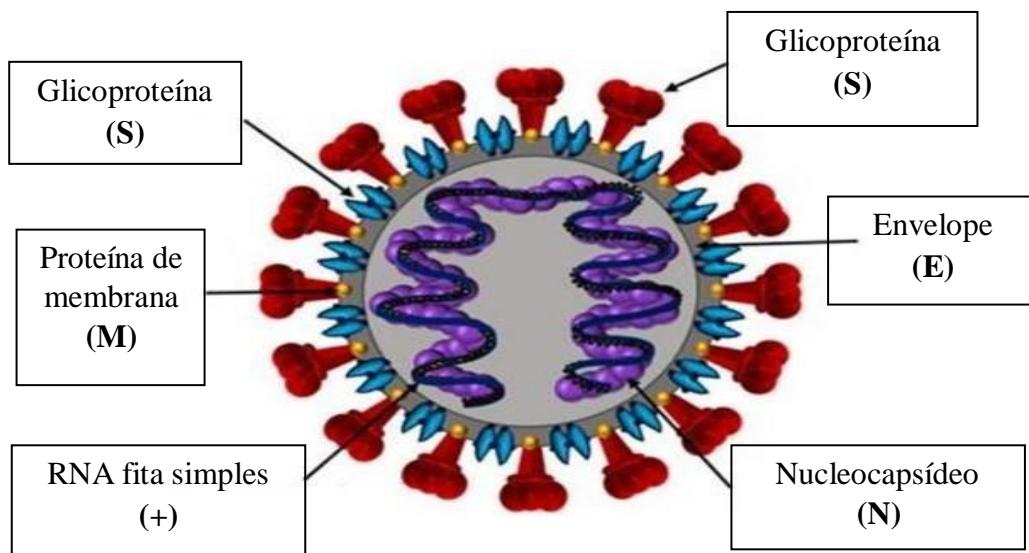
O papel central das proteínas M é a montagem da partícula viral. A partir da interação com outras proteínas do envelope e com o RNA viral, a proteína M atua na regulação do tamanho e do formato da partícula. Além disso, ela está associada à aglutinação de fatores virais e de membrana da célula hospedeira a fim de conduzir o processo de produção de novas partículas durante a replicação viral (NEUMAN et al. 2011 e

YOSHIMOTO, 2020).

A proteína HE representa um outro grupo de proteínas incorporadas à estrutura do vírus, também relacionadas diretamente à patogênese viral (Frieman; Baric, 2008). Seu mecanismo de ação está intimamente ligado ao trato respiratório, realizando o reconhecimento do ácido siálico presente na membrana das células pulmonares. A HE também foi identificada em vários outros tipos de vírus, como o da gripe C, Vírus da Hepatite do Camundongo (MHV), coronavírus bovino (BCV), dentre outros (Klausegger et al. 1999).

Por fim, no interior da partícula viral está o material genético do coronavírus, associado às proteínas N, cuja função é proteger o genoma viral (Yan et al. 2020). As proteínas N formam um capsídeo cilíndrico e oco, composto por capsômeros que circundam o material genético do vírus e atribuem à molécula um formato helicoidal (TORTORA et al. 2012).

**Figura 2.** Ilustração das principais estruturas encontradas no Corona vírus

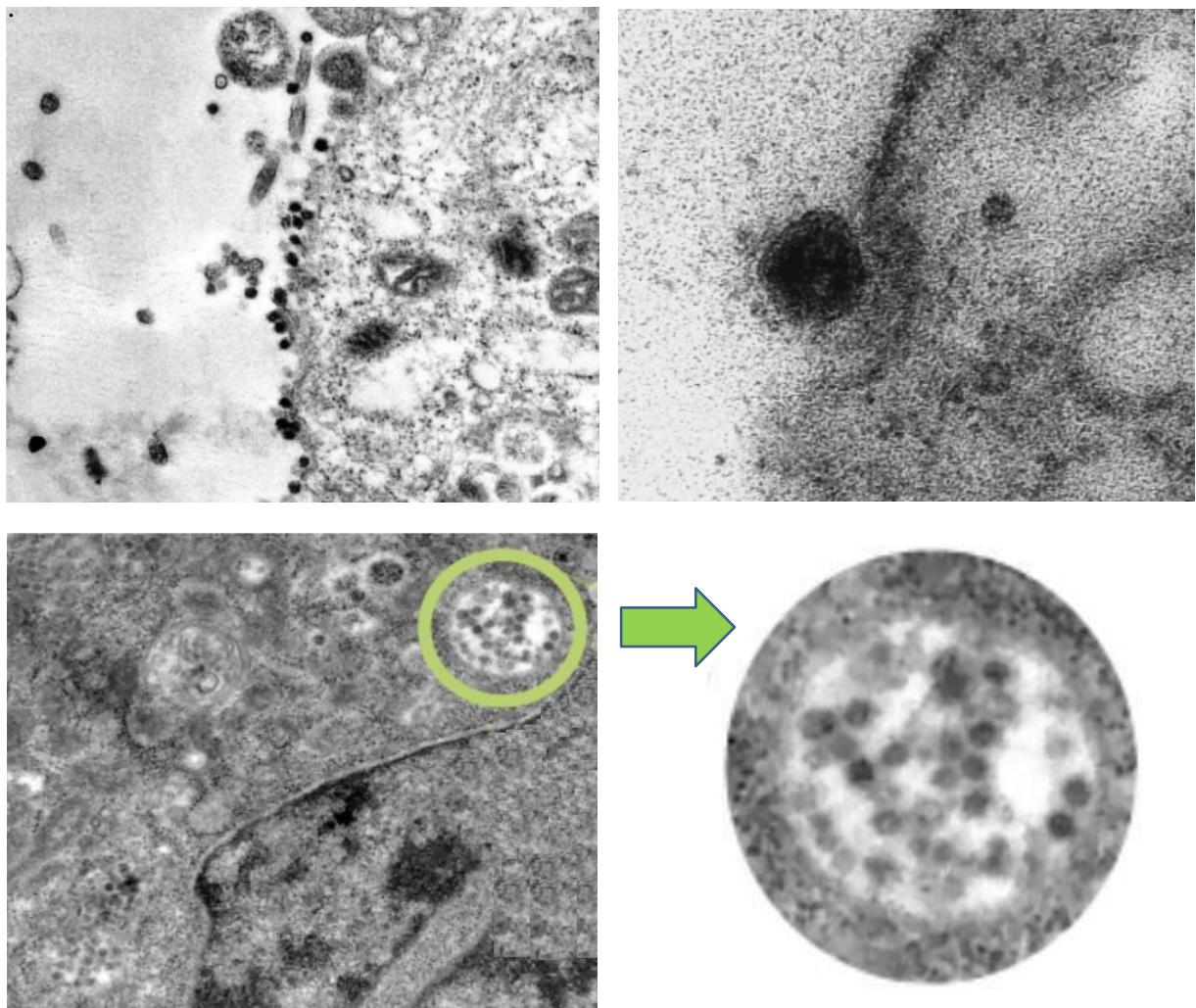


Fonte: J peiris, Y Guan & KYuen, Severe acute respiratory syndrome, nature medicine Supplement, 2004, 10 (12)

O receptor ECA2, ou seja, a Enzima Conversora de Angiotensina 2 desempenha um papel fundamental na infecção pelo vírus SARS-CoV-2. De acordo com South AM et al. (2020), o gene ECA2 está expresso em várias células epiteliais, incluindo as células epiteliais dos rins, intestinos, vasos sanguíneos e pulmões. No entanto, é nas células epiteliais pulmonares que há uma alta expressão do ECA2. Essas células são capazes de reconhecer a proteína S (*spike*) do vírus, que é essencial para a entrada do vírus nas células hospedeiras e o início da infecção.

Após a ligação do vírus às células epiteliais pulmonares através da interação entre a proteína S viral e a enzima ECA2 na membrana da célula, ocorre a internalização do vírus. Uma vez dentro da célula, o vírus utiliza a maquinaria de síntese proteica das células hospedeiras para replicar suas poliproteínas conforme pode ser visualizado na figura 3 (SOUTH AM, et al. 2020).

**Figura 3:** Infecção causada pelo novo coronavírus. Em 3A pode ser visualizado as partículas virais do SARS-CoV-2 (pontos escuros) aderidos à membrana da célula; em 3B, são visualizados os patógenos iniciando o processo de infecção; já em 3C percebe-se as partículas virais no interior da célula hospedeira, após a infecção e a replicação. 3D pode ser vista uma imagem ampliada das partículas virais no interior da célula hospedeira.



Fonte: Débora F. Barreto-Vieira/IOC/Fiocruz. <https://portal.fiocruz.br/noticia/covid-19-imagens-mostram-o-momento-da-infeccao-em-celula>. Acesso 20/07/2023.

O SARS-CoV2 infecta os seres humanos através do trato respiratório, quando entram em contato com as células epiteliais que compõem o tecido que reveste o sistema respiratório de cada indivíduo (WU et al., 2020). As partículas virais, quando se ligam ao receptor ECA2, presente tanto nas membranas plasmáticas do epitélio quanto nas células epiteliais alveolares, se replicam, consequentemente gerando dano celular, em parte do epitélio da mucosa brônquica e as células epiteliais alveolares (YAO XH, et al. 2020).

Entretanto, vale salientar que além da ação direta do vírus, respostas imunológicas do hospedeiro contra o SARS-CoV2, contribuem consideravelmente para a patogênese da doença, através da resposta inflamatória imunológica intensa, evidenciada pela presença de neutrófilos, linfócitos, monócitos e macrófagos. Necropsias minimamente invasivas revelam dano alveolar difuso, formação de membrana hialina e infiltrado inflamatório intersticial mononuclear, com trombose em microcirculação. Foram relatados nesses pacientes níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias (interleucinas 1 e 6, fator de necrose tumoral e interferon-g) no sangue, uma condição denominada “tempestade de citocinas”.

### 3.4 SINTOMATOLOGIA DA COVID-19

As manifestações clínicas variam, podendo se manifestar de forma sintomática e assintomática. Alguns sintomas iniciais se assemelham aos de outras infecções respiratórias virais (SILVA et al., 2022), como Norovirose e Influenza (SILVA et al., 2022).

Dispneia e febre alta são sintomas que definem a principal diferença clínica entre a COVID-19 e o resfriado comum, que é acompanhado de congestão nasal, lacrimejamento, espirros e coriza, inicialmente hialina, mas que ao longo dos dias se torna amarelo-esverdeada (BRASIL, 2021).

Embora esteja descrito na literatura que a COVID-19 se manifeste principalmente como uma infecção do trato respiratório, dados emergentes indicam que deve ser considerada uma doença sistêmica que envolve múltiplos sistemas, incluindo sistema cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, neurológico, hematopoiético e imunológico.

As pessoas infectadas podem ter apresentações clínicas em graus de intensidade e gravidade variáveis (Quadro 1), podendo apresentar-se com um quadro clínico assintomático ou com sintomas leves de infecção do trato respiratório superior (80% dos casos), outros (15%) correspondem àqueles em que a doença pode evoluir com complicações, podendo resultar em pneumonia grave e os demais (5%), podem apresentar insuficiência respiratória chegando a óbito (WHO, 2020; JOLY; SIGURET; VEYRADIER, 2020; PARASHER,

2020).

Tabela 1. Visão geral da COVID-19; gravidade da doença e suas manifestações clínicas

COVID-19	
Gravidade da doença	Apresentações clínicas
Assintomático	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sem sintomas clínicos</li> <li>- Teste de swab nasal positivo</li> <li>- Raio-X de tórax normal</li> </ul>
Doença leve	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Febre, dor de garganta, tosse seca, mal-estar e dores no corpo</li> <li>- Náusea, vômito, fezes pastosas</li> <li>- Dores de cabeça, fotossensibilidade, dor ocular</li> </ul>
Doença moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sintomas de pneumonia (febre e tosse persistentes), sem hipoxemia</li> <li>- Lesões significativas na TC de tórax</li> </ul>
Doença grave	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pneumonia sem hipoxemia (<math>SpO_2 &lt; 92\%</math>)</li> </ul>
Doença crítica	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), podendo estar acompanhada de choque, alterações de coagulação, encefalopatia, insuficiência cardíaca e lesão renal aguda</li> </ul>

Fonte: Adaptado de Zhu et al. (2020), Mao et al. (2020) e Tong et al. (2020).

O MS (2020) relata que indivíduos infectados por coronavírus também podem apresentar outros sintomas, como por exemplo: produção de escarro, obstrução nasal, congestão conjuntival, dificuldade na deglutição, dor de garganta, coriza, saturação de  $O_2 < 95\%$ , sinais de cianose, batimentos da asa de nariz e, por fim, dispneia. Outros sinais e sintomas inespecíficos como: fadiga, mialgia/artralgia, cefaleia, calafrios, linfonodomegalia, diarreia, náusea, vômito, desidratação e inapetência também podem estar presentes (WU et al., 2020). Além da intensidade da infecção, alguns sintomas predispõe um pior prognóstico da doença como é o caso da dispneia, e com o agravamento do quadro é realizado o diagnóstico da Síndrome da Angústia Respiratória (SARS) (HUANG et al., 2020).

De acordo com o Ministério da Saúde (MS), o diagnóstico clínico da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) é realizado mediante a identificação da Síndrome Gripal (SG) acompanhada de sintomas como opressão torácica, dispneia, saturação de oxigênio ( $SpO_2$ ) em ar ambiente inferior a 95% ou coloração azulada nos lábios, o que demanda uma pronta alocação do paciente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) devido ao alto risco de

insuficiência respiratória (IR) e óbito. Além disso, a presença de comorbidades, como diabetes, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), hipertensão e obesidade, pode estar associada a um agravamento mais significativo do quadro clínico do paciente.

De acordo com a Secretaria de Planejamento e Gestão do Estado de Pernambuco Seplag-PE, apesar do estado disponibilizar 1185 leitos de UTI Covid-19, a espera por vagas nesse tipo de leito durante o pico da pandemia de Covid-19, chegou a ter uma fila com 340 pessoas aguardando vaga nestes leitos, número registrado no dia 25 de maio de 2021, foi o maior desde o início da pandemia (PERNAMBUCO, 2021).

De acordo com a OMS (2020), aproximadamente 20% dos pacientes com Covid-19 requerem atendimento hospitalar por apresentarem dificuldade respiratória, dentre esses aproximadamente 5% podem desenvolver Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) e necessitar de suporte ventilatório. Diante dessa necessidade, novos leitos de UTIs precisaram ser criados visando o atendimento dos pacientes com as formas graves da Covid-19.

### **3.5 ANÁLISE DE OCUPAÇÃO DE LEITOS DE UTI COVID-19 (%) NO BRASIL COM DESTAQUE EM PERNAMBUCO**

O primeiro caso de infecção por SARS-CoV-2, no Brasil, foi constatado em 25 de fevereiro de 2020, em um viajante que retornou para o estado de São Paulo, do norte da Itália (JESUS et al., 2020). A partir de então, o número de casos confirmados no Brasil, aumentou diariamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Estes dados demonstram que após sua constatação em fevereiro do ano de 2020, no Brasil, o COVID deixou danos irreparáveis à população brasileira, chegando a atingir números assustadores conforme mostrado na tabela 2.

Estudos apontaram que, ao final do primeiro semestre, o maior índice de casos acumulados foi no estado de São Paulo, o qual representa o maior contingente populacional do Brasil, contabilizando mais do dobro de casos acumulados quando comparado a qualquer outro estado brasileiro, além de representar aproximadamente  $\frac{1}{4}$  dos óbitos registrados (NORONHA et al., 2020).

Em contrapartida, estados como Pernambuco e Rio de Janeiro tiveram uma taxa de letalidade maior quando comparados às demais Unidades Federativas. Ademais, o estado do Mato Grosso do Sul, além de apresentar uma taxa de casos/100 mil habitantes baixa, evidencia um grau de letalidade baixíssimo, sendo o menor do país (NORONHA et al., 2020).

**Tabela 2:** Infecções causadas pelo Sars CoV-2 no Brasil. Os dados revelam, dentre outras informações, o número de casos confirmados por estados da federação, número de óbitos acumulados e taxa de letalidade (%) ao final do primeiro semestre de 2020.

COVID-19					
ESTADOS	CASOS CONFIRMADOS ACUMULADOS	CASOS POR 100 MIL HABITANTES	ÓBITOS ACUMULADOS	ÓBITOS POR 100 MIL HABITANTES	TAXA DE LETALIDADE (%)
RIO GRANDE DO SUL	26941	235,97	614	5,38	2,28
SANTA CATARINA	26354	362,69	341	4,69	1,29
PARANÁ	22877	198,27	649	5,62	2,84
SÃO PAULO	281380	610,83	14763	32,05	5,25
RIO DE JANEIRO	111883	660,21	9848	58,11	8,8
MINAS GERAIS	45001	209,78	965	4,5	2,14
ESPÍRITO SANTO	46893	1133,05	1647	39,8	3,51
MATO GROSSO DO SUL	7965	284,39	76	2,71	0,95
GOIÁS	24910	354,97	491	7	1,97
MATO GROSSO	15328	443,64	590	17,08	3,85
BAHIA	73307	472,25	1853	11,94	2,53
SERGIPE	25411	1080,3	676	28,74	2,66
ALAGOAS	35962	1051,62	1052	30,76	2,93
PERNAMBUCO	58858	609,89	4829	50,04	8,2
PARAÍBA	46957	1145,89	977	23,84	2,08
RIO GRANDE DO NORTE	30352	843,51	1039	28,87	3,42
PIAUÍ	22059	682,12	686	21,21	3,11
CEARÁ	110483	1203,73	6146	66,96	5,56
MARANHÃO	80451	1129,75	2048	28,76	2,55
TOCANTINS	10764	673,04	200	12,51	1,86
PARÁ	105853	1226,73	4960	57,48	4,69
AMAPÁ	28492	3380,18	417	49,47	1,46
RORAIMA	14641	2677,13	283	51,75	1,93
AMAZONAS	70823	1670,27	2823	66,58	3,99
ACRE	13253	1528,94	365	42,11	2,75
RONDÔNIA	19820	1066,74	486	26,16	2,45
DISTRITO FEDERAL	49218	1527,06	587	18,21	1,19
BRASIL	1406236	663,08	59411	28,01	4,22

Fonte: FIOCRUZ 2020, adaptado pelo autor.

Seguindo esta linha de raciocínio, no Brasil, no primeiro semestre de 2020, houve um aumento expressivo na quantidade de leitos de UTI do adulto implementados em cada estado brasileiro, em resposta ao avanço da COVID 19 no Brasil. A maior porção das Unidades Federativas tiveram um aumento de no mínimo 50% de leitos criados, com exceção do estado de Goiás (NORONHA et al., 2020).

Doze estados apresentaram crescimento superior a 100%, com destaque notório do Amapá, que teve aumento de 312,5%. Entretanto, o número absoluto de leitos dessa localidade, apesar da ampliação exponencial, permaneceu muito baixo quando comparado às outras localidades. Ademais, as regiões sul e sudeste apresentaram as maiores proporções de crescimento de acomodações hospitalares em números absolutos. Destacando assim aproximadamente 90% dos leitos do país, quase dobrando seu número em todo território Nacional para atender a demanda, ver tabela 3 (DATASUS-CNES, 2020).

Tabela 3 . Porcentagem de crescimento do número de Leitos UTI Adulto tipo II destinados à pacientes contaminados com COVID-19 nas Unidades da Federação ao final do primeiro semestre de 2020.

REGIÕES DO BRASIL	ESTADOS	UTI ADULTO TIPO II	UTI II ADULTO SINDROME RESP. AGUDA GRAVE (SRAG)-COVID-19	AUMENTO %
SUL	RIO GRANDE DO SUL	1623	1701	104,8
	SANTA CATARINA	1063	991	93,2
	PARANÁ	2415	1209	50,1
SUDESTE	SÃO PAULO	6094	7047	115,6
	RIO DE JANEIRO	2749	2801	101,9
	MINAS GERAIS	4541	2289	50,4
	ESPÍRITO SANTO	1014	749	73,9
CENTROESTE	MATO GROSSO DO SUL	339	345	101,8
	GOIÁS	1386	579	41,8
	MATO GROSSO	564	516	91,5
	BAHIA	1976	1657	83,9
NORDESTE	SERGIPE	264	207	78,4
	ALAGOAS	309	420	135,9
	PERNAMBUCO	1677	1841	109,8
	PARAÍBA	550	413	75,1
NORTE	RIO GRANDE DO NORTE	493	574	116,4
	PIAUÍ	310	468	151,0
	CEARÁ	960	1177	122,6
	MARANHÃO	708	619	87,4
NORTE	TOCANTINS	186	94	50,5
	PARÁ	887	993	112,0
	AMAPÁ	24	75	312,5
	RORAIMA	43	30	69,8
	AMAZONAS	374	425	113,6
	ACRE	91	94	103,3
	RONDÔNIA	363	226	62,3
DISTRITO FEDERAL		701	450	64,2
BRASIL		31704	27990	88,3

Fonte: DATASUS-CNES 2020, adaptado pelo autor.

Para o cálculo da taxa de ocupação de leitos de UTIs, multiplica-se por cem o quociente resultante da divisão do número de leitos indisponíveis (ocupados + bloqueados)

pelo total do número de leitos operacionais, que pode ser representado pela seguinte fórmula:

$$\frac{\text{LEITOS OCUPADOS} + \text{LEITOS BLOQUEADOS}}{\text{LEITOS OPERACIONAIS}} \times 100 = \%$$

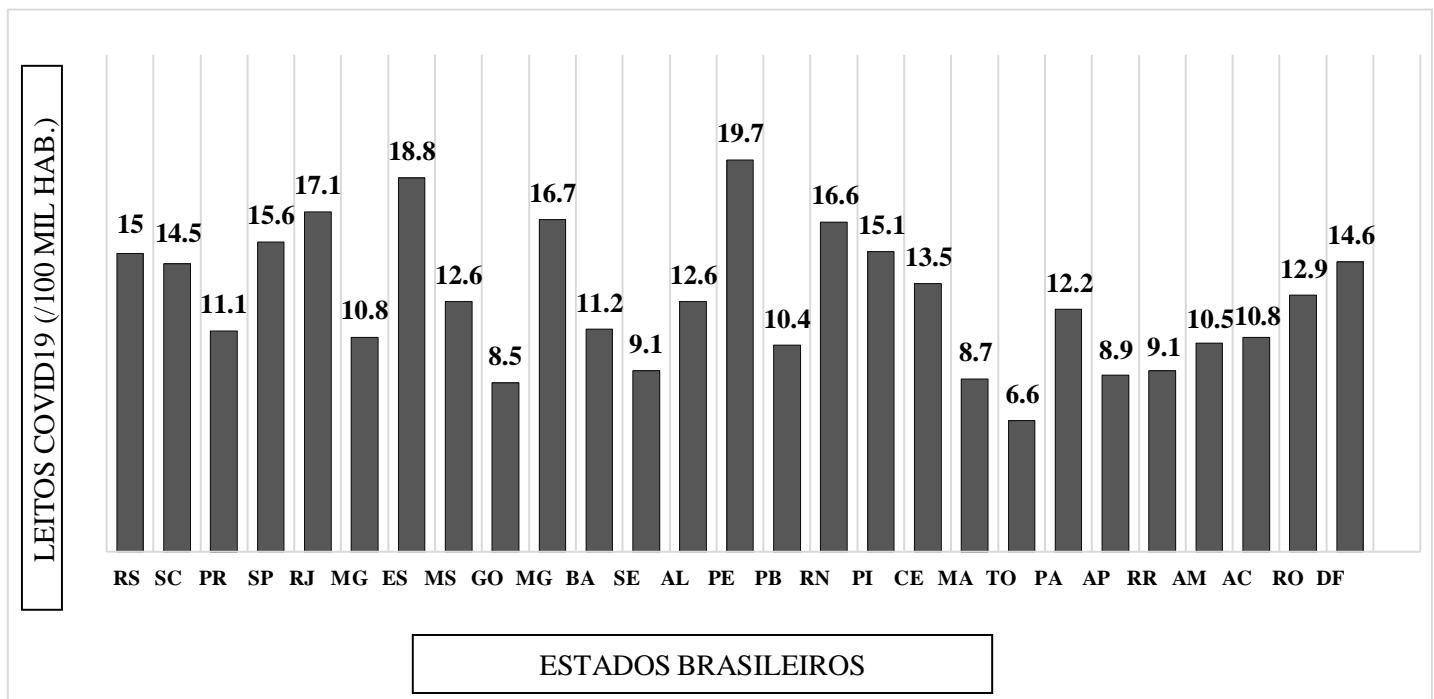
Os leitos bloqueados são assim classificados por vários motivos, que incluem “desinfecção e limpeza” nota-se que houve um aumento expressivo em cada estado brasileiro. O Brasil, foi um dos países mais atingidos pela COVID-19. Em 11 de março de 2021, 11.277.717 casos e 272.889 mortes foram relatados. Esses representam 9,5% e 10,4% dos casos e óbitos mundiais, respectivamente. No entanto, o Brasil compartilha apenas 2,7% da população mundial.

Aproximadamente, um ano depois, no primeiro semestre do ano de 2021, no estado de Pernambuco, de acordo com a Seplag-PE, apesar do estado ter disponibilizado 1185 leitos de UTI Covid-19, houve a espera por vagas nesse tipo de leito durante o pico da pandemia de Covid-19, chegou a ter uma fila com 340 pessoas aguardando vaga em leitos de UTI, número registrado no dia 25 de maio de 2021, foi o maior desde o início da pandemia (PERNAMBUCO, 2021).

Apesar de o governador do estado de Pernambuco (Sr. Paulo Câmara) ter anunciado, 05/04/2021, a interrupção no crescimento acelerado nas demandas por leitos de UTI destinados a Covid-19 em Pernambuco, a ocupação nas unidades de terapia intensiva continuou alta em todo o estado, acima dos 90% em média. Dos 2.773 leitos públicos para tratamento da doença, 1.558 foram de UTI, que estavam 97% ocupados. Já com relação aos 1.215 leitos de enfermaria, 82% estavam ocupados, segundo a secretaria estadual de saúde. Na rede privada, a ocupação de leitos de UTI esteve em 88% e os de enfermaria com 61%. (CBN RECIFE, 2021)

Em relação a disponibilidade de leitos COVID-19, percebe-se que Pernambuco e Espírito Santo foram os Estados brasileiros com maior disponibilidade, chegando próximo a marca de 20 leitos a cada 100 mil pessoas (Figura 4).

**Figura 4** - Leitos destinados a pacientes infectados pela COVID-19 por 100 mil habitantes nos Estados brasileiros ao final do primeiro semestre de 2020.



**Fonte:** Os autor, 2023.

A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) afirmou que na pandemia por COVID-19, o Brasil passou pelo "maior colapso sanitário e hospitalar da história". O monitoramento divulgado pela instituição aponta que 24 estados e o Distrito Federal apresentaram taxas de ocupação de leitos de UTIs do Sistema Único de Saúde (SUS) iguais ou superiores a 80%.

Estudos foram conduzidos para avaliar a capacidade de atendimento hospitalar em diversos países, porém, na prática, no Brasil a oferta de leitos hospitalares acabaram não sendo proporcional ao número de acometidos, o que levou rapidamente a saturação dos sistemas de saúde, em um curto espaço de tempo (PEREIRA, 2021).

Os pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) são considerados os mais expostos aos riscos de infecções relacionadas à assistência em saúde devido à sua condição clínica frequentemente debilitada e imunocomprometida, além de se submeterem a procedimentos invasivos (BLOT et al., 2022). Essas infecções representam a principal causa de óbito nesse contexto. Os pacientes na UTI apresentam de 5 a 10 vezes mais probabilidade de contrair infecções, e cerca de 20% das infecções hospitalares estão associadas a essa unidade, sendo as infecções relacionadas à Ventilação Mecânica (VM) as mais comuns (TRABULSI et al., 2015; OUCHENIR et al., 2017; KONEMAN et al., 2017; NORI et al., 2020; MARTINEZ-GUERRA et al., 2021).

### 3.6 INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE” (IRAS)

O conceito de IRAS é descrito como Infecções provenientes do processo de assistência à saúde, podendo ser considerado como hospitalar ou extra-hospitalar, como serviços de home-care, que surgem durante a internação ou após a alta hospitalar e que não estavam presentes, ou o microrganismo estava em período de incubação, durante a admissão do paciente no serviço de assistência à saúde, sendo diagnosticada, em geral, 72h após a internação (HAQUE et al., 2018; YIEK et al., 2021).

As IRAS apresentam causas e aspectos clínicos altamente heterogêneos. Considera-se que as mesmas possuem origem multifacetada, relacionadas aos procedimentos e sistemas de assistência à saúde, limitações econômicas e ao comportamento humano, como por exemplo, o procedimento de antisepsia das mãos. Embora seja um ato simples, a falta de policiamento entre os prestadores de serviços de saúde é um problema em todo o mundo. Atualmente, as organizações que visam a melhoria da segurança do paciente no ambiente hospitalar estão investindo em campanhas de sensibilização da necessidade de padrões e práticas de higienização das mãos na assistência à saúde (HAQUE et al., 2018; SERRABURRIEL et al., 2020).

Alguns microrganismos são responsáveis por causar infecções hospitalares e dependem de três fatores para se disseminarem: a imunossupressão do paciente, o tipo de procedimento realizado no ambiente clínico e a capacidade do microrganismo de causar doença, podendo acometer os pacientes através de duas fontes: endógena, quando a microbiota do paciente é a causadora; ou exógena quando a origem é de fontes externas ao paciente (BRASIL, 1998; DUTRA et al., 2015).

Embora estejam sendo assistidos por profissionais especializados, os pacientes graves acometidos pela COVID-19, puderam estar sujeitos a adquirir infecções no período de internação. Fatores intrínsecos e extrínsecos estão relacionados a vulnerabilidade para a ocorrência de IRAS, como a idade avançada, déficit imunológico, estado nutricional, diabetes, tabagismo e tempo de internação; características comumente observadas em âmbito das unidades de terapia intensiva (CARIOCA, 2019) sobretudo no pico da pandemia (PEREIRA, 2021).

No Brasil, fora do contexto de pandemia, aproximadamente cinco a 35% dos pacientes que dão entrada em UTI's adquirem algum tipo de IRAS, sendo esta a quarta causa de mortalidade no país (SANTOS et al., 2016). A infecção mais comum e mais grave adquirida em ambiente hospitalar é a pneumonia, seguida de sepse, infecções de trato urinário, infecções de sítios cirúrgicos, dentre outras. Um dos problemas mais alarmantes é o aumento de bactérias,

cada vez mais resistentes a múltiplos antimicrobianos, elevando consideravelmente o índice de mortalidade e tempo de hospitalização dos pacientes (SOUZA et al., 2015).

O desprovimento de alternativas terapêuticas no combate às infecções nosocomiais severas, provocadas por bactérias multirresistentes, está diretamente relacionado às características adaptativas das bactérias de relevância clínica, frente a pressão exercida por diversos antibióticos na seletividade destes microrganismos (LOREIRO et al., 2016; OLIVEIRA; KOVNER; SILVA, 2010).

### **3.7 RESISTÊNCIA BACTERIANA**

A Resistência Bacteriana (RAM) é uma preocupação premente e multifacetada. Seu surgimento é influenciado por uma interseção complexa de diversos fatores, incluindo o uso indiscriminado de antibióticos, a disseminação de genes de resistência entre as bactérias e a escassez de novos antimicrobianos eficazes. Essa problemática tem se manifestado de maneira alarmante, afetando uma ampla gama de patógenos em diferentes contextos clínicos. O avanço da RAM acarreta um aumento substancial nos índices de morbidade e mortalidade em escala global, representando uma ameaça significativa à saúde pública e exigindo medidas urgentes para conter sua propagação e mitigar seus impactos devastadores. (LIMA et al., 2020; BATRA et al., 2021).

O desenvolvimento da RAM ocorre naturalmente resultante da pressão seletiva. Mas, nos últimos anos, este evento vem sendo acelerado principalmente pelo uso generalizado e, por muitas vezes, inadequado de medicamentos, conferindo ao microrganismo a capacidade de resistir a um agente quimioterápico ao qual este é, normalmente, sensível (LOREIRO et al., 2016). Esta pode ser classificada em duas categorias principais: intrínseca e adquirida. A resistência intrínseca refere-se às características naturais e fenotípicas do microrganismo que são transmitidas verticalmente para a prole, ou seja, é uma parte intrínseca e inerente da herança genética do microrganismo, estando presente desde o seu nascimento ou formação, resulta de mecanismos de defesa específicos que conferem resistência a determinadas drogas ou agentes antimicrobianos (BLAIR et al., 2014).

Por outro lado, a resistência adquirida ocorre quando uma espécie bacteriana, que anteriormente era sensível a uma determinada droga, desenvolve a capacidade de resistir a essa substância (DAVIES; DAVIES, 2010). Nesse caso, ocorre o aparecimento de uma nova característica de resistência na espécie bacteriana, a qual não estava presente nas células genitoras. A resistência adquirida é resultado de alterações estruturais e/ou bioquímicas na célula bacteriana, que podem ser causadas por alterações genéticas cromossômicas ou extra-cromossômicas, como os plasmídios, por exemplo (BLAIR et al., 2014).

Essas alterações genéticas conferem à bactéria a capacidade de inativar, degradar ou evitar o efeito das drogas antimicrobianas, tornando-as ineficazes no tratamento da infecção bacteriana (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009; ZAVASCKI, et al., 2010).

Células bacterianas podem apresentar: alteração da proteína alvo, inativação enzimática, alteração da permeabilidade da membrana e mecanismo de efluxo. A alteração da permeabilidade da membrana corresponde à modificações dos canais de porinas, modificando a penetração e, consequentemente, a ação dos diferentes antibióticos. A alteração da proteína alvo está associada à modificação do sítio específico de ligação dos antibióticos na bactéria, diminuindo assim a afinidade da droga por esta região e, portanto sua atividade. Quanto à inativação enzimática, bactérias podem produzir enzimas como, por exemplo, as betalactamases, as quais neutralizam as drogas e seus efeitos antibióticos. Outromecanismo é o de efluxo ou bomba de efluxo que corresponde à propriedade de expulsarativamente os antibióticos para fora da célula, promovendo uma ação não efetiva do antimicrobiano (MARAGAKIS; PERL, 2008; ZAVASCKI, et al., 2010; GELLATLY; HANCOCK, 2013).

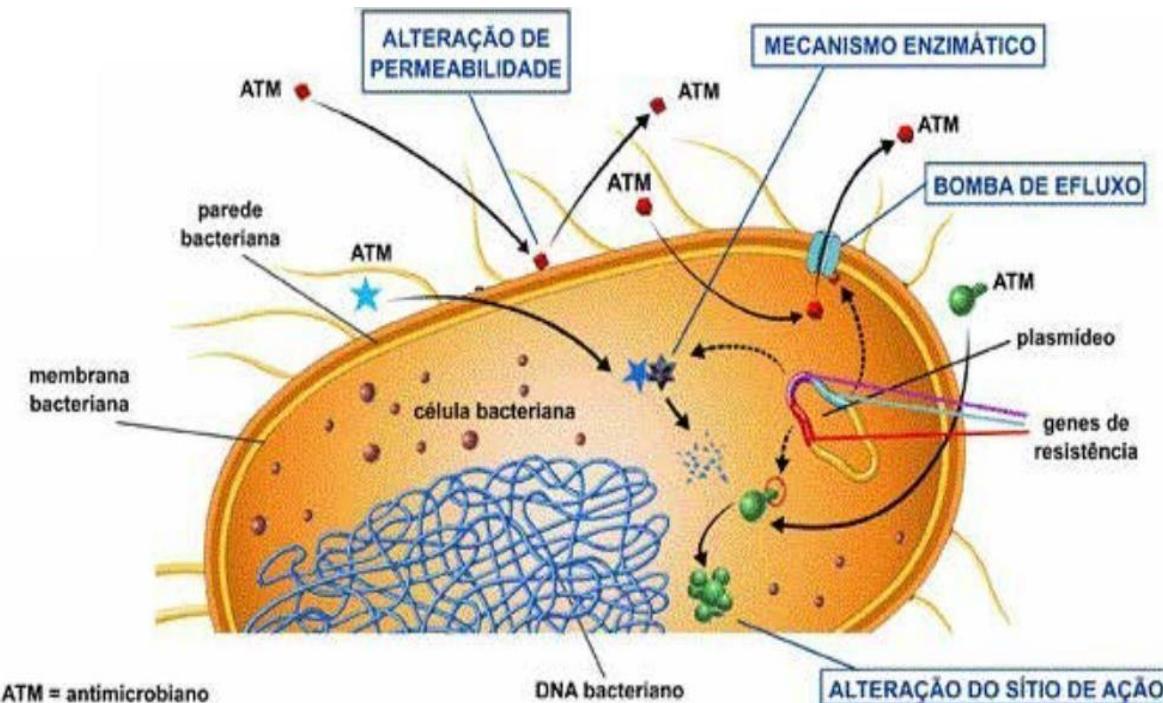
A baixa permeabilidade das membranas desse microrganismo, limita a capacidade de penetração de moléculas de antimicrobianos em suas células, associada à ineficiência nos canais de porina, conferindo as bactérias capacidade adaptativa a uma gama de antimicrobianos (BREINDENSTEIN et al., 2011; MARAGAKIS; PERL, 2008).

A expressão constitutiva da bomba de efluxo confere a estes microrganismos a capacidade de transportar moléculas para o exterior das células, ejetando antimicrobianos como cloranfenicol, fluoroquinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclínas e trimetoprima (GELLATLY; HANCOCK, 2013). Todos, no entanto, são propensos a terem suas atividades farmacológicas comprometidas pela resistência mutacional, como por exemplo, mutações das enzimas topoisomerase II e IV que resulta em resistência às fluoroquinolonas (LIVERMORE et al., 2002).

A resistência adaptativa acontece quando condições tais como exposições a concentrações antimicrobianas subinibitórias, formação de biofilmes e motilidade do tipo *swarming* levam ao aumento da resistência. Essas condições aumentam a regulação de genes que podem conferir resistência (BREINDENSTEIN et al. 2011).

Elementos de DNA, incluindo plasmídeos, transposons, integrons, profagos e ilhas de resistência podem ser transferidos entre as bactérias via conjugação, transformação ou por transdução, podendo conferir resistência a um ou mais antimicrobianos (ZAVASCKI et al., 2010; BREIDENSTEIN et al., 2011; GELLATLY; HANCOCK, 2013).

**Figura 5** - Visão geral dos principais mecanismos de resistência bacteriano



**Fonte:** [https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/mec\\_animacao.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mec_animacao.htm) acesso 04/12/2022

O fenômeno de patógenos Multidroga-Resistentes (MDR) tem se tornado cada vez mais alarmante, e se tornou um motivo de preocupação mundial, tanto em infecções nosocomiais quanto em infecções adquiridas na comunidade. Os patógenos MDR mais comuns e graves são reconhecidos pelo acrônimo "ESKAPE", que significa *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.* Estes microrganismos afetam principalmente pacientes imunocomprometidos (PATIÑO; CONTRERAS; LIMÓN, 2017; NATHWANI et al., 2014; HOWARD, 2012). De uma forma geral, o grupo "ESKAPE" vem mudando a dinâmica das infecções hospitalares representando um desafio para as equipes médicas, devido à facilidade em que estas bactérias apresentam em adquirir mecanismos de resistência a diversos agentes antimicrobianos, resultando em agravos, sobretudo na escolha da terapia medicamentosa eficaz.

Dentre estas espécies, merece destaque a *A. baumannii*, que vem sendo alvo de estudos, e de forma geral, é considerada patógeno prioritário, por fazer parte do grupo ESKAPE, segundo o boletim da OMS (2017), que recomenda fortemente a realização de pesquisas e o desenvolvimento de novos antimicrobianos, devido à sua ameaça mundial à saúde pública.

### 3.8 CARACTERÍSTICAS GERAIS DE *ACINETOBACTER BAUMANNII*

O gênero conhecido hoje como *Acinetobacter* sofreu modificações taxonômicas significativas desde sua descoberta. Seu primeiro microrganismo foi descrito em 1908 como *Diplococcus mucosus*, o qual foi posteriormente isolado do solo em 1911 por Beijerinck, sendo descrito como *Micrococcus calcoaceticus*. Anos mais tarde, 1954, foi proposto por Brisou e Prevot o gênero *Acinetobacter* que deriva do grego “Akinetos” (não mótil). Porém, só em 1971 o termo *Acinetobacter* foi oficialmente aceito (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008; HOWARD et al., 2012; BAUMANN et al., 1968; BRISOU; PREVOT, 1954; BEIJERINCK, 1911).

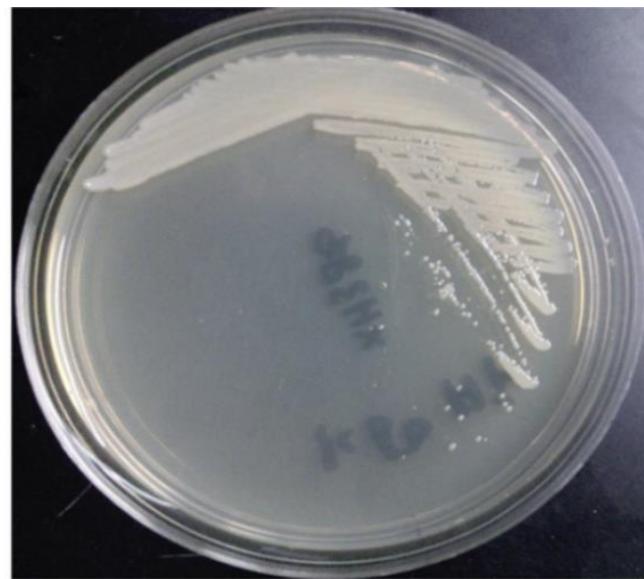
As espécies deste gênero se apresentam como cocobacilos gram-negativos sem motilidade, catalase positivo, oxidase-negativo e não fermentadoras de glicose. Pertencem à família Moraxellaceae, da ordem Gammaproteobacteria e são subdivididas em dois grupos: as que oxidam a glicose; *A. baumannii* é a mais comum, e as espécies que não oxidam a glicose, *A. lowffii* e *A. haemolyticus*. Estas crescem bem em meio de cultura sólido como ágar sangue formando colônias branco-acinzentadas e no ágar MacConkey formam colônias de coloração levemente rosa, convexas, translúcidas e opacas (TORTORA, 2017).

Atualmente, o gênero *Acinetobacter* comprehende 34 espécies de difícil distinção, sendo necessário, na maioria das vezes, a utilização de métodos precisos como de Biologia Molecular ou Espectrofotometria de Massas, que não são amplamente utilizados na rotina em laboratório clínico. A tabela 4 mostra as espécies deste gênero, classificando-as em comuns e incomuns a infecções humanas. *A. baumannii* é a espécie clinicamente mais relevante e faz parte do complexo *A. baumannii calcoaceticus*, que agrupa outras espécies: *A. nosocomialis* (anteriormente denominada genoespécie 13TU) e *Acinetobacter calcoaceticus* (de predominância ambiental) (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008; MARTINS; BARTH, 2013; KIM et al., 2014; LI et al, 2016; HOWARD et al, 2012)

Organismos pertencentes a este gênero são frequentemente considerados ubíquos e podem adaptar-se a diferentes ambientes, possuindo uma alta versatilidade nutricional, sendo encontrada em solo, água, vegetais, animais, pele e trato gastrointestinal de seres humanos saudáveis. A maioria das espécies que integram este gênero *Acinetobacter* não são patogênica, exceto *A. baumannii* (Figura 6). Esta espécie é um patógeno oportunista comumente associado a surtos de infecções nosocomiais causando infecções do trato urinário, pneumonias associadas à ventilação mecânica, bacteremias relacionadas ao uso de cateter venoso central, peritonites, meningites, principalmente em pacientes imunodeprimidos tornando um grave problema de saúde pública (MARTINS e BARTH, 2010; MARTINS et al, 2013). *A. baumannii* raramente é

encontrada em fontes ambientais. No entanto, esta espécie possui alta capacidade de se manter viável por longos períodos em superfícies secas, sendo frequentemente isolado no ambiente hospitalar em vários objetos abióticos como bancadas, leitos, equipamentos de raios- x, ventiladores, sistemas de circulação de ar entre outros (MARTINS; BARTH, 2013; HOWARD, et al., 2012; AL ALTROUNI et al., 2016).

**Figura 6:** *Acinetobacter baumannii* em meio Brain Heart Infusion (BHI) Agar.



**Fonte:** O autor, 2020.

**Tabela 4.** Espécies de *Acinetobacter spp.* descritas na literatura

<b>Espécies de <i>acinetobacter</i> comuns em infecções humanas</b>	<b>Espécies de <i>acinetobacter</i> incomuns em infecções humanas</b>		
<i>A. baumannii</i>	<i>A. baylyi</i>	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. qingfengensis</i>
	<i>A. beijerinckii</i>	<i>A. harbinensis</i>	<i>A. radioresistens</i>
	<i>A. bereziniae</i>	<i>A. indicus</i>	<i>A. rufidis</i>
	<i>A. boissieri</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. schindleri</i>
<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. bouvetii</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. soli</i>
<i>A. pittii</i>	<i>A. brisouii</i>	<i>A. kookii</i>	<i>A. tandoii</i>
<i>A. nosocomialis</i>	<i>A. gernerii</i>	<i>A. lwoffii</i>	<i>A. tjernbergiae</i>
	<i>A. guillouiae</i>	<i>A. nectaris</i>	<i>A. townieri</i>
	<i>A. grimontii</i>	<i>A. parvus</i>	<i>A. ursingii</i>
	<i>A. gyllenbergii</i>	<i>A. puyangensis</i>	<i>A. venetianus</i>

Fonte: O autor 2022 .

Nas últimas décadas, *A. baumannii* tem sido considerado um dos patógenos de maior relevância clínica, fato associado aos múltiplos mecanismos de resistência a antimicrobianos que esta espécie possui. Considerado oportunista, acomete pacientes imunodeprimidos ou submetidos a procedimentos invasivos, transplantados e principalmente em UTI, atingindo uma ampla gama de infecções nosocomiais, incluindo: pneumonia associada à ventilação mecânica, meningite, bacteremias, infecções cutâneas, do trato urinário, entre outras (PATIÑO; CONTRERAS; LIMÓN, 2017; MARTINS; BARTH, 2013).

O aumento da multirresistência a antimicrobianos por esse microrganismo oportunista obrigatório tornou-se alarmante, dificultando o tratamento eficaz e tornando fundamental o entendimento dos mecanismos de resistência presentes (PATIÑO; CONTRERAS; LIMÓN, 2017). Essa bactéria possui um amplo espectro de mecanismos intrínsecos e uma enorme capacidade de adquirir mecanismos de resistência a antimicrobianos, o que as tornam persistentes em ambiente hospitalares facilitando a emergência de cepas MDR - Multidrug-Resistant (Resistente a múltiplas drogas): Refere-se a microrganismos que desenvolveram resistência a pelo menos três classes diferentes de drogas antimicrobianas, XDR - Extensively Drug-Resistant (Extensivamente resistente a drogas): Refere-se a microrganismos que são resistentes a uma ampla variedade de drogas antimicrobianas, incluindo pelo menos uma droga de todas as classes de antimicrobianos disponíveis, exceto aquelas classificadas como "antibióticos de último recurso". E PDR - Pan Drug-Resistant (Resistente a todas as drogas): Refere-se a microrganismos que são resistentes a todas as classes de drogas antimicrobianas disponíveis, incluindo os antibióticos considerados como "antibióticos de último recurso". Isso significa que não existem antimicrobianos eficazes para tratar infecções causadas por essas cepas, o que representa uma grave ameaça à saúde pública, respectivamente. (LEMOS et al., 2013; CUENTAS, 2016)

Por muito tempo, os carbapenêmicos foram utilizados como último recurso para infecções causadas por *A. baumannii* MDR. Na década de 90, quando o primeiro isolado de Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) foi identificado, observou-se um aumento no número de isolados resistentes a esses antimicrobianos, limitando ainda mais as alternativas de tratamento (LIMA et al., 2020; MANCHANDA; SINHA; SINGH, 2010). A rápida emergência global de isolados de *A. baumannii* resistentes aos beta-lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, ilustra o grande potencial que essa bactéria tem de responder às mudanças na pressão seletiva ambiental. A regulação de mecanismos inatos de resistência e a aquisição de determinantes de resistência estrangeiros são habilidades que destacam o

potencial de resistência dessa espécie (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

A espécie também possui uma oxacilinase intrínseca de classe D, pertencente ao grupo de enzimas do tipo OXA-51 que constitui mais de 40 variantes de sequência. A natureza ubíqua de genes semelhantes a OXA-51 em *A. baumannii*, possibilitou que esse gene se tornasse um importante marcador genético na identificação dessa bactéria ao nível da espécie (CUENTAS, 2016; LEMOS et al., 2013; CONNELL; ACTIS; PANCHÓN, 2012). Os principais mecanismos de resistência identificados para diferentes classes de antibióticos estão resumidos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Principais mecanismos de resistência a antimicrobianos encontrados em *Acinetobacter baumannii*

CLASSE DA DROGA	MECANISMO DE RESISTÊNCIA	EXEMPLOS
β- lactâmicos	Inativação de enzimas Diminuição da expressão da proteína da membrana externa Alteração da expressão da proteína de ligação à penicilina	β-lactamases (AmpC, TEM, VEB, PER, CTX-M, SHV) Carbapenemases (OXA-23, -40, -51, -58- 143-like, VIM, IMP, NDM-1, -2) CarO, proteína 33–36 kDa, proteína OprD-like PBP2
Fluoroquinolonas	Bombas de efluxo Modificação do alvo Enzimas modificadoras de aminoglicosídos	AdeABC Mutações em gyrA e parC AdeABC, AdeM AAC, ANT, APH
Aminoglicosídeos	Bombas de efluxo Metilação ribossomal	AdeABC, AdeM ArmA
Tetraciclinas	Bombas de efluxo Proteção ribossômica	AdeABC, TetA, TetB TetM
Glicilciclinas	Bombas de efluxo	AdeABC
Polimixina (colistina)	Modificação do alvo	As mutações no sistema de dois componentes PmrA / B (modificação LPS), Mutações nos genes da biossíntese de LPS

**Fonte:** Adaptado de Mc Connell, Actis e Pachón (2012).

Destaca-se a capacidade notável que *A. baumannii* possui, não só de aquisição horizontal de traços genéticos, mas também da reorganização de genes pré-existentes. Essa espécie apresenta um genoma cromossomal relativamente pequeno e um genoma extra cromossomal grande, que hospeda numerosos genes de resistência aos antibióticos, além de determinantes de virulência, provavelmente adquiridos pelo processo de transferência horizontal de genes (WEBER et al., 2015).

O fenótipo de resistência para um antimicrobiano pode se dar por um único mecanismo de resistência ou pela sinergia de mecanismos (LIN; LAN, 2014). O acúmulo de vários mecanismos de resistência em *A. baumannii* diminuiu gradualmente o número de classes de antibióticos disponíveis para tratar infecções por essa bactéria na prática clínica (LEE et al., 2017). Os principais mecanismos de resistência identificados para diferentes classes de antibióticos estão resumidos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Fatores de virulência descritos para *Acinetobacter baumannii*

FATOR DE VIRULÊNCIA (GENE)	PAPEL PROPOSTO NA PATOGÊNESE
OmpA ( <i>ompA</i> )	Indução de apoptose em células hospedeiras, aderência e invasão de células epiteliais, formação de biofilmes, motilidade superficial, resistência ao soro.
Lipopolissacarídeo ( <i>lpsB</i> )	Evasão da resposta imune do hospedeiro
Polissacarídeo capsular ( <i>ptk</i> e <i>epsA</i> )	Evasão da resposta imune do hospedeiro, crescimento no soro
Fosfolipase D (A1S_2989)	Resistência ao soro, disseminação bacteriana, sobrevivência bacteriana <i>in vivo</i>
Proteína 7/8 de ligação à penicilina ( <i>pbpG</i> )	Biossíntese de peptidoglicano, estabilidade celular, crescimento no soro
Vesículas de membrana externa	Entrega de fatores de virulência ao citoplasma de células hospedeiras, transferência de material genético entre células bacterianas
Sistema de aquisição de ferro mediado por acinetobactina	Fornece ferro necessário para persistir no host, causa apoptose celular

**Fonte:** Adaptado de Mc Connell, Actis e Pachón 2013.

De um modo geral, a aderência de *A. baumannii* a superfícies bióticas e abióticas resulta do desenvolvimento de biofilmes, permitindo que ela cresça persistentemente em condições e ambientes desfavoráveis. A formação de biofilme é bastante variável entre os isolados clínicos, sem apresentar correlação entre a natureza da superfície que está sendo aderida. Adicionalmente, envolve uma série de fatores bacterianos e sinais químicos que facilita, portanto, sua formação (LEMOS et al., 2013; MCCONNELL; ACTIS; PACHÓN, 2012; HOWARD et al., 2012).

### 3.9 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS B-LACTÂMICOS

Em 1928 Alexander Fleming descobre o antibiótico, a penicilina. A penicilina é um antibiótico beta-lactâmico de baixa toxicidade, com essa descoberta acreditou-se que as

doenças infecciosas havia acabado, mas o aparecimento de bactérias como *S. aureus* que produziam beta-lactamases mostrou o contrário, essas bactérias inativavam as enzimas tornando os antibióticos ineficazes.

Em sua maioria os beta-lactâmicos tem ação contra bactérias gram-negativas e gram-positivas. Dentre as bactérias Gram-negativas, a produção de Beta-lactamases é o mais importante mecanismo de resistência contra agentes beta-lactâmicos. As betalactamases são enzimas capazes de inativar os antibióticos betalactâmicos sendo consideradas as principais causas de resistência a este conjunto de agentes antibacterianos (ROSA et al., 2021). O impacto clínico da prevalência de bactérias produtoras dessas enzimas é extensamente crítico, devido a dependência de cefalosporinas e carbapenêmicos para o tratamento de infecções graves, especialmente na saúde humana e animal (LIMA et al., 2020; BATRA et al., 2021).

Em 1940 foram identificadas as primeiras betalactamases em cepas clínicas de *S. aureus*, logo após a introdução da Penicilina G na clínica médica, indicando assim, que o uso inadequado de betalactâmicos foi o ponto de partida para o surgimento de mutações ou transferência de genes que codificam novos tipos de betalactamases. As primeiras enzimas mutantes, SHV-2, foram isoladas em 1983, em isolados de *Klebsiella spp.* (LIMA et al., 2020; SANTOS et al., 2022).

A partir da descoberta da penicilina, outros  $\beta$ -lactâmicos foram descritos e são atualmente divididos em quatro principais grupos em função da estrutura química apresentada: penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (Tabela 7). Estruturas ligadas diretamente a esse núcleo comum os diferenciam, além dos demais radicais presentes nas cadeias laterais, o que caracteriza cada representante desses grupos (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012).

Todos os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos têm um elemento estrutural farmacofórico em comum, o anel azetidinona de quatro membros ou anel  $\beta$ -lactâmico. Este anel central é fundido a outros membros, como no caso das penicilinas que são formadas por um anel tiazolidínico ou nas cefalosporinas, um anel difidrotiazínico, qualquer alteração estrutural pode levar à perda da atividade antibacteriana da molécula. As modificações estruturais possíveis ficam restritas às cadeias laterais ao se adicionar diferentes grupos químicos a esse núcleo resultando em várias famílias de penicilinas com novas propriedades fisico-químicas e farmacológicas (ESSACK, 2001; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

**Tabela 7.** Visão geral da estrutura química dos principais grupos dos  $\beta$ -lactâmicos.

Classe	Estrutura	Nota
<b>Penicilinas</b>		Consistem de um anel de tiazolidina fundido com o anel de $\beta$ -lactâmico em que as diferentes cadeias laterais de grupos acilas estão ligadas a radicais. (Ex. Ampicilina, amoxicilina, piperacilina).
<b>Cefalosporinas</b>		Consistem de um anel de tiazolidina fundido com o anel de $\beta$ -lactâmico em que as diferentes cadeias laterais de grupos acilas estão ligadas a radicais. (Ex. Cefalotina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefotetam e cefepima).
<b>Monobactâmicos</b>		Possui um anel de di-hidrotiazina fundido ao anel $\beta$ -lactâmico. (Ex. Aztreonam)
<b>Carbapenêmicos</b>		Assemelha-se às penicilinas, com exceção do anel de cinco elementos em que o átomo de enxofre foi substituído por um átomo de carbono e tem uma ligação dupla entre o carbono 2 e 3. (Ex. Imipenem, meropenem e ertapenem).

Fonte: Adaptado de Essack (2001).

A partir da base estrutural ácido 6-aminopenicilinas, inicialmente produzidas por fermentação, foi possível produzir várias compostos sintéticos e semi-sintéticos. As penicilinas G e V, ativas contra cocos Gram-positivos, têm sua ação inativada por hidrólise da ligação  $\beta$ -lactâmica e da cadeia lateral de acilamino do antibiótico através das enzimas penicilinases e acilases, respectivamente, produzidas por essas bactérias. Penicilinas como ampicilina e amoxicilina compõem um grupo de drogas com ação melhorada sobre bactérias Gram-negativas (FERNANDES; AMADOR; PRUDÊNCIO, 2013).

As cefalosporinas são agentes antimicrobianos semi-sintéticos derivados do fungo *Cephalosporium acremonium*. Este grupo possui um núcleo básico, o ácido 7-aminocefalosporânico que é composto por um anel  $\beta$ -lactâmico ligado a um anel diidrotiazínico.

São distribuídos em quatro gerações, de acordo com algumas características microbiológicas e estruturais (BUSH; BRADFORD, 2016). A primeira geração destes fármacos apresentam menor atividade em comparação às penicilinas, porém possuem boa atividade sobre alguns cocos gram-positivos, como *S. aureus*, *S. pyogenese* e *S. pneumoniae*.

Já as cefalosporinas de segunda geração, possuem maior espectro de ação frente à bactérias gram-negativas, entretanto, são menos efetivas que as de terceira geração. A terceira geração inclui as de amplo espectro de ação, como cefotaxima, ceftazidima e ceftriaxona. Apesar de normalmente serem menos ativas do que aquelas de primeira geração contra cocos gram-positivos, elas exibem atividade muito maior contra as enterobactérias, incluindo linhagens produtoras de  $\beta$ -lactamases clássicas. As cefalosporinas de quarta geração, como cefepima, possuem um maior espectro de ação quando comparadas às de terceira geração (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; SOUSA, 2006).

Os carbapenêmicos, como imipenem e mais recentemente doripenem, foram apontados como alternativas terapêuticas no combate as infecções nosocomiais graves, provocadas, principalmente por bactérias gram-negativas multirresistentes, como aquelas produtoras de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL). Estes compostos exibem também um espectro de ação mais amplo em relação a todos os outros antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo cocos gram-negativos e gram-positivos, bacilos gram-negativos e gram-positivos e algumas cepas multirresistentes e anaeróbias (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012).

Já os monobactâmicos, como o aztreonam que é o único representante dessa classe, apresentam atividade restrita a bactérias gram-negativas, como *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia enterocolitica*, entre outras. Esse grupo de  $\beta$ -lactâmicos apresenta considerável estabilidade à degradação pela maioria das  $\beta$ -lactamases (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Dentre os  $\beta$ -lactâmicos, inclui-se também o grupo dos inibidores de  $\beta$ -lactamases, como ácido clavulânico, sulbactam ou tazobactam, que atuam como coadjuvantes dos antibióticos, potencializando o espectro das penicilinas no combate a microrganismos produtores de  $\beta$ -lactamases. Tais fármacos possuem similar estrutura ao da penicilina, com variação apenas na cadeia lateral. Funcionam como substrato para as  $\beta$ -lactamases e dessa forma deixam disponível o antibiótico para que este exerça sua atividade farmacológica. Associações frequentes são piperacilina com tazobactam aplicado no combate a infecções

do trato respiratório inferior e vias urinárias e amoxicilina com ácido clavulânico em infecções do trato respiratório (INFARMED, 2011).

Os  $\beta$ -lactâmicos são os antimicrobianos mais utilizados no combate às infecções bacterianas, correspondendo a muitas das prescrições de antibióticos utilizados na prática médica no mundo. São prontamente adotados devido a sua eficácia e segurança clínica e, especialmente, a sua alta toxicidade seletiva. Sua atividade pode ser estendida ou restaurada por meio de manipulações em sua estrutura química e, portanto, nenhuma outra classe de antimicrobiano fornece igual maleabilidade química e versatilidade (FERNANDES; AMADOR; PRUDÊNCIO, 2013).

O uso extensivo de antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos cada vez mais frequente tem ocasionado pressão seletiva com consequente surgimento de bactérias multirresistentes. Tal fenômeno possui impacto direto na escolha da terapia antimicrobiana mais adequada, contribuindo para o insucesso terapêutico e, por vezes, a morte do paciente acometido por este tipo de infecção.

### **3.10 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS B-LACTAMASES**

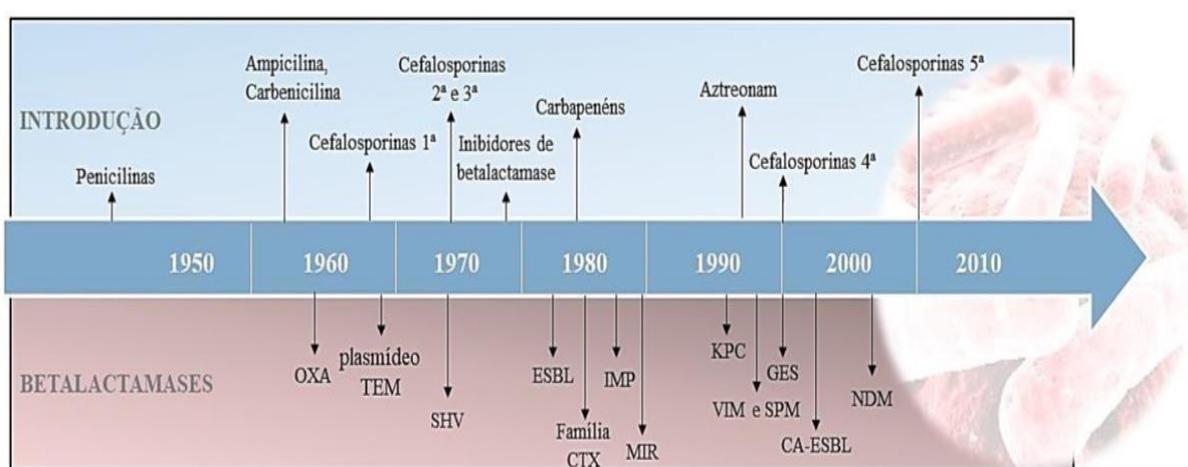
As  $\beta$ -lactamases são enzimas que hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico e são classificadas conforme a estrutura e as características bioquímicas e funcionais. A classificação baseada na estrutura molecular foi inicialmente proposta por Ambler (1980), dividindo as  $\beta$ -lactamases em quatro diferentes grupos (A, B, C e D), considerando a similaridade entre as sequências de aminoácidos. A segunda importante classificação foi postulada por Bush, Jacoby e Medeiros (1995) dividindo-as em quatro grupos (1, 2, 3 e 4) levando em conta, além de seu aspecto funcional, sua estrutura, seus substratos e sensibilidade aos inibidores de  $\beta$ -lactamases, Tabela 8 (BUSH; FISHER, 2011; BUSH, et al., 1995). O número de betalactamases descritas, atualmente, excede 1.300, tornando um dos grupos de enzimas mais numerosos que tem sido estudado em detalhes. Seu impacto clínico é, particularmente, crítico por causa da dependência de betalactâmicos para o tratamento das infecções bacterianas (BUSH, 2013).

A introdução dos betalactâmicos na clínica médica foi inicialmente bem-sucedida no tratamento de várias infecções bacterianas, salvando inúmeras vidas. No entanto, o uso indiscriminado ao longo do tempo levou ao desenvolvimento de resistência em alguns patógenos que adquiriram mecanismos para neutralizar a ação dos betalactâmicos conforme destada a figura 7. A evolução de patógenos produtores de betalactamases é fortemente

impulsionada pelo uso irracional de antimicrobianos, promovendo a disseminação de múltiplos genes codificadores de resistência. Essa resistência abrangente afeta diversas classes de antimicrobianos, limitando as opções terapêuticas efetivas. A coexistência de genes de resistência representa um desafio complexo no tratamento de infecções. Nesse contexto, é crucial promover o uso criterioso de antimicrobianos e implementar estratégias de controle de infecções para enfrentar o contínuo desenvolvimento de resistência bacteriana. (LIMA et al., 2020; BATRA et al., 2021).

Em 1940, as primeiras betalactamases foram identificadas em cepas clínicas de *S. aureus*, logo após a introdução da Penicilina G na clínica médica, o que aponta para o uso inadequado de betalactâmicos como um fator desencadeante de mutações ou transferência de genes que codificam novos tipos de betalactamases. As primeiras enzimas mutantes, como a SHV-2, foram isoladas em 1983 em *Klebsiella spp.* na Alemanha Ocidental. Nos bacilos gram-negativos, observa-se que o surgimento de novas variantes dessas enzimas ocorre simultaneamente com a aplicação de novos betalactâmicos na prática clínica humana e animal. Essa relação sugere que a pressão seletiva exercida por esses antimicrobianos pode estar contribuindo para o surgimento e disseminação dessas enzimas resistentes, tornando essencial a vigilância e o uso criterioso dessas drogas para conter o desenvolvimento de resistência bacteriana. (LIMA et al., 2020; SANTOS et al., 2022).

**Figura 7.** Relação entre a introdução da utilização de betalactâmicos e o surgimento das enzimas betalactamases.



(JUNIOR, 2022)

A resistência aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos é resultante da ação de ESBL, um grupo diversificado de enzimas codificadas por genes que concede resistência às cefalosporinas de terceira e quarta geração e aos monobactâmicos. Porém, a maioria é

bloqueada por inibidores de  $\beta$ -lactamases. Além dessas enzimas, vêm sendo descritas as carbapenemases, que são capazes de hidrolisar todos os  $\beta$ -lactâmicos. A prevalência e o aumento de bactérias resistentes devem-se, em grande parte, à produção dessas enzimas que são derivadas de mutações pontuais (SEYEDJAVADI; GOUDARZI; SABZEHALI, 2016; ELRAMALLI; ALMSHAWT; AHMED, 2017).

**Tabela 8.** Classificação molecular e agrupamento funcional de  $\beta$ -lactamases.

Classificação		Enzimas representantes	Mecanismos de ação
Class Ambler	Grupo (Bush-Jacob)		
C	1	AmpC, CMY-2, FOX-1, MIR-1, P99	Hidrolisa cefalosporinas, cefamicinas e penicilinas.
C	1e	GC1 e CM Y-37	Hidrolisa penicilinas e até a 3 <sup>a</sup> geração de cefalosporinas.
A	2a	PC1	Hidrolisa melhor penicilinas do que cefalosporinas.
A	2b	SHV-1, TEM-1, TEM-2	Hidrolisa similar para penicilinas e cefalosporinas
A	2be	TEM-3, SHV-5, TEM-10, TEM-26, SHV-2, CTX-M15, PER-1, VEB-1	Hidrolise ampliada para todas as cefalosporinas e aztreonam
A	2br	TEM-30, TEM-76, TEM-103, SHV-10, SHV-26	Hidrolisa penicilinas e primeiras cefalosporinas.
A	2ber	TEM-50, TEM-68, TEM-89	Hidrolisa penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos.
A	2c, 2ce	PSE-1, CARB-3	Hidrolise carbenicilina.
D	2d	OXA-1, OXA-10	Hidrolisa ampliada para Cloxacilina ou oxacilina
D	2de	OXA-11, OXA-15	Hidrolisa ampliada para penicilinas e todas as cefalosporinas.
D	2df	OXA-23, OXA-48	Hidrolisa ampliada para penicilinas e carbapenêmicos.
A	2e	CepA	Hidrolisa cefalosporinas, mas não monobactâmicos.
A	2f	MI-1, KPC-2, KPC-3, SME-1, GES-2	Hidrolisa todos $\beta$ -lactâmicos, inclusive carbapenêmicos.
B	3a	IMP-1, L1, VIM-1, NDM-1	Hidrolisa todos $\beta$ -lactâmicos, exceto monobactâmicos.
B	3b	CphA, Sfh-1	Hidrolisa todos $\beta$ -lactâmicos, exceto monobactâmicos.

**Fonte:** Adaptado de Bush e Jacoby (2010); Buch e Fisher (2011).

### 3.11 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS AMPICILINASES C

Em 1940, descobriu-se a primeira enzima de resistência a penicilina em *E. coli*.

Porém, os estudos genéticos só ocorreram em 1965 e, as mutações com resistência gradual foram denominadas *ampA* e *ampB*. A primeira consistia na regulação do gene *ampA* que ocasionava a produção de betalactamases em excesso e a presença de uma mutação nesse gene, gerava redução na resistência sendo denominado, portanto, *ampC* (LINDSTROM; BOMAN; STEELE, 1970). Já *ampB*, era um *locus* que causava alteração do envelope celular (ERIKSONN-GRENNBERG; NORDSTROM; ENGLUND, 1971).

As ampicilinases C, também conhecidas como cefalosporinases, são enzimas que proporcionam resistência às penicilinas, inibidores de  $\beta$ -lactamases, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, portanto, sensíveis à cefepima (4<sup>a</sup> geração). Possuem baixa afinidade aos carbapenêmicos. No entanto, quando a enzima é produzida em grande quantidade, fecha as porinas das bactérias, tornando possível a hidrólise do antimicrobiano e proporcionando a resistência aos carbapenêmicos. Quando presente, o gene *ampC* (localizado nos cromossomos), possibilitam que as bactérias regulem molecularmente a sua expressão gênica sintetizando, quando necessário, essa  $\beta$ -lactamase (BOU & MARTÍNEZ-BELTRÁN, 2000). Contudo, essas enzimas são adquiridas por algumas bactérias por meio de plasmídios, podendo estar presente também nos genes cromossomais, como em algumas bactérias gram-negativas, a exemplo de *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, além de representantes da família Enterobacteriaceae (SUAREZ et al., 2006; GHAFOURIAN et al., 2015).

### 3.12 B-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO

As  $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido (ESLB) são enzimas que possuem a capacidade de hidrolisar cefalosporinas de terceira e quarta gerações e aztreonam e, podem ser inativadas por inibidores específicos, como o clavulanato, sulbactam e tazobactam. Estas enzimas são sintetizadas a partir de genes que sofreram mutações pontuais, com a substituição de um a quatro aminoácidos, que acarreta a ampliação da atividade hidrolítica das enzimas originais. Seus representantes pertencem ao grupo 2B (TEM, SHV e CTX-M) e ao grupo 2D (OXA), de acordo com a classificação de Bush- Jacoby-Medeiros (SILVA; LINCOPAN, 2012).

Além dessas famílias de ESBL já bem estabelecidas (TEM, SHV e CTX-M), há outras enzimas que também possuem atividade de espectro-estendido sendo descritas (K1, BES-1, CME-1, GES-1, IBI-1, IBI-2, PER-1, PER-2, VEB-1, SFO-1, derivadas OXA), porém estas são encontradas com menor freqüência (RUSCHEL et al., 2008).

A primeira beta-lactamase codificada por elemento genético móvel foi identificada em um isolado de *E. coli* (TEM-1) e sua localização em plasmídeos e transposons possibilitou

sua disseminação por transferência horizontal em outras espécies de *Enterobacteriaceae* como também em *P. aeruginosa*, *H. influenza* e *N. gonorrhoeae*. Na América Latina, a primeira descrição de ESBL foi descrita no Chile, sendo reportada a presença de SHV-5 (SILVA; LINCOPAN, 2012).

Vale ressaltar que, os plasmídeos que possuem o gene que codifica para ESBL podem conter genes que codificam resistência a outros antimicrobianos como aminoglicosídeos, sulfonamidas, tetraciclinas, quinolonas e cloranfenicol o que torna ainda mais desafiador o controle destas infecções (RUSCHEL et al., 2008).

### **3.13 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA METALO- $\beta$ -LACTAMASES (MLB)**

Considerado o grupo mais importante clinicamente, as metalo- $\beta$ -lactamases, pertencem ao grupo 3 da classificação de Bush e a classe B de Ambler. Estas enzimas são capazes de hidrolisar todos os  $\beta$ -lactâmicos, com exceção do monobactâmico aztreonam. O primeiro MLB foi detectado em 1988, no Japão, em um isolado de *P. aeruginosa*. Nos últimos anos, tem sido detectado com freqüência em espécies da família Enterobacteriaceae e no gênero *Acinetobacter*. Esta disseminação resulta da prescrição dos carbapenêmicos utilizados como último recurso nas infecções por microrganismos gram-negativos multirresistentes, além da natureza móvel que apresentam e as dificuldades na sua detecção e indisponibilidade clínica de inibidores. Consequentemente, estes estão emergindo como um importante problema de saúde pública em todo mundo. Baseado em características bioquímicas, este grupo de enzimas foi subdividido em dois grupos. O grupo 3 (inclui as principais famílias, codificadas por plasmídeos, como IMP e VIM), bem como as pertencentes a subclasse 3b (CAU-1, GOB-1 e FEZ-1), (MALTEZOU, 2009; BUSH; JACOBY, 2011).

### **3.14 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SERINO- $\beta$ -LACTAMASES**

Pertencentes a classe molecular A e subgrupo 2f, as serino- $\beta$ -lactamases são enzimas que apresentam um resíduo de serina no centro ativo de suas estruturas e possuem atividades frente a penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e aztreonam. Suas representantes são IMI-1 e NMC-1, encontradas nos genes *GES-3*, *GES-4* e *KPC*, codificadas por plasmídeos. As que merecem destaque, no entanto, incluem as do tipo *KPC* e algumas enzimas GES, que vêm sendo associadas, a grandes surtos de infecções em gram-negativas resistentes a vários medicamentos em unidades hospitalares, com disseminação e abrangência mundial. Atualmente, as famílias *KPC* e *GES* podem incluir pelo menos 10 sequências de aminoácidos únicas e 17 variantes específicos, em bactérias fermentadoras e não fermentadores (BUSH;

FISHER, 2011). Inicialmente, a *KPC* foi identificada em um isolado de *K. pneumoniae* nos Estados Unidos em 1996 e posteriormente se difundiu para outros membros da família Enterobacteriaceae. As serino-β-lactamases possuem capacidade de hidrolisar todos os antibióticos β-lactâmicos disponíveis na prática clínica e tem ação contra outras classes de antibióticos como aminoglicosídeos e macrolídeos. Isolados de Enterobacteriaceae, *Acinetobacter spp.* e *P. aeruginosa* produtoras de *KPC*, vem recebendo destaque mundial como multirresistentes, muitos dos quais, são tratáveis apenas por colistina/polimixinas e tigeciclinas (BUSH; FISHER, 2011; BUSH; JACOBY, 2010; ROBLEDO, 2010).

### 3.15 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS AMINOGLICOSÍDEOS

Os antibióticos Aminoglicosídeos são antibióticos constituídos por dois ou mais aminoácidos, unidos por ligação glicosídica à hexose ou ao aminociclotol. Essas substâncias são majoritariamente de origem natural, uma vez que são produzidas por microrganismos. Por outro lado, eles também podem ser obtidos *in vitro*, por síntese química, à base de produtos naturais. Esse é o caso da netilmicina, amicacina, arbucacina e isepamicina (Durante-Mangoni et al., 2009).

A resistência aos aminoglicosídeos em *A. baumannii* pode ser alcançada por meio de proteínas de efluxo extrusoras desses compostos (revisadas abaixo) ou pela expressão de Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos (EMAs), especificamente acetiltransferases, nucleotidiltransferases e fosfotransferases (Cho et al., 2009). A atividade dos AMEs resulta na modificação dos grupos hidroxila ou amino presentes nos aminoglicosídeos que diminuem sua afinidade pelo sítio alvo (Smith e Baker, 2002).

Os AMEs podem estar localizados no cromossomo bacteriano ou em plasmídeos e geralmente estão associados a integrons de classe 1 e ilhas de resistência, onde dois ou mais genes de resistência a aminoglicosídeos geralmente ocorrem em combinação (Cho et al., 2009).

Essas enzimas atuam modificando quimicamente os aminoglicosídeos, tornando-os inativos ou menos eficazes na inibição da síntese proteica bacteriana. Existem diferentes classes de EMAs, cada uma com mecanismos de ação específicos: Acetiltransferases (AACs): As AACs adicionam grupos acetila aos aminoglicosídeos, modificando sua estrutura química e reduzindo sua afinidade pelos ribossomos bacterianos. Isso impede que os antibióticos se liguem aos sítios ativos do ribossomo e, consequentemente, inibam a síntese proteica bacteriana. (SHAW et al., 1993). Fosfotransferases (APHs): As APHs adicionam grupos fosfato aos aminoglicosídeos, o que altera a carga elétrica dessas

moléculas. Essa modificação prejudica a ligação dos aminoglicosídeos aos ribossomos bacterianos, diminuindo sua eficácia como antibióticos. Nucleotidiltransferases (ANTs): As ANTs adicionam grupos nucleotídicos aos aminoglicosídeos, causando alterações estruturais que impedem sua interação com os ribossomos bacterianos. Isso leva à perda de atividade antimicrobiana dos aminoglicosídeos. Adenililtransferases (AADs): As AADs adicionam grupos adenosina aos aminoglicosídeos, resultando em mudanças conformacionais que afetam sua ligação aos ribossomos bacterianos. Isso torna os aminoglicosídeos menos eficazes como antibióticos. (Kim et al., 2008; Karthikeyan et al., 2010).

### **3.16 TIPAGEM MOLECULAR E RELAÇÃO CLONAL**

A tipagem molecular é de extrema importância na área da microbiologia e epidemiologia, pois permite a identificação e caracterização de diferentes linhagens e cepas bacterianas de forma precisa e detalhada. Essa técnica utiliza marcadores genéticos específicos para distinguir os microrganismos em estudo, permitindo a análise de suas semelhanças e diferenças genéticas (MAHMOUD et al., 2020).

Os surtos de doenças infecciosas são comumente resultantes da exposição a um agente etiológico de origem comum, cujos descendentes são geneticamente idênticos ou estritamente relacionados (LEE; PARK, 2020). Em termos epidemiológicos, os organismos envolvidos em surtos são relacionados clonalmente. Estes organismos são membros de uma mesma espécie e possuem fatores de virulência e características bioquímicas e genéticas semelhantes (PFALLER et al., 2001; BAKHSI; AFSHARI; FALLAH, 2018). No entanto, grandes variações genéticas não são distinguidas nos testes microbiológicos e bioquímicos tradicionais. Desta forma, a aplicação de tecnologias modernas e avançadas, como ferramentas de diagnóstico molecular e impressões digitais moleculares, pode ser uma escolha apropriada em investigações epidemiológicas moleculares (MEACHAM et al., 2003; BEHZADI; BEHZADI 2007; MOMTAZ et al., 2013).

A investigação da diversidade molecular de bactérias gram-negativas em um determinado local, pode envolver diferentes métodos, tais como análise plasmidial (CHEN et al., 2009), eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) (CHMELNITSKY et al., 2008), ribotipagem clássica (IVERSEN et al., 2007), DNA polimórfico amplificado aleatório (RAPD) (YE et al., 2010), polimorfismo de fragmento amplificado (AFLP) (IVERSEN et al., 2007), ribotipagem por reação em cadeia da polimerase (PCR) e tDNA-PCR (LOPES et al., 2007), PCR dos elementos repetitivos palindrômicos extragênicos (REP-PCR) e PCR de consenso intergênico repetitivo enterobacteriano (ERIC-PCR) (XU et al., 2020), e multilocus sequence typing (MLST) (SALAZAR-OSPINA; VANEGAS; JIMÉNEZ, 2021). A ERIC-PCR destaca-

se como uma tecnologia de genotipagem simples, precisa e econômica para discernir as diferentes impressões digitais de DNA em várias cepas bacterianas (RANJBAR et al., 2017; SCAVUZZI et al., 2017; FIRMO et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

No ambiente hospitalar, a disseminação de clones resistentes e de genes pode ser atribuída ao contato direto entre profissionais de saúde e pacientes, bem como à transferência de pacientes entre diferentes unidades hospitalares. Estudo conduzido por Cassetari et al. (2006) revelou a presença de isolados com padrões moleculares idênticos em diversas enfermarias, inclusive alguns isolados apresentaram perfis genéticos idênticos às cepas isoladas das mãos dos profissionais de saúde. Nesse contexto, a tipagem molecular torna-se imprescindível para identificar surtos de infecções, determinar suas fontes e desempenhar um papel crucial na detecção de transmissão cruzada de patógenos no ambiente hospitalar (LIMA et al., 2020).

A disseminação clonal de bactérias, tanto intra como inter-hospitalar, vem sendo descrita e representa um desafio crescente para a saúde pública, devido à capacidade de certos microorganismos em persistir e adaptar-se em ambientes hospitalares (LIMA et al., 2020). Esse fenômeno é impulsionado, em grande parte, pela alta capacidade de sobrevivência dos patógenos em superfícies inertes, formação de biofilmes e disseminação por meio de dispositivos médicos, como cateteres e ventiladores mecânicos (MAHMOUD et al., 2020).

A análise molecular por meio de técnicas como Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) ou Eletroforese em Gel de Campo Pulsado, Multilocus Sequence Typing (MLST) ou Tipagem de Sequências Multilocus e Whole-Genome Sequencing (WGS) ou Sequenciamento do Genoma Completo, tem fornecido evidências da presença de clones de *Acinetobacter* em diferentes hospitais e ao longo do tempo, apontando para uma disseminação regional e global de linhagens resistentes e virulentas. Esses estudos têm sido importantes para identificar surtos e compreender a disseminação de cepas resistentes entre instituições de saúde (KUNDU et al., 2022).

A movimentação de pacientes entre hospitais e a transferência direta de cepas resistentes entre pacientes e profissionais de saúde são fatores importantes que contribuem para a disseminação clonal. Além disso, a rápida evolução e disseminação de mecanismos de resistência, como  $\beta$ -lactamases e carbapenemases, têm agravado o cenário, tornando o tratamento eficaz dessas infecções ainda mais desafiador.

### **3.17 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO BIOFILME**

O biofilme é uma estrutura de grande importância na patogênese das infecções causadas por microrganismos e foi descrito pela primeira vez na década de 1930. Essas formações

tridimensionais, multicelulares e complexas consistem em aglomerados de bactérias e/ou fungos que se organizam em comunidades, aderindo de forma irreversível a diversas superfícies, sejam bióticas ou abióticas. Essas estruturas têm sido objeto de estudo em várias pesquisas recentes, destacando-se as investigações conduzidas por Verderosa, Totsika e Fairfull-Smith (2019), Rossi et al. (2021), Gedefie et al. (2021) e Silva et al. (2022).

Essas estruturas são formadas a partir de comunidades biológicas estruturadas, coordenadas e funcionais de microrganismos, capazes de produzir uma matriz polimérica, na qual encontram-se imersas. O biofilme promove uma barreira protetora entre as bactérias e o ambiente, atuando como um importante fator de virulência, atribuindo às cepas bacterianas resistência aos antimicrobianos e imunidade do hospedeiro (COSTA-JÚNIOR et al., 2018).

São reportadas diversas espécies de microrganismos capazes de produzir biofilmes, em bactérias patogênicas de infecções hospitalares, infecções comunitárias, colonizadoras e ambientais. Os microrganismos isolados de hospitais apresentam maior prevalência em amostras de superfícies de dispositivos médicos e tecidos vivos, como válvulas cardíacas, pulmões e esmalte dentário (ALAV, SUTTON, RAHMAN, 2018; COSTA-JÚNIOR et al., 2018).

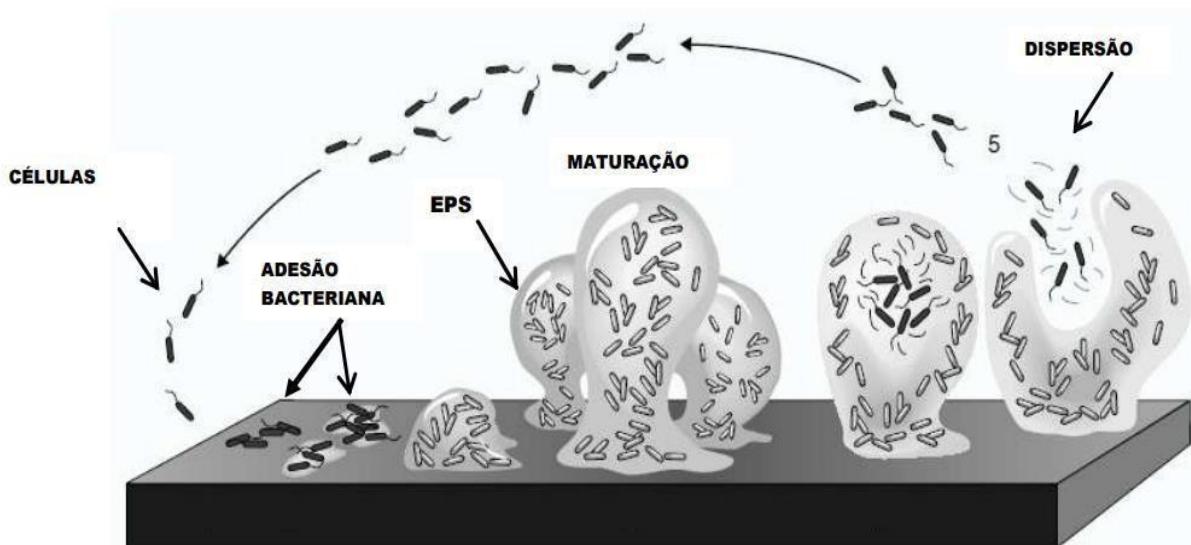
Esses microrganismos estão intrinsecamente associados a uma matriz extracelular ou Substância Exopolimérica (EPS), que desempenha um papel crucial na patogênese, tornando as opções de tratamento mais desafiadoras. A forma planctônica (vida livre) de várias espécies bacterianas é pouco comum na natureza, com a maioria delas encontrando-se em estados de vida comunitária, formando biofilmes (Berlanga & Guerrero, 2016; Pelling et al., 2019; Ciofu & Tolker-Nielsen, 2019).

A matriz autoproduzida (EPS) representa aproximadamente 80% da biomassa do biofilme. Sua composição varia entre diferentes espécies, podendo ser mono ou multiespécies, e inclui componentes como celulose, alginatos, proteínas, lipídios, fosfolipídios, polissacarídeos, ácidos nucleicos (como o DNA extracelular ou eDNA e RNA), biossurfactantes, metabólitos, glicose e outros compostos orgânicos. Essa matriz desempenha um papel fundamental na tolerância e formação do biofilme, desde sua adesão, proporcionando interações físicas, até sua capacidade de facilitar a troca de antimicrobianos e genes de resistência (Pang et al., 2019; Gebreyohannes et al., 2019; Vestby et al., 2020).

A formação dos biofilmes bacterianos ocorre em três estágios: adesão e colonização, formação da matriz e maturação (Figura 9). A formação inicial do biofilme ocorre a partir da adesão das cepas bacterianas à superfície e dividem-se para a formação das microcolônias. Estas se fundem em grandes agregados, deixando canais abertos para permitir a passagem de fluidos

contendo nutrientes. À medida que o biofilme envelhece, as células sésseis tornam-se cobertas com a matriz polimérica e exopolissacarídica, comportando-se como barreira de difusão contra agentes antibacterianos, células fagocitárias e componentes do sistema complemento (ALAV, SUTTON, RAHMAN, 2018; SAIPRIYA et al., 2020).

**Figura 9** - Representação esquemática do ciclo de formação de biofilme.



Fonte: Adaptação de Mermel (2014).

Dessa forma, o biofilme proporciona o ambiente ideal para troca de materiais genéticos e comunicação entre os microrganismos. As taxas de transferências genéticas em biofilmes apresentam ordens de magnitudes elevadas quando comparadas as taxas entre as células de vida livre, consequentemente, há o aumento da resistência a antimicrobianos, sanitizantes e detergentes. A matrix polissacarídica pode aumentar em até 1000 vezes os valores de CIM bacteriano (SAUER et al., 2022).

O tratamento de infecções causadas por cepas produtoras de biofilmes tornou-se um desafio em virtude da ausência de fármacos eficazes com atividade antibiofilme. Frequentemente, exigem-se altas doses de antimicrobianos comerciais como opções terapêuticas frente esses microrganismos, porém o uso de altas doses dos fármacos convencionais pode levar a efeitos adversos prejudiciais à saúde do paciente (ALAV, SUTTON, RAHMAN, 2018).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL FENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA

Os 36 isolados de *A. baumannii* investigado neste trabalho foram provenientes de pacientes positivados para o novo corona vírus, internos em UTI's direcionadas à Síndromes Respiratórias Agudas Graves (UTI's SRAGs) de um hospital público de grande porte da capital pernambucana, nordeste do Brasil, entre o período de agosto de 2020 a dezembro de 2021. Estas amostras foram semeadas em BHI e incubadas a 37 °C por 24 h e mantidas em glicerol 25% (v / v) a -80 °C. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisas que envolvam humanos (CEP/Plataforma Brasil) registrado sob o número de CAAE: **5.848.665**.

Todos os isolados foram inicialmente identificados pelo sistema Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 o qual também permitiu determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (MIC) para diversos antibióticos e identificar o perfil de suscetibilidade de acordo com as recomendações do BrCast (2021). Para isso, foram utilizados os seguintes antimicrobianos: Amicacina, Ciprofloxaxina, Gentamicina, Imipenen, Levofloxacina, Meropenem, Polimixina B, Trimetoprim-Sulfametoxozol e Colistina. O perfil de resistência foi avaliado de acordo com a frequência de isolados MDR, XDR e N-MDR.

### 4.2 IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA POR MALDI-TOF-MS

Para confirmação taxonômica dos isolados foi utilizada a técnica MALDi-TOF MS. As colônias bacterianas foram suspendidas em 300 µL de água Milli-Q e depois adicionados 900 µL de etanol absoluto. As suspensões foram centrifugadas a 15.600 g por 2 min, o sobrenadante removido e o sedimento foi seco em *SpeedVac* por 20 min. Em seguida, foram adicionados 50 µL de ácido fórmico a 70% e 50 µL de acetonitrila. A mistura foi homogeneizada em agitador vortex, centrifugada a 15.600 g por 2 min e o sobrenadante transferido para um novo microtubo. A matriz preparada com ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico (10 mg/mL), acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 0,3% foi aplicada na placa de MALDi com a amostra em temperatura ambiente para cristalização. A aquisição dos espectros de massas, em modo linear positivo (Voltagem de aceleração: 20 kV e Faixa de detecção - m/z: 2.000 – 20.000), foi realizada pelo Programa Flex Control Version 3.0 em Espectrômetro de Massa MALDi-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA). Os espectros de massa obtidos foram comparados com o Banco de Dados MALDi Biotyper Version 3.1.

### 4.3 IDENTIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Para identificação dos genes de resistência, os isolados foram submetidos à PCR direcionada aos genes β-lactâmicos (*blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* e *blaSHV*) e aminoglicosídeos (*aac*

(6')-Ib-cr, ant (3')-Ia e aph (3')-Ia). A reação foi preparada para um volume final de 25 µL por tubo, compreendendo: 50 ng de DNA genômico, 10 pmol do primer 1 ×, 200 µM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e enzima Taq DNA polimerase (2U). As reações foram realizadas no termociclador (Biosystems) e após aquecimento prévio (95 °C por 5 min), foram realizados 35 ciclos de 1 min a 95 °C, 1 min na temperatura específica de anelamento para cada *primer* (Tabela 1) e 1 min a 72 °C. A extensão final foi de 10 min a 72 °C para os genes *blasHV* e *blaKPC* e 5 minutos a 68 °C para os genes *blaIMP* e *blaVIM*. Enquanto que para os genes de aminoglicosídeos, após o aquecimento prévio (94 °C por 5 min), o DNA foi submetido a 30 ciclos de 1 min na temperatura específica para cada *primer* (Tabela 1), 1 min a 72 °C e 10 min a 72 °C de extensão final para ambos.

**Tabela 1** Sequência dos *primers* de resistência e virulência utilizados no presente estudo

Primer	Gene	Sequencia (5'-3')	Temperatura		Referência
			de	anelamento	
KPC - For	<i>blaKPC</i>	TGTCACTGTATGCCGT	63 °C		Yigit et al. (2001)
KPC - Rev		CTCAGTGCTCTACAGAAAACC			
SHV - For	<i>blasHV</i>	GGGTTATTCTTATTGTGCG	62 °C		Rasheed et al. (2000)
SHV - Rev		AGCGCGAGAACATCCTG			
IMP - For	<i>blaIMP</i>	GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC	60 °C		Dong et al. (2008)
IMP - Ver		GTGATGCGTCYCCAAYTTCAGT			
VIM - For	<i>blaVIM</i>	CAGATTGCCGATGGTGTGG	62 °C		Dong et al. (2008)
VIM - Rev		AGGTGGGCCATTAGCCAGA			
<i>aac(6')-Ib-</i>	<i>aac(6')-</i>	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	54 °C		EFTEKHAR;
<i>cr</i>	<i>Ib-cr</i>	CTCGAATGCCTGGCGTGT			SEYEDPOUR, 2015
Ant(3')-Ia	Ant(3')-	TCGACTCAACTATCAGAGG	55 °C		MIRÓ et al., 2013
	Ia	ACAATCGTGACTTCTACAGCG			
aph(3')-Ia	aph(3')-	CGGCGTGGCGGGCGACTG	55 °C		MIRÓ et al., 2013
	Ia	CCGGATGGAGGACGATGTTGG			

Os produtos de PCR (3 µL) juntamente com o corante Blue DNA (1 µL) foram adicionados em gel de agarose 1% (p / v) para visualização dos *amplicons*. O gel foi então submerso em 0,5 × tampão Tris / Borato / EDTA e submetido a uma voltagem constante de 100 V. Um marcador de 1 kb (Plus DNA Ladder, Invitrogen) foi usado como padrão de peso molecular. Após o término da eletroforese, os *amplicons* foram visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados. Uma amostra (*amplicon*) de cada gene foi purificado seguindo o protocolo do kit de purificação PureLink (Invitrogen) e sequenciados em sequenciador automático de DNA ABI 3100. As sequências obtidas foram comparadas com outras sequências depositadas

no banco de dados *Genbank* do NCBI usando a ferramenta BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

#### 4.4 FORMAÇÃO DE BIOFILME

A formação de biofilme foi avaliada em microplacas de poliestireno pelo método de Cristal Violeta descrito por Stepanovic et al. (2007), em meio de cultura BHI. Após a incubação (37 °C / 24h), o inóculo foi retirado, as microplacas lavadas (3×) com solução salina estéril a 0,9% e o biofilme fixado (55 °C / 1h). Na sequência, foi acrescentado Cristal Violeta (0,4 %) em temperatura ambiente por 15 minutos, seguido de três lavagens para retirar o excesso do corante e adicionado etanol absoluto por 30 minutos. A partir das leituras de Densidade Óptica (DO) a 570 nm, foi determinada a média dos valores da absorbância de cada amostra (DOa) em comparação com a absorbância do Controle de Esterilidade (ODc). As amostras foram classificadas como fortes ( $4 \times \text{ODc} < \text{ODa}$ ), moderadas ( $2 \times \text{ODc} < \text{ODa} \leq 4 \times \text{ODc}$ ) e fracas ( $\text{ODc} < \text{ODa} \leq 2 \times \text{ODc}$ ) formadoras de biofilme.

#### 4.5 ERIC-PCR

As reações da ERIC-PCR foram preparadas com volume total de 25 µL por tubo, compreendendo: 100 ng de DNA genômico, 40 pmol de iniciadores (ERIC-1 [5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3']; ERIC-2 [5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGC G-3']), 1 × Bufer, 200 µM de trifosfato de desoxirribonucleotídeo, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 1,0 U da enzima Taq DNA polimerase. Os parâmetros de amplificação utilizados (Tabela 2) foram de acordo com Duan et al. (2009). Os produtos da PCR foram corados por Blue-Green (Kasvi, Brasil), submetidos à eletroforese 1,5% em gel de agarose; visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados para posterior análise de perfil clonal. Os padrões de amplificação foram comparados ao marcador de peso molecular para genotipagem dos isolados. Estes padrões permitiram a construção de uma matriz binária submetida a uma análise filogenética detalhada. Coeficiente de similaridade, método de agrupamento, otimização e valores de tolerância foram avaliados com base em Duan et al (2009). Bandas observadas em géis de agarose foram avaliadas com base na presença (codificado 1) ou ausência (codificado 0) de fragmentos polimórficos em *primers* ERIC. A análise de *cluster* foi realizada em NTSYS-pc (Versão 2.20), pacote de *software* de taxonomia numérica e análise multivariada com base no coeficiente de Similaridade de Dados (SD) com posição de 1% tolerância, bem como no método de Grupo de Pares Não Ponderados com Média Aritmética (UPGMA). Por fim, cada isolado foi considerado uma Unidade Taxonômica Operacional (OTU). Isolados apresentando 90% de similaridade foram tratados como um único isolado (DUAN et al., 2009).

**Tabela 2.** Sequência dos *primers* utilizados para tipagem molecular (ERIC-PCR) mostrando as condições de temperatura e referência utilizada.

<b>Primers</b>	<b>Sequência oligonucleotídica (5'-3')</b>	<b>Temp.*</b>	<b>Referência</b>
ERIC-1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTAAC		Duan et al. (2009).
ERIC-2	AAGTAAGTGACTGGGTGAGCG	36 °C	

\*Temperatura de anelamento.

## 5. RESULTADOS

Os resultados deste trabalho serão apresentados em formato de artigo científico

### 5.1 ARTIGO: PERFÍS FENOTÍPICOS E MOLECULARES EM ISOLADOS DE *Acinetobacter baumannii* ORIUNDOS DE UTI-COVID: RELEVÂNCIA PARA O CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES

**Autores:** Rafael Thiago Pereira Da Silva<sup>1</sup>; Ana Vitória Araújo Lima<sup>1</sup>; Sérgio Dias Da Costa Júnior<sup>2</sup>; Jaqueline dos Santos Silva<sup>1</sup>; Tainara Fernandes Dantas<sup>1</sup>; Maria Betânia Melo de Oliveira<sup>1</sup>

#### Instituições:

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia Molecular, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Moraes Rego s/n, Recife, PE, Brasil;

<sup>2</sup> Departamento de Fisiologia e Patologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 58.051-900, João Pessoa, Brasil;

## RESUMO

A pandemia causada pelo novo coronavírus, o SARS-CoV-2, detectada em dezembro de 2019, trouxe consigo várias problemáticas, dentre elas: o aumento significativo pela procura de leitos de enfermaria e Unidades de Terapia Intensiva (UTI's). Muitos dos pacientes positivados para COVID-19 foram colonizados e desenvolveram co-infecções oriundas do ambiente hospitalar. O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de genes de  $\beta$ -lactamases e Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos (EMA's), além da capacidade para formação de biofilmes em isolados de *Acinetobacter baumannii* provenientes de um surto ocorrido em UTI's-COVID de um hospital público em Recife-PE, durante o ano de 2020 a 2021. Neste estudo foram analisados 36 isolados de *A. baumanii*, identificados inicialmente pelo equipamento Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 e confirmados pela Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry<sup>v</sup> (MALDI-TOF-MS). Estes, foram analisados quanto ao seu perfil de resistência fenotípico (Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50) e molecular por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) direcionada a sete genes. Amostras dos *amplicons* foram purificadas e sequenciadas para confirmação da região amplificada. Adicionalmente, foi avaliado o potencial para formação de biofilme utilizando o método do Cristal Violeta no meio Brain Heart Infusion (BHI). Por fim, foi aplicada a técnica de Consenso Intergênico Repetitivo Enterobacteriano – Reação em Cadeia da Polimerase (ERIC-PCR) para verificar a relação clonal. Os 36 isolados foram confirmados como *A. baumanii* e apresentaram perfis de resistência/susceptibilidade distintos, sendo 75,67,2% (n=28) Extensivamente-Resistentes (XDR); 5,4% (n=2) Multidroga-Resistentes (MDR) e 18,9% (n=7) Nao-MDR (N-MDR). Dois isolados (AB21 e AB30) foram resistentes à colistina. Os genes  $\beta$ -lactâmicos mais frequentemente observados, foram: *blaIVM* 18,91% (n=7), *blasHV* 16,21% (n=6), *blaKPC* 10,81% (n=4) e *blaIMP* 8,10% (n=3); enquanto os aminoglicosídeos, foram: *aac (6')-Ib-cr* 25% (n=9), *ant (3')-Ia*, 13,88% (n=5) e *aph (3')-Ia* 5,33% (n=2). Todos formaram biofilme, porém com intensidades diferentes. Não foi possível correlacionar o perfil de resistência com a capacidade para formação de biofilmes. Através da tipagem molecular foi evidenciado uma alta variabilidade genética (22 perfis). Os dados encontrados são alarmantes, pois revelam a disseminação de clones de *A. baumanii* resistentes a  $\beta$ -lactâmicos e aminoglicosídeos como agentes de infecção secundária em pacientes positivos para COVID-19. Os resultados revelam a crescente capacidade adaptativa desta espécie no ambiente hospitalar, o que dificulta seu tratamento e erradicação e enfatizam a necessidade de monitoramento constante e vigilância epidemiológica nestas unidades de saúde.

**Palavras-chave:** Genes de resistência;  $\beta$ -lactâmicos; Aminoglicosídeos; Pandemia.

## Introdução

A pandemia (COVID-19) causada pelo novo coronavírus, o SARS-CoV-2, foi detectada em dezembro de 2019 e afetou todo o mundo (KHALIL; KHALIL, 2020). Como consequência, houve aumento na demanda por leitos de enfermaria e Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) para o suporte adequado nas manifestações mais graves da doença (GARCIA E DUARTE, 2020). Alguns pacientes com manifestações clínicas mais graves, em UTI, desenvolveram co-infecções oriundas do próprio ambiente hospitalar, agravando ainda mais seus casos clínicos (LIMA et al., 2020).

Os protocolos de tratamento utilizados após o diagnóstico de COVID-19 incluíam antimicrobianos e corticosteróides, o que pode alterar tanto o padrão de sensibilidade microbiológica quanto a resposta imunológica do paciente. A literatura relata que aproximadamente 40% dos pacientes, após a admissão em leito de UTI apresentam alguma infecção bacteriana; a maioria delas identificadas por volta de nove dias. Apesar do percentual elevado, pouco se sabe sobre o perfil microbiológico destes agentes (HE et al, 2020). Dentre os patógenos responsáveis por provocar infecções hospitalares, destaca-se *A. baumannii* (LIMA et al., 2020).

Durante muito tempo, esta espécie foi considerada um agente oportunista de baixa patogenicidade. No entanto, nos últimos anos, têm sido descritos vários fatores de virulência que possibilitam a sua sobrevivência no ambiente hospitalar e sua capacidade para causar doença, particularmente em indivíduos debilitados clinicamente (GLASS, 2021; ANVISA, 2022).

*Acinetobacter baumannii* é considerado um patógeno de prioridade crítica pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e apresenta natureza ubíqua com suscetibilidade diminuída a condições ambientais adversas, o que contribui para o seu potencial de transmissibilidade em ambientes hospitalares (OMS, 2017; TOMCZYK et al., 2019).

A disseminação de microrganismos multirresistentes causadores de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) é um grande desafio aos Serviços de Controle de Infecções Hospitalares (SCIH). De acordo com a OMS, o fenômeno mundial da Resistência Antimicrobiana (RAM) é tão perigoso quanto uma pandemia, ameaçando destruir um século de progresso médico (OMS, 2020; OMS, 2015).

Durante o período pandêmico, o número de isolados de *A. baumannii* se destacou, sobretudo nos pacientes positivados para COVID-19 internados em leitos de UTI em um dos hospitais públicos de referência para o tratamento do novo corona vírus na cidade do Recife, Pernambuco, nordeste do Brasil. Esta informação é baseada em evidências apresentadas nos

relatórios de prevalência, elaborados mensalmente pela Comissão de Controle de Infecção Humana (CCIH) do referido hospital, os quais indicaram um surto endêmico deste microrganismo.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência e a frequência de genes de resistência e virulência em isolados clínicos de *A. baumannii* oriundos de pacientes positivados para a COVID-19 nesta unidade de saúde, a fim de contribuir com as políticas de saúde pública quanto à elaboração de estratégias de controle de surtos epidêmicos.

## **Material e Métodos**

### **Isolamento, Identificação e Perfil Fenotípico de Resistência**

Os 36 isolados de *A. baumannii* investigado neste trabalho foram provenientes de pacientes positivados para o novo corona vírus, internos em UTI's direcionadas à Síndromes Respiratórias Agudas Graves (UTI's SRAGs) de um hospital público de grande porte da capital pernambucana, nordeste do Brasil, entre o período de agosto de 2020 a dezembro de 2021. Estas amostras foram semeadas em BHI e incubadas a 37 °C por 24 h e mantidas em glicerol 25% (v / v) a -80 °C. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisas que envolvam humanos (CEP/Plataforma Brasil) registrado sob o número de CAAE: **5.848.665**.

Todos os isolados foram inicialmente identificados pelo sistema Phoenix-BD<sup>TM</sup> M50 o qual também permitiu determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (MIC) para diversos antibióticos e identificar o perfil de suscetibilidade de acordo com as recomendações do BrCast (2021). Para isso, foram utilizados os seguintes antimicrobianos: Amicacina, Ciprofloxaxina, Gentamicina, Imipenen, Levofloxacina, Meropenem, Polimixina B, Trimetoprim-Sulfametoxozol e Colistina. O perfil de resistência foi avaliado de acordo com a frequência de isolados MDR, XDR e N-MDR.

### **Identificação Bacteriana por MALDi-TOF-MS**

Para confirmação taxonômica dos isolados foi utilizada a técnica MALDi-TOF MS. As colônias bacterianas foram suspendidas em 300 µL de água Milli-Q e depois adicionados 900 µL de etanol absoluto. As suspensões foram centrifugadas a 15.600 g por 2 min, o sobrenadante removido e o sedimento foi seco em *SpeedVac* por 20 min. Em seguida, foram adicionados 50 µL de ácido fórmico a 70% e 50 µL de acetonitrila. A mistura foi homogeneizada em agitador vortex, centrifugada a 15.600 g por 2 min e o sobrenadante transferido para um novo microtubo. A matriz preparada com ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico (10 mg/mL), acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 0,3% foi aplicada na placa de MALDi com a amostra em temperatura ambiente para cristalização. A aquisição dos espectros de massas, em modo linear positivo (Voltagem de aceleração: 20 kV e Faixa de detecção - m/z: 2.000 – 20.000), foi realizada pelo

Programa Flex Control Version 3.0 em Espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA). Os espectros de massa obtidos foram comparados com o Banco de Dados MALDI Biotyper Version 3.1.

### Identificação dos Genes de Resistência aos Antimicrobianos

Para identificação dos genes de resistência, os isolados foram submetidos à PCR direcionada aos genes  $\beta$ -lactâmicos (*blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* e *blaSHV*) e aminoglicosídeos (*aac (6')-Ib-cr*, *ant (3')-Ia* e *aph (3')-Ia*). A reação foi preparada para um volume final de 25  $\mu$ L por tubo, compreendendo: 50 ng de DNA genômico, 10 pmol do primer 1  $\times$ , 200  $\mu$ M de dNTPs, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e enzima Taq DNA polimerase (2U). As reações foram realizadas no termociclador (Biosystems) e após aquecimento prévio (95 °C por 5 min), foram realizados 35 ciclos de 1 min a 95 °C, 1 min na temperatura específica de anelamento para cada primer (Tabela 1) e 1 min a 72 °C. A extensão final foi de 10 min a 72 °C para os genes *blaSHV* e *blaKPC* e 5 minutos a 68 °C para os genes *blaIMP* e *blaVIM*. Enquanto que para os genes de aminoglicosídeos, após o aquecimento prévio (94 °C por 5 min), o DNA foi submetido a 30 ciclos de 1 min na temperatura específica para cada primer (Tabela 1), 1 min a 72 °C e 10 min a 72 °C de extensão final para ambos.

**Tabela 1** Sequência dos *primers* de resistência e virulência utilizados no presente estudo

Primer	Gene	Sequencia (5'-3')	Temperatura		Referência
			de	anelamento	
<i>KPC</i> - For	<i>blaKPC</i>	TGTCACTGTATGCCGTG	63 °C		Yigit et al. (2001)
<i>KPC</i> - Rev		CTCAGTGCTCTACAGAAAACC			
<i>SHV</i> - For	<i>blaSHV</i>	GGGTTATTCTTATTGTCGC	62 °C		Rasheed et al. (2000)
<i>SHV</i> - Rev		AGCGCGAGAAGCATCCTG			
<i>IMP</i> - For	<i>blaIMP</i>	GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC	60 °C		Dong et al. (2008)
<i>IMP</i> - Ver		GTGATGCGTCYCCAYTTCACT			
<i>VIM</i> - For	<i>blaVIM</i>	CAGATTGCCGATGGTGTGG	62 °C		Dong et al. (2008)
<i>VIM</i> - Rev		AGGTGGGCCATTAGCCAGA			
<i>aac(6')-Ib-</i>	<i>aac(6')-</i>	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	54 °C		EFTEKHAR;
<i>cr</i>	<i>Ib-cr</i>	CTCGAATGCCTGGCGTGT			SEYEDPOUR, 2015
<i>Ant(3')-Ia</i>	<i>Ant(3')-</i>	TCGACTCAACTATCAGAGG	55 °C		MIRÓ et al., 2013
	<i>Ia</i>	ACAATCGTGACTTCTACAGCG			
<i>aph(3')-Ia</i>	<i>aph(3')-</i>	CGGCGTGGGCGGCGACTG	55 °C		MIRÓ et al., 2013
	<i>Ia</i>	CCGGATGGAGGACGATGTTGG			

Os produtos de PCR (3  $\mu$ L) juntamente com o corante Blue DNA (1  $\mu$ L) foram

adicionados em gel de agarose 1% (p / v) para visualização dos *amplicons*. O gel foi então submerso em 0,5 × tampão Tris / Borato / EDTA e submetido a uma voltagem constante de 100 V. Um marcador de 1 kb (Plus DNA Ladder, Invitrogen) foi usado como padrão de peso molecular. Após o término da eletroforese, os *amplicons* foram visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados. Uma amostra (*amplicon*) de cada gene foi purificado seguindo o protocolo do kit de purificação PureLink (Invitrogen) e sequenciados em sequenciador automático de DNA ABI 3100. As sequências obtidas foram comparadas com outras sequências depositadas no banco de dados *Genbank* do NCBI usando a ferramenta BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

### **Formação de Biofilme**

A formação de biofilme foi avaliada em microplacas de poliestireno pelo método de Cristal Violeta descrito por Stepanovic et al. (2007), em meio BHI. Após a incubação (37 °C / 24h), o inóculo foi retirado, as microplacas lavadas (3×) com solução salina estéril a 0,9% e o biofilme fixado (55 °C / 1h). Na sequência, foi acrescentado Cristal Violeta (0,4 %) em temperatura ambiente por 15 minutos, seguido de três lavagens para retirar o excesso do corante e adicionado etanol absoluto por 30 minutos. A partir das leituras de Densidade Óptica (DO) a 570 nm, foi determinada a média dos valores da absorbância de cada amostra (DOa) em comparação com a absorbância do Controle de Esterilidade (ODc). As amostras foram classificadas como fortes (4× ODc < DOa), moderadas (2× ODc < DOa ≤ 4× ODc) e fracas (ODc < DOa ≤ 2× ODc) formadoras de biofilme.

### **ERIC-PCR**

As reações da ERIC-PCR foram preparadas com volume total de 25 µL por tubo, compreendendo: 100 ng de DNA genômico, 40 pmol de iniciadores (ERIC-1 [5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCA-3']; ERIC-2 [5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGC G-3']), 1 × Bufer, 200 µM de trifosfato de desoxirribonucleotídeo, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 1,0 U da enzima Taq DNA polimerase. Os parâmetros de amplificação utilizados (Tabela 2) foram de acordo com Duan et al. (2009). Os produtos da PCR foram corados por Blue-Green (Kasvi, Brasil), submetidos à eletroforese 1,5% em gel de agarose; visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados para posterior análise de perfil clonal. Os padrões de amplificação foram comparados ao marcador de peso molecular para genotipagem dos isolados. Estes padrões permitiram a construção de uma matriz binária submetida a uma análise filogenética detalhada. Coeficiente de similaridade, método de agrupamento, otimização

e valores de tolerância foram avaliados com base em Duan et al (2009). Bandas observadas em géis de agarose foram avaliadas com base na presença (codificado 1) ou ausência (codificado 0) de fragmentos polimórficos em *primers* ERIC. A análise de *cluster* foi realizada em NTSYS-pc (Versão 2.20), pacote de *software* de taxonomia numérica e análise multivariada com base no coeficiente de Similaridade de Dados (SD) com posição de 1% tolerância, bem como no método de Grupo de Pares Não Ponderados com Média Aritmética (UPGMA). Por fim, cada isolado foi considerado uma Unidade Taxonômica Operacional (OTU). Isolados apresentando 90% de similaridade foram tratados como um único isolado (DUAN et al., 2009).

**Tabela 2.** Sequência dos *primers* utilizados para tipagem molecular (ERIC-PCR) mostrando as condições de temperatura e referência utilizada.

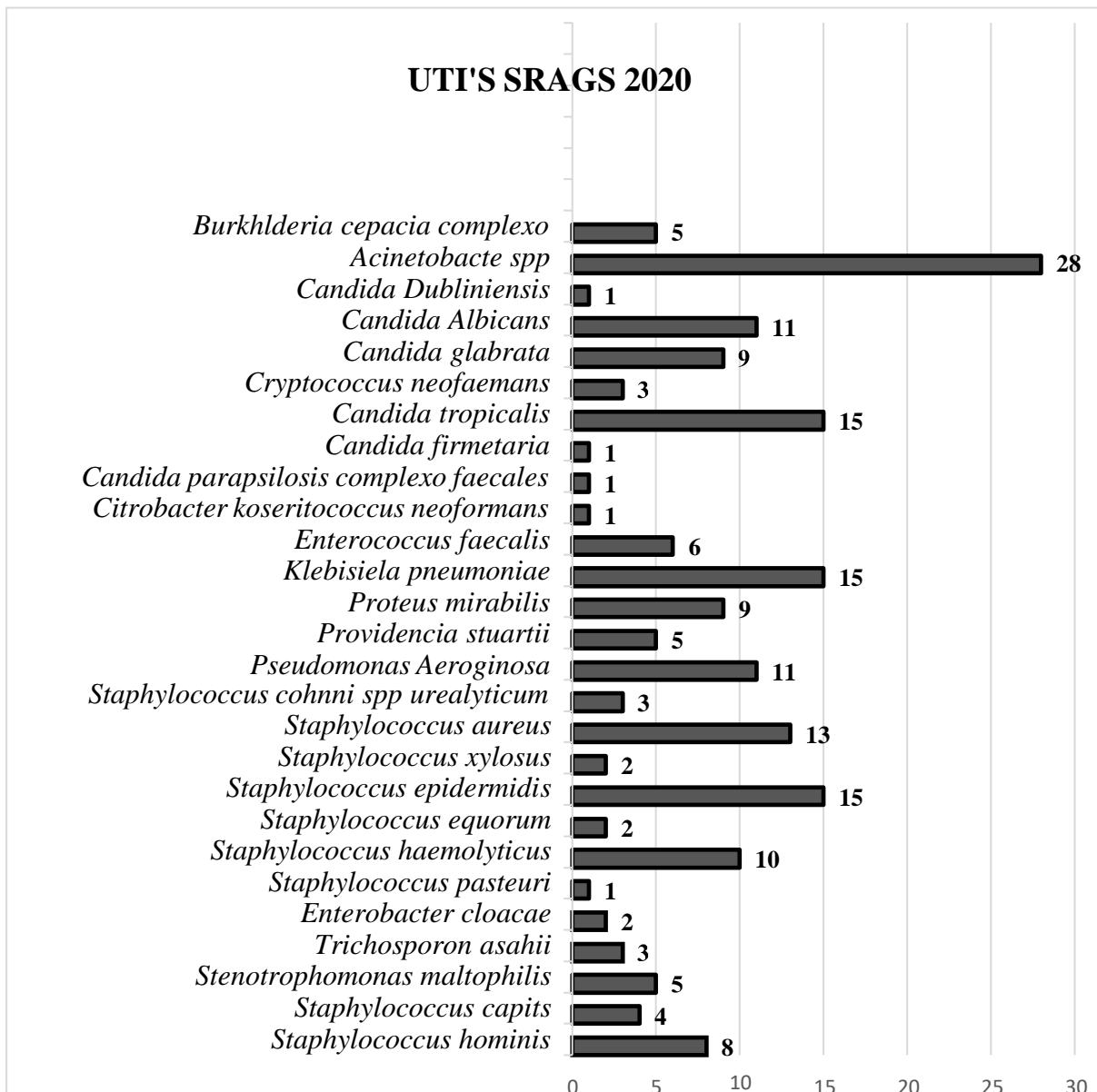
<b>Primers</b>	<b>Sequência oligonucleotídica (5'-3')</b>	<b>Temp.*</b>	<b>Referência</b>
ERIC-1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTAAC		Duan et al. (2009).
ERIC-2	AAGTAAGTGACTGGGTGAGCG	36 °C	

\*Temperatura de anelamento.

## RESULTADOS

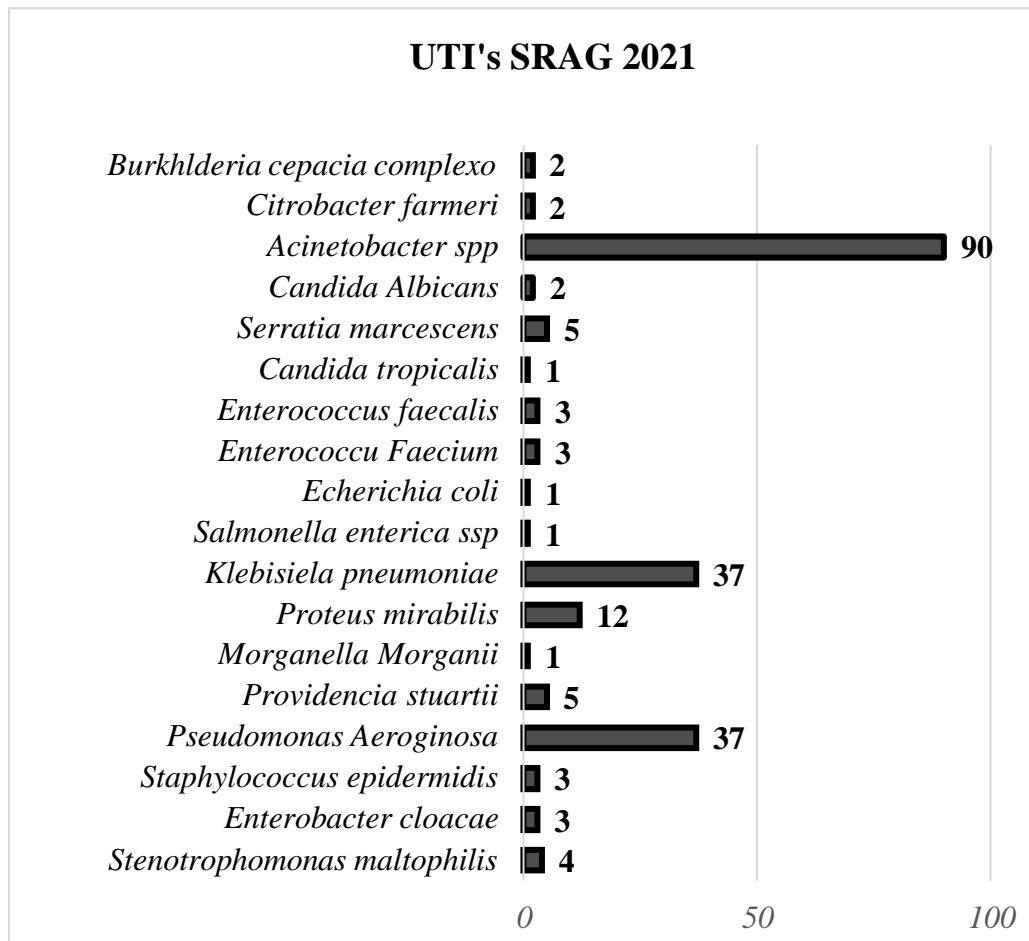
Este trabalho investigou a ocorrência de infecções secundárias em pacientes positivados com o SARsCoV-2 em um hospital público de referência em COVID-19 em Recife, estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. Os dados apresentados pela CCIH da unidade hospitalar investigada, revelam infecções secundárias provenientes de várias espécies bacterianas. No entanto, em todas as UTI's e períodos analisados, isolados de *A. baumannii* se destacaram como principal microrganismo responsável pelas infecções indicando, portanto, um surto. Estes dados podem ser visualizados e comparados nas figuras Figura 1 e 2

**Figura 1:** Ocorrência de microrganismos isolados durante o ano de 2020 nas UTI's SRAGS direcionadas ao tratamento de pacientes testados positivos para COVID-19.



Fonte: CCIH do hospital investigado

**Figura 2:** Ocorrência de microrganismos isolados durante o ano de 2021 nas UTI's SRAGS direcionadas ao tratamento de pacientes testados positivos para COVID-19.



Fonte: CCIH do hospital investigado

Estes isolados foram identificados inicialmente como *A. baumannii* pelo sistema automatizado Phoenix-BD™ M50 e confirmados molecularmente pela análise de MALDI-TOF-MS. Os resultados apresentaram *scores* que variaram de 1,7 a 2,4 indicando bons índices de compatibilidade e confiabilidade. A origem mais frequente dos isolados foi secreção traqueal 65,7% (n=21) seguida de sangue 13,1 % (n=5), urina 10,5% (n=3), ponta de catéter 5,2% (n=2), fragmento ósseo 2,6% (n=1) e *swab* retal 2,6% (n=1), (Tabela 3).

Quando analisado o perfil fenotípico de resistência foi verificado que 75,67,2% (n=28) apresentaram-se como XDR; 5,4% (n=2) como MDR e 18,9% (n=7) como N-MDR. Apesar de apresentarem perfis distintos, todos foram resistentes ao grupo dos β-lactâmicos (imipenem, meropenem, ceftazidima e ceftriaxona), com destaque para dois isolados (AB21 e AB30) que foram resistentes à colistina (Tabela 3).

Tabela 3. Características gerais do perfil fenotípico de resistência de isolados de *A. baumanii* oriundos de pacientes positivados para COVID-19 em um hospital público em Recife, Pernambuco, Brasil.

ISOLADOS	SCORES	SÍTO DE ISOLAMENTO	AMICACINA	CIPROFLOXACINA	GENTAMICINA	IMIPENEN	LEVOFLOXACINA	MEROPENEM	POLIMIXINA B	TRIMETOPRIM-SULFAMETOXOZOL	COLISTINA
AB01	1.71	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB02	2.01	Sec. Traqueal	<=8 (Sens)	>2 ( Res )	4 ( Sens )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB03	2.02	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB04	2.01	Sec. Traqueal	32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB05	1.93	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB06	2.17	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB07	2.10	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB08	1.96	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB09	2.19	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB10	2.11	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB11	2.28	Sangue	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Sens )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB12	2.06	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB13	1.96	Sangue	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	1/19 (Sens)	N/Reali
AB14	2.22	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB15	2.40	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	<=2 (Sens)	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB16	1.90	Pont. Catéter	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB17	2.21	Sangue	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.25 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB18	2.02	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	2.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB19	2.03	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	<=0.5/9,5 (Sens)	(Sens)
AB20	2.19	Urina	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB21	2.16	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	2.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	>4 ( Res )
AB22	1.97	Sangue	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB23	2.23	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	<=1 (X)
AB24	2.12	Sangue	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB25	2.13	Urina	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.25 ( Sens )	1/19 ( Sens )	N/Reali
AB26	2.32	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	<=2 (Sens)	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB27	2.21	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.5 ( Sens )	2/38 ( Sens )	N/Reali
AB28	2.02	Pont. Catéter	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	(Sens)
AB29	1.97	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	0.25 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB30	2.16	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	2.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	>4 ( Res )
AB*01	N/R	Swab Retal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	>2/38 ( Res )	N/Reali
AB*02	N/R	Frag. Ósseo	32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali

<b>AB*03</b>	<b>N/R</b>	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	1/19 (Sens)	N/Reali
<b>AB*04</b>	<b>N/R</b>	Urina	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	2.0 ( Sens )	>2/38 ( Res )	N/Reali
<b>AB*05</b>	<b>N/R</b>	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	4 ( Sens )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	N/ Reali	>2/38 ( Res )	(Sens)
<b>AB*06</b>	<b>N/R</b>	Sec. Traqueal	>32 ( Res )	>2 ( Res )	>8 ( Res )	>8 ( Res )	>4 ( Res )	>32 ( Res )	1.0 ( Sens )	>2/38 (Res)	( Sens)

AB – *A. baumannii*; AB\* - Identificado apenas como *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*; Res - Resistente; N/ Reali – Não realizado; Sens – Sensível

Quando analisado o perfil de resistência molecular direcionado aos aminoglicosídeos, foi constatado que 25% (n=9) dos isolados apresentaram o genótipo *AAC* para *aac (6')-Ib-cr*; 13,88% (n=5) apresentaram o genótipo *APH* do gene *aph (3'')-Ia* e 5,55% (n=2) apresentaram o genótipo *ANT* do gene *ant (3'')-Ia*. A coexistência de dois genes foi detectada em apenas dois isolados AB22 ( *aac (6')-Ib-cr + ant (3'')-Ia* ) e AB26 ( *aac (6')-Ib-cr + aph (3'')-Ia* ) e a associação entre os três genes de aminoglicosídeos investigados não foi identificada em nenhuma amostra (Tabela 4).

Já em relação ao perfil de resistência molecular aos  $\beta$ -lactâmicos, foi observado que 18,91% (n=7) apresentaram o genótipo *VIM* de *blavIM*; 16,21% (n=6) apresentaram o genótipo *SHV* do gene *blasHV*, enquanto 10,81% (n=4) apresentaram o genótipo *KPC* do *blaKPC*. O genótipo *IMP* de *blaIMP* foi detectado em apenas 8,10% (n=3) dos isolados. Para este grupo foi observada uma maior associação gênica. Seis isolados apresentaram coexistência envolvendo dois ou três genes dirigidos aos betalactâmicos, foram eles: AB12 (*blaKPC + blaIMP + blavIM*); AB13 (*blasHV + blaIMP + blavIM*); AB21 (*blaKPC + blavIM*); AB25 (*blasHV + blavIM*); AB30 (*blaKPC + blavIM*) e AB\*04 (*blasHV + blavIM*). A associação mais frequentemente observada foi *blaKPC + blavIM* (8,10%, n=3) e *blasHV + blavIM* (8,10%, n=3), seguida de *blasHV + blaIMP* (3%, n=1), *blaKPC + blaIMP + blavIM* (3%, n=1) e *blasHV + blaIMP + blavIM* (3%, n=1). A associação entre os quatro genes investigados não foi detectada em nenhuma amostra (Tabela 4).

Seis isolados apresentaram coexistência de genes aminoglicosídeos e betalactâmicos, foram eles: AB12 (*aph (3'')-Ia + blaKPC + blaIMP + blavIM*); AB21 (*aph (3'')-Ia + blaKPC + blavIM*); AB25 (*aac (6')-Ib-cr + blasHV + blavIM*); AB26 (*aac (6')-Ib-cr + aph (3'')-Ia + blavIM*); AB30 (*aph (3'')-Ia + blaKPC + blavIM*) AB\*04 (*aac (6')-Ib-cr + blasHV + blavIM*).

Tabela 4. Detecção e associação dos genes de resistência a aminoglicosídeos e  $\beta$ -lactâmicos, além da capacidade para formação de biofilme em isolados de *A. baumannii* oriundos de pacientes positivos para COVID-19.

ISOLADOS	AMINOGLICOSÍDEOS			$\beta$ -LACTÂMICOS				BIOFILME
	GENE <i>ant</i> (3'')-Ia	GENE <i>aph</i> (3'')-Ia	GENE <i>aac</i> (6')-Ib-cr	GENE <i>bla</i> <sub>KPC</sub>	GENE <i>bla</i> <sub>VIM</sub>	GENE <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	GENE <i>bla</i> <sub>IMP</sub>	
<b>AB01</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB02</b>	-	-	-	-	-	-	-	++
<b>AB03</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB04</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB05</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB06</b>	-	-	+	-	-	-	-	+++
<b>AB07</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB08</b>	-	-	+	-	-	-	-	++
<b>AB09</b>	-	-	+	-	-	-	-	++
<b>AB10</b>	-	-	-	-	-	+	-	+++
<b>AB11</b>	-	-	-	+	-	-	-	++
<b>AB12</b>	-	+	-	+	+	-	+	+++
<b>AB13</b>	-	-	-	-	+	+	+	+++
<b>AB14</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB15</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB16</b>	-	-	-	-	-	+	-	++
<b>AB17</b>	-	+	-	-	-	-	-	+++
<b>AB18</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB19</b>	+	-	-	-	-	-	-	++
<b>AB20</b>	-	-	-	-	-	-	+	+++
<b>AB21</b>	-	+	-	+	+	-	-	+++
<b>AB22</b>	+	-	+	-	-	-	-	+++
<b>AB23</b>	-	-	+	-	-	-	-	++
<b>AB24</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB25</b>	-	-	+	-	+	+	-	+++
<b>AB26</b>	-	+	+	-	+	-	-	++
<b>AB27</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB28</b>	-	-	+	-	-	-	-	++
<b>AB29</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB30</b>	-	+	-	+	+	-	-	+++
<b>AB*01</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB*02</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB*03</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB*04</b>	-	-	+	-	+	+	-	++
<b>AB*05</b>	-	-	-	-	-	+	-	+++
<b>AB*06</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++
<b>AB*07</b>	-	-	-	-	-	-	-	+++

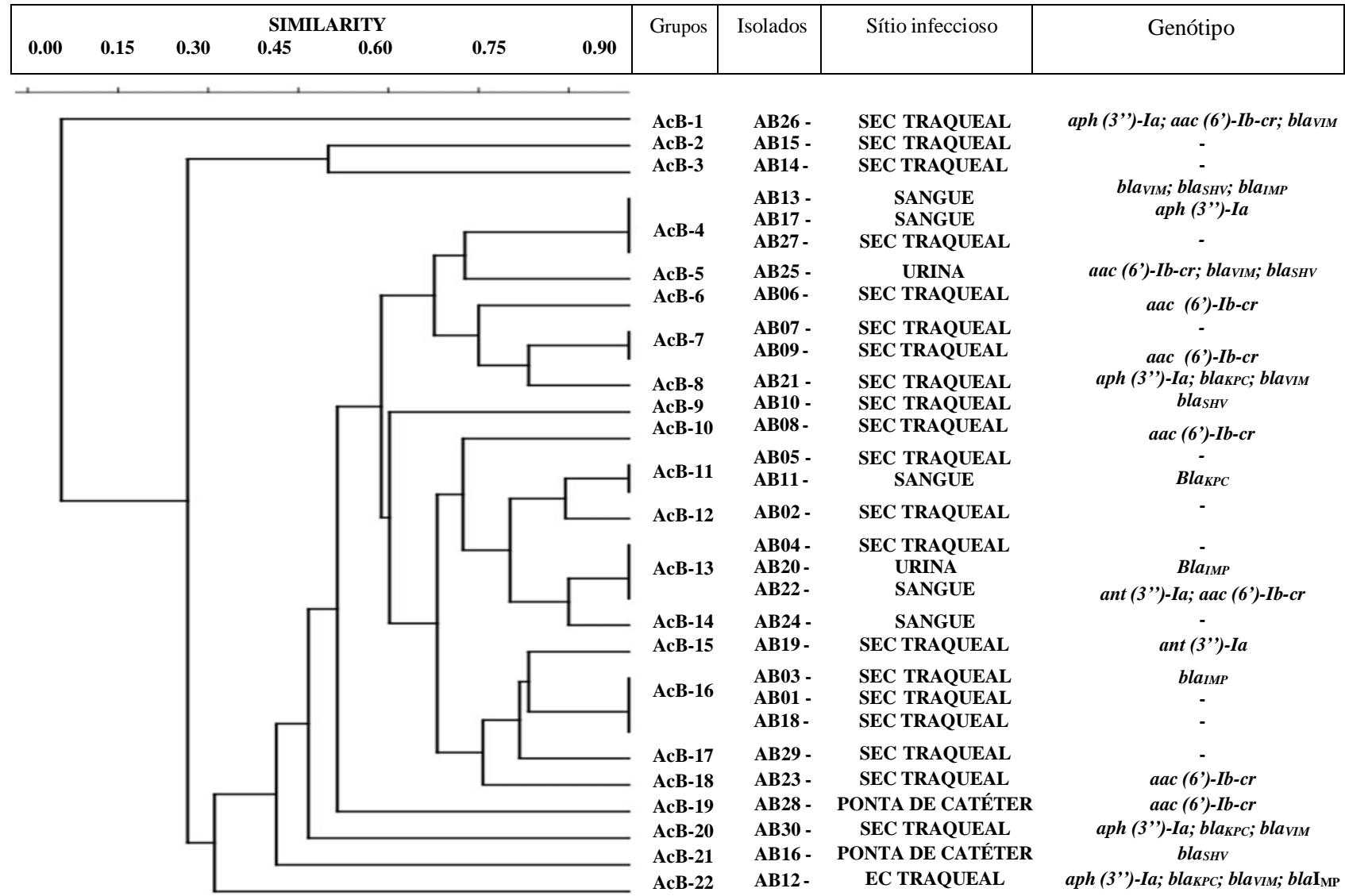
AB – *A. baumannii*; AB\* – Identificado apenas como *A. baumannii/calcoaceticus*; (++) Intermediário formador de biofilme; (++) Forte formador de biofilme.

O sequenciamento confirmou que os fragmentos amplificados correspondiam as sequências gênicas investigadas, revelando uma similaridade e homologia acima de 97% quando comparados as sequências depositadas no GENBANK.

Em relação ao potencial para formação de biofilme, foi observado que todos os isolados formaram biofilme, mas com intensidades diferentes. 72% (n=26) foi classificado como forte formador (+++) e 28% (n=10) como moderado formador (++)<sup>1</sup>, ver tabela 4.

A tipagem molecular ocorreu nos isolados que tiveram sua identidade confirmada pelo MALDI-TOF-MS (n=30). Foram identificados 22 perfis genéticos, denominados AcB-1 a AcB-22. Cinco, foram representados por mais de um isolado AcB-4 (AB13, AB17, AB27); AcB-7 (AB07; AB09); AcB-11 (AB05; AB11); AcB-13 (AB04; AB20; AB22) e AcB-16 (AB03; AB01; AB18), os quais possuíam 100% de similaridade e o mesmo sítio de isolamento (AcB-7 e AcB-16). Houve similaridade de 90% entre os perfis AcB11 e AcB12 e os perfis AcB-13 e o AcB-14, os quais apresentaram diferentes sítios de isolamento. Quanto aos demais perfis, foi observado que todos apresentaram apenas um isolado bacteriano (Figura 3).

Figura 3. Genotipagem das amostras de *Acinetobacter baumannii* oriundas de pacientes positivos para COVID-19.



## Discussão

A ocorrência de cepas de *A. baumannii* multiresistente em UTI's no Brasil, varia conforme a região de abrangência do estudo (PINTADO et al., 2021; GOMEZ-SIMMONDS et al., 2021; GRASSELLI et al., 2021). Todavia, durante a pandemia de COVID-19, de acordo com o MS, ocorreu superlotações nos serviços assistenciais de saúde, bem como nas UTI's por todo o Brasil, resultando em uma maior exposição dos pacientes às infecções secundárias (SELEGATTO et al., 2022).

A identificação dos isolados, por meio da técnica molecular MALDI-TOF MS, confirmou a identidade taxonômica ao nível de espécie e mostrou-se como alternativa eficiente e rápida na detecção de patogenos bacterianos. Essa agilidade é fundamental, sobretudo em casos de co-infecção onde uma antibioticoterapia rápida e efetiva é fundamental e, muitas vezes, pode ser comprometida pelo uso de métodos convencionais de identificação bacteriana devido a latência que estes métodos apresentam (OVIAÑO e RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, 2021; WATTAL et al., 2016; LEEDAHL et al., 2014).

Quanto ao perfil de resistência foi observado que os isolados apresentaram perfis distintos aos fármacos testados, independentemente de serem de uso frequente ou de alta relevância na prática clínica. A maioria, aproximadamente 75,6% (n=28), foi identificado como XDR, ou seja, apresentaram resistência a múltiplas classes de antibióticos; 5,4% (n=2) foram classificados como MDR, exibindo resistência a mais de uma classe de antibióticos, enquanto 18,9% (n=7) foram considerados N-MDR, mostrando sensibilidade à maioria dos antibióticos testados. Tais achados corroboram com investigações prévias, a exemplo do estudo de GLASS (2021) e LIMA et al., (2020), que apontaram para cenários similares. A ocorrência de bactérias XDR (Extensivamente Resistentes a Medicamentos) é especialmente notável em um cenário caracterizado pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, como foi observado durante a pandemia de COVID-19, o que desempenhou um papel crucial em sua disseminação. De acordo com Martins (2023), essas características intrínsecas têm um efeito catalisador significativo na propagação de agentes infecciosos bacterianos, tornando o controle das infecções ainda mais desafiador. Esse fenômeno representa uma séria preocupação para a saúde pública, uma vez que as bactérias XDR requerem tratamentos mais complexos e podem levar a complicações graves para os pacientes infectados.

Um dado interessante corresponde aos isolados (AB21 e AB30) resistentes à colistina, uma vez que esta substância é reconhecida como um antimicrobiano de última instância para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas de resistência multidroga (QUI et al., 2016; DUARTE et al., 2016). Esses resultados apontam para uma exigência constante de vigilância epidemiológica, aliada ao desenvolvimento urgente de novas abordagens terapêuticas.

Os resultados do nosso estudo revelaram uma alta resistência aos carbapenêmicos, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) elevadas. Essa resistência provavelmente está associada à produção de carbapenemases e pode ser resultado da combinação de vários mecanismos de resistência, tais como a perda de porinas específicas e a ativação da bomba de efluxo (QUI et al., 2016; DUARTE et al., 2016). No entanto, é importante destacar que o estudo não investigou outros possíveis mecanismos de resistência que poderiam estar envolvidos.

Avaliando molecularmente o perfil de resistência foi constatado que o genótipo VIM *blavIM*: detectado em sete isolados (18,91%), foi o mais abundante, diferentemente do encontrado na literatura onde é rara a detecção deste gene em amostras de *A. baumannii*, embora já tenha sido encontrado na Grécia, Turquia, Alemanha e Coréia, sobretudo da variante *blavIM-1* (POIREL, 2006; TSAKRIS et al., 2006; BERIS et al., 2016). Tais achados sugerem a possibilidade de um perfil específico das amostras circulantes no território brasileiro. Esses resultados atípicos constituem um estímulo para prosseguir em nossas investigações, visando a compreensão mais aprofundada desse fenômeno e suas implicações clínicas. Esse gene confere resistência aos isolados através da produção de Metalobetalactamase (MBLs) VIM, que é responsável por conferir resistência aos carbapenêmicos. O Genótipo *blaSHV*, presente em seis isolados (16,21%) está relacionado a enzima  $\beta$ -lactamase SHV, uma  $\beta$ -lactamase de Espectro Estendido (ESBL, do inglês *Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) que inativa penicilinas, cefalosporinas de terceira geração e monobactâmicos (HRABÁK; CHUDÁČKOVA; PAPAGIANNITSIS, 2014).

Já o gene *blaKPC* detectado em quatro (10,81%) isolados está associado à enzima  $\beta$ -lactamase KPC, conhecida por conferir resistência a carbapenêmicos podendo inativar diversos carbapenêmicos como imipenem, meropenem, doripenem e ertapenem, amplamente utilizados no tratamento de infecções graves causadas por bactérias gram-

negativas (HRABÁK; CHUDÁČKOVA; PAPAGIANNITSIS, 2014; SHERIF et al., 2021).

Por outro lado, o gene *blaIMP* foi detectado em apenas três isolados (8,10%). Além das MBLs VIM detectadas em *A. baumannii*, relatos também apontam a presenças variantes IMP-1 e IMP-6 circulantes no Brasil (TOGNIM et al., 2004). Alguns estudos (ANTONIO et al., 2011; GALES et al., 2012; LAISHRAM, 2016), vem demonstrando o aumento significativo nas taxas de resistência ao imipenem em isolados de *A. baumannii*. Este dado é preocupante e demonstra que esta espécie vem aumentando seu arsenal genético de resistência dificultando, assim, o combate às infecções causadas por este patógeno.

Já em relação a detecção dos genes ligados à formação de Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos, o *aac (6')-Ib-cr* foi o mais abundante presente em 25 % dos isolados, seguido do *ant (3')-Ia*, 13,88% e do *aph (3')-Ia* ( 5,33%). Quando comparado ao perfil fenotípico foi visto que 97,23% (n=35) foi resistente à amicacina e 86,12% (n=31) à gentamicina. Os estudos conduzidos por LEAL et al. (2020) e DA PAZ PEREIRA et al. (2020) revelaram taxas médias de 50% de resistência a esses medicamentos em hospitais situados na mesma localidade do presente trabalho, evidenciando a progressão do padrão de resistência a esses compostos em Recife, Pernambuco.

Dois isolados apresentaram padrão de coexistência entre dois genes relacionados aos aminoglicosídeos, um (AB22) apresentou coexistência entre *ant (3')-Ia* e *aac (6')-Ib-cr* (2,77%) e outro (AB26) apresentou coexistência entre o *aph (3')-Ia* e o *aac (6')-Ib-cr* (2,77%). No estudo conduzido por Boettger et al. (2020), os autores investigaram seis isolados de *A. baumannii* provenientes de um hospital terciário em São Paulo e constataram que 100% dos isolados continham mais de um gene EMAs. De maneira análoga a este estudo, uma pesquisa conduzida no Irã (SALIMIZAND et al., 2018) investigou a distribuição de EMAs, o *ant(3)-Ia* foi o gene mais frequente, representando 74,1% em *A. baumannii*. Porém, não foram observados nenhuma coexistência gênica entre os genes dirigidos aos aminoglicosídeos.

Seis isolados apresentaram coexistência envolvendo dois ou três genes dirigidos aos betalactâmicos, foram eles: AB12 (*blaKPC* + *blaIMP* + *blaVIM*); AB13 (*blaSHV* + *blaIMP*

+ *blaVIM*); AB21 (*blaKPC* + *blaVIM*); AB25 (*blaSHV* + *blaVIM*); AB30 (*blaKPC* + *blaVIM*) e AB\*04 (*blaSHV* + *blaVIM*). A associação mais frequentemente observada foi *blaKPC* + *blaVIM* (8,10%, n=3) e *blaSHV* + *blaVIM* (8,10%, n=3), seguida de *blaSHV* + *blaIMP* (3%, n=1), *blaKPC* + *blaIMP* + *blaVIM* (3%, n=1) e *blaSHV* + *blaIMP* + *blaVIM* (3%, n=1). A coprodução de KPC com outras carbapenemases, como VIM e NDM, em *Acinetobacter baumannii* vem sendo relatada em diferentes países, incluindo Itália (RICHTER et al., 2009), Grécia (GIAKKOUPIA et al., 2009) e China (HU et al., 2014), o que indica sua distribuição mundial (KUMARASAMY et al., 2012; CANDEVIR et al., 2017; IRAZ et al., 2015). Esses estudos evidenciam a ocorrência dessas enzimas em diversos locais geográficos, sugerindo uma ampla disseminação e relevância clínica significativa..

No presente estudo, todos os isolados foram formadores de biofilme, mas com intensidades diferentes. O perfil de forte formador foi predominante (72% n=26), independente da susceptibilidade aos antimicrobianos. Esses dados demonstram o crescente grau de virulência dessa espécie e a gravidade do quadro de infecção por ela causado. A relação entre a capacidade de formação de biofilme e o fenótipo de resistência antimicrobiana é uma área de pesquisa ativa e em constante evolução. Embora existam estudos que sugerem uma relação positiva entre esses dois eventos, é importante mencionar que nem todos os estudos concordam com essa associação direta (LIMA et al., 2020). Algumas pesquisas encontraram uma correlação entre altos níveis de resistência antimicrobiana e uma maior capacidade de formação de biofilme, enquanto outras não encontraram essa relação ou encontraram resultados inconsistentes (QUI et al., 2016; DUARTE et al., 2016, DOMENICO et al, 2017). No entanto, no presente estudo não houve relação significativa entre a produção de biofilme e os fenótipos de resistência, indicando a presença de eventos multifatoriais demonstrando que a formação de biofilme é uma característica intrínseca dos patógenos investigados (LIMA et al., 2020).

No presente estudo, os dados acerca da ERIC-PCR, demonstraram uma grande variabilidade do perfil genético de *A. baumanii* proveniente de pacientes positivos para COVID-19. A análise identificou 22 perfis genéticos e destes, os perfis AcB-4; AcB-7; AcB-11; AcB-13; AcB-16, apresentaram 100% de similaridade. Esse padrão clonal se assemelhou aos resultados descritos por Ece et al. (2015), reforçando a consistência dos dados obtidos. Alinhado aos nossos resultados, pesquisas conduzidas por Lima et al.

(2020) em isolados de *A. baumannii* provenientes de dois hospitais públicos em Recife-PE também revelaram a identificação de cinco clones pela ERIC-PCR, sugerindo uma disseminação clonal intra e interhospitalar.

A presença de manifestações epidêmicas causadas por *A. baumannii* durante a pandemia da COVID-19 é encontrada na literatura. SHINOHARA et al., (2021) evidenciaram uma manifestação epidêmica associada exclusivamente a um único clone de *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos na UTI da COVID-19 de um estabelecimento hospitalar no estado do Paraná, região sul do Brasil. Um estudo semelhante realizado por Tawfick et al. (2020), identificou variabilidade genotípica mediada por plasmídeos em isolados de *A. baumannii* portadores de EMA's em pacientes sob cuidados intensivos relacionados primariamente a pandemia da COVID-19.

A identificação de clones resistentes nestes ambientes hospitalares evidencia a correlação entre a disseminação clonal e a elevada incidência de infecções hospitalares, resultando em impactos adversos à saúde dos pacientes. Consoante com Alfouzan et al. (2021), diversas vias de contaminação subsistem e, para enfrentá-las são preconizadas medidas profiláticas cruciais, como a adoção assídua de higienização das mãos, utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), implementação de protocolos de isolamento e desinfecção periódica de superfícies hospitalares. Ademais, a contaminação pelos profissionais da saúde exerce papel crítico na propagação de microrganismos resistentes, considerando que mantêm contato direto e frequente com os pacientes. A falta de adesão adequada às práticas de higienização das mãos, uso de EPI e protocolos de precaução podem incrementar o risco de transmissão desses microrganismos entre os profissionais da saúde e os pacientes (ALFOUZAN et al., 2021).

Em contexto pandêmico, avulta a relevância das medidas profiláticas hospitalares, além do despertar de toda sociedade para o desenvolvimento de hábitos biosseguros. O sobrecarregamento dos sistemas de saúde, a elevada rotatividade de pacientes e a exposição polimicrobiana ensejam a propagação de microrganismos refratários. Ademais, pacientes acometidos pelo vírus pandêmico podem manifestar maior suscetibilidade a infecções hospitalares, recrudescendo a gravidade dos desfechos clínicos (DOBROVIĆ et al., 2023).

## Conclusão

Para diminuir a ocorrência de *A. baumannii* com relação clonal em UTIs no

Brasil em um contexto pandêmico, acarretando em superlotações hospitalares, são necessárias medidas estratégicas e abrangentes. Isso inclui uma melhor vigilância epidemiológica para identificar casos e rastrear a disseminação da bactéria, além de implementar medidas rigorosas de controle. É importante garantir a higienização adequada das mãos, a limpeza e desinfecção adequadas de equipamentos e superfícies e o uso prudente de antibióticos para evitar o desenvolvimento de resistência.

A seleção adequada de terapia para infecções causadas por *A. baumannii* tem se tornado, cada vez mais, desafiadora. Essa dificuldade é preocupante, uma vez que reflete o cenário crítico atual das infecções hospitalares, agravado pelo contexto pandêmico. É evidente a necessidade urgente de uma vigilância epidemiológica abrangente dessas infecções, a fim de mitigar sua incidência e impacto no ambiente hospitalar.

### **Conflito de Interesse**

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

### **REFERÊNCIAS**

- ACHRAF, A. et al. Natural pomegranate juice reduces inflammation, muscle damage and increase platelets blood levels in active healthy Tunisian aged men. Alexandria Journal of Medicine, v. 54, n. 1, p. 45-48, 2018.
- Akhi, M. T.; Khalili, Y.; Ghotaslou, R.; Yousefi, S.; Kafil, H. S.; Naghili, B.; Sheikhalizadeh, V. Evaluation of Carbapenem Resistance Mechanisms and Its Association with *Pseudomonas aeruginosa* Infections in the Northwest of Iran. Microbial Drug Resistance. 00 (00): 1-10, 2017.
- AKHTAR, S. et al. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. Food chemistry, v. 174, p. 417-425, 2015.
- ALFOUZAN, W. et al. Epidemiology and Microbiological Profile of Common Healthcare Associated Infections among Patients in the Intensive Care Unit of a General Hospital in Kuwait: A Retrospective Observational Study. Journal of Epidemiology and Global Health, v. 11, n. 3, p. 302, 2021.
- ARAUJO, B.F.; FERREIRA, M.L.; CAMPOS, P.A.D.; ROYER, S.; BATISTÃO, D.W.D.F.; DANTAS R.C.C; ET AL. Clinical and Molecular Epidemiology of MultidrugResistant *P. aeruginosa* Carrying aac(6')-Ib-cr, qnrS1 and blaSPM Genes in Brazil. PLoS ONE 11(5): e0155914. 2016.
- ASIF, M. ALVI, I. A. REHMAN, S. U. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. Infection and

drug resistance, v. 11, p. 1249, 2018.

ASLAM, B., WANG, W., ARSHAD, I., KHURSHID, M., MUZAMMIL, S., RASOOL, M. H., NISAR, M. A., ALVI, R. F., ASLAM, M. A., QAMAE, M. U., SALAMAT, M. K. F., BALOCH, Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist.* 11: 1645–1658. 2018.

Atashili,J.,Lyonga,E.E.,Mandi,H.,Ikomey,G.,Mukwele,B.,andEyoh,A.B.(2014).Relationship between multiple drug resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from medical and non- medical personnel in Yaoundé,Cameroon. *Pan Afr.Med.J.* 17:186.

BADAVE, G. K. Biofilm Producing Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* : An Emerging Challenge. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*, 2015

BATRA, Aditi; ROEMHILD, Roderich; ROUSSEAU, Emilie; et al. High potency of sequential therapy with only  $\beta$ -lactam antibiotics. *eLife*, v. 10, p. e68876, 2021

BEIJERINCK, M. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. Versl Koninklijke Akad Wetensch Amsterdam, v. 19, p. 1092-103, 1911.

BERLANGA, M.; UERRERO, R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microb Cell Fact.* 15(1):165, 2016.

Bilal, M.; Rasheed, T.; Iqbal, H. M. N.; Hu, H.; Wang, W.; Zhang, X. Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. *International Journal of Biological Macromolecules.* 103: 554–574, 2017.

BLAIR, J. M. A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, n. 1, p. 42–51, 1 dez. 2014.

BLAIR, J. M.A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews/Microbiology*. V. 13, 2015.

BLOT, S. et al. Healthcare-associated infections in adult intensive care unit patients: Changes in epidemiology, diagnosis, prevention and contributions of new technologies. *Intensive and Critical Care Nursing*, v. 70, p. 103227, 3 mar. 2022.

Boettger BC, Cayô R, Streling AP, Nodari CS, Almeida LGP, Martins WMBS, Girardello R, Vasconcelos ATR, Gales AC, Pignatari ACC. Dynamic of High-Risk *Acinetobacter baumannii* Major Clones in a Brazilian Tertiary Hospital During a Short Time Period. *Microbiol Drug Resist.* 2020.

BOTELHO, J., GROSSO, F., & PEIXE, L. Resistência a antibióticos em *Pseudomonas aeruginosa* Mecanismos, epidemiologia e evolução. Atualizações de resistência a drogas , v. 44, p. 100640, 2019.

BÖ TTGER, E. C., & CRICH, D. Aminoglycosides: time for the resurrection of a neglected class of antibacterials?. *ACS infectious diseases*, v. 6, n. 2, p. 168-172, 2019.

BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2021

BUSH, K.; BRADFORD, P. A.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 6, n. 8, p. a025247, 21 jun. 2016.

Cabral, A. B.; Melo, R. C. A.; Maciel, M. A. V.; Lopes, A. C. S. L.; Multidrug resistance genes, including blaKPC and blaCTX-M-2, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brasil; *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(5):572-578, Sep-Oct, 2012.

CAG, Y. et al. Resistance mechanisms. *Annals of Translational Medicine*, v. 4, n. 17, p. 326–326, set. 2016.

CARVALHO, R. M. L.; MARQUES, S. G.; GONÇALVES, L. H. B.; ABREU, A. G.; MONTEIRO, S. G.; GONÇALVES, A. G. Phenotypic detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São Luis, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(4):506-509, 2013.

Clsi. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informat. Supplement - M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.

Connell, M. J., Actis, L., Pachon, J.; *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* 37 (2013) 130–155.

CORIOLANO, M. C., BRITO, J. S., FERREIRA, G. R. S., MOURA, M. C., MELO, C. M. L., SOARES, A. K. A., ... & COELHO, L. C. B. B. (2020). Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. *South African Journal of Botany*, v. 129, p. 198-205, 2020.

COX, G.; EJIM, L.; STOGIOS, P. J.; KOTEVA, K.; BORDELEAU, E.; EVDOKIMOVA, E.; SIERON, A. O.; SAVCHENKO, A.; SERIO, A. W.; KRAUSE, K. M.; WRIGHT. D. D. Plazomicin retains antibiotic activity against most aminoglycoside modifying enzymes. *ACS Infect. Dis.* 2018.

Croxatto, A. Prod'hom, G. Greub. G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev.* 36 (2012) 380–407.

CURRAN, C. S., BOLIG, T., & TORABI-PARIZI, P. Mechanisms and targeted therapies for *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, v. 197, n. 6, p. 708-727, 2018.

DE ROSA, Margherita; VERDINO, Anna; SORIENTE, Annunziata; et al. The Odd Couple(s): An Overview of Beta-Lactam Antibiotics Bearing More Than One Pharmacophoric Group. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 2, p. 617, 2021.

Diagnostic Microbiology. 7.ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017.

DOBROVIĆ, K. et al. Healthcare-Associated Bloodstream Infections Due to Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in COVID-19 Intensive Care Unit: A Single-Center Retrospective Study. *Microorganisms*, v. 11, n. 3, p. 774, 17 mar. 2023.

Doi, Y. Murray, G. Peleg, A. *Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance and treatment options*, *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 36(2015) 085–098.

Domenico, E. G. D.; Farulla, I.; Prignano, G.; Gallo, M. T.; Vespaiani, M.; Cavallo, I.; Sperduti, I.; Pontone, M.; Bordignon, V.; Cilli, L.; Santis, A.; Salvo, F.; Pimpinelli, F.; Parola, I. L. L; Toma, L.; Ensoli, F.; Biofilm is a Major Virulence Determinant in Bacterial Colonization of Chronic Skin Ulcers Independently from the Multidrug Resistant Phenotype; *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 1077;

Dong F, Xu Xi-wei, Song Wen-qi, Lü Ping, Yu Sang-jie, Yang Yong-hong, et al. Characterization of multidrug-resistant and metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a pediatric clinic in China. *Chin Med J* 2008; 121:1611-1616.

DUARTE, A. et al. Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 45, p. 29–33, abr. 2016.

DUARTE, A., S. FEREIRA, S. ALMEIDA, AND F.C. DOMINGUES. Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 45:29–33. 2016.

Duarte, A.; Fereira, S.; Almeida, S.; Domingues, F. C.; Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 45 (2016) 29-33.

Ece, G., Erac, B., Cetin, H. Y., Ece, C., & Baysak, A. (2015). Antimicrobial susceptibility and clonal relation between *Acinetobacter baumannii* strains at a Tertiary Care Center in Turkey. *Jundishapur journal of microbiology*, 8(2).

Elramalli, A.; Almshawt, N.; Ahmed, M. O. Current challenges and emergence of carbapenemase-producing bacteria: a brief report from a Libyan hospital. *Pan Afr Med J.* 29 (26):180, 2017.

Erdönmez, D.; Rad, A. Y.; Aksöz, N. Quorum sensing molecules production by nosocomial and soil isolates *Acinetobacter baumannii*. *Arch Microbiol.* 1–10, 2017.

ERIKSONN-GRENNBERG, K. G.; NORDSTROM, K.; ENGLUND, P. Resistance of *Escherichia coli* to Penicillins IX. Genetics and Physiology of Class II Ampicillin-Resistant Mutants That Are Galactose Negative or Sensitive to Bacteriophage C21, or Both. *Journal of Bacteriology*. Suécia,

v. 108, n. 3, p. 1210–1223, dez. 1971.

FALLAH, A. et al. Frequency of bap and cpaA virulence genes in drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and their role in biofilm formation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 20, n. 8, p. 849–855, 1 ago. 2017.

FRAGKOU, P. C., POULAKOU, G., BLIZOU, A., BLIZOU, M., RAPTI, V., KARAGEORGOPoulos, D. E., & TSIODRAS, S. The role of minocycline in the treatment of nosocomial infections caused by multidrug, extensively drug and pandrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a systematic review of clinical evidence. *Microorganisms*, v. 7, n. 6, p. 159, 2019.

FRIERI, M., KUMAR, K., & BOUTIN, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of infection and public health*, v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017.

GAD, G.; MOHAMED, H.; ASHOUR, H. Aminoglycoside resistance rates, phenotypes, and mechanisms of Gram-negative bacteria from infected patients in upper Egypt. *PLoS ONE*. 6:e17224. 2011.

Gallant, C. V.; Daniels, C.; Leung, J. M.; Ghosh, A. S.; Young, K. D.; Kotra, L. P.; Burrows, L. L.; Common  $\beta$ -lactamases inhibit bacterial biofilm formation; *Molecular Microbiology* v. 58 (4), 1012– 1024 2005.

GARNEAU-TSODIKOVA, S., & LABBY, K. J. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. *Med chem comm*, 7(1), 11-27. 2016.

GE, S., DUO, L., WANG, J., YANG, J., LI, Z., & TU, Y. A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 271, p. 113877, 2021.

GEBREYOHANNES, G., NYERERE, A., BII, C., & SBHATU, D. B. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Heliyon*, v. 5, n. 8, p. e02192, 2019.

Gellatly, S. L.; Hancock, R. E. W.; *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*.67, 159–173, 2013.

Ghafourian, S.; Sadeghifard, N.; Sekawi, S. Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr. Issues Mol. Biol.* 17: 11-22. 2015.

Gurung, J.; Kyriem, A. B.; Banik, A.; Lyngdoh, W. V.; Choudhury, B.; Bhattacharyya, P.; Association of biofilm production with multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care unit; *Indian Journal of Critical Care Medicine* July-August 2013 Vol 17 Issue 4.

GUZMAN-BLANCO, M.; LABARCA, J.A.; VILLEGRAS, M.V.; AND GOTUZZO, E. Extended spectrum b-lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J. Infect. Dis.* 18:421–433. 2014.

Guzman-Blanco, M., Labarca, J. A., Villegas, M. V., Gotuzzo, E. & Latin America Working Group on Bacterial Resistance. Resistance Extended spectrum b-lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J Infect Dis* 18, 421-433, 2014.

Howard, A.; O'donoghue, M.; Feeney, A.; Sleator, R. D. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, v. 3, n. 3, p. 243–50, 1 maio 2012.

HRABÁK, J.; CHUDÁČKOVA, E.; PAPAGIANNITIS, C. C. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 20, n. 9, p. 839–853, set. 2014.

HUGHES, S. et al. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with Covid- 19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting S. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 26, n. January, p. 1395–199, 2020.

Jacome, P. R. L. A., Alves, L. R., Cabral, A. B., Lopes, A. C. S. & Maciel, M. A. V. (2012b). First Report of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 56, 4990.

Jacome, P. R. L. A.; Alves, L. R.; Jacome-Junior, A. T.; Silva, M. J. B.; Lima, J. L. C.; Araujo, P. S. R.; Lopes, A. C. S.; Maciel, M. A. V.; Detection of blaSPM-1, blaKPC, blaTEM and blaCTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. From cancer patients with healthcare-associated infections; *Journal of Medical Microbiology* (2016), 65, 658-665.

JACOME, P.R.L.A., L.R. ALVES, A.T. JACOME-JUNIOR, M.J.B. SILVA, J.L.C. LIMA, P.S.R. ARAUJO, A.C.S LOPES, AND M.A.V. MACIEL. Detection of blaSPM-1, blaKPC, blaTEM and blaCTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. From cancer patients with healthcare-associated infections. *J. Med. Microbiol.* 65:658–665. 2016.

JOSPE-KAUFMAN, M; SIOMIN, L; FRIDMAN, M. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020.

JUNIOR, C.; DA, S. D. Diversidade fenótipica e genética de cepas de *Escherichia coli* isoladas de leite bovino, caracara plancus e isolados clínicos : uma abordagem One health. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/48803>>. Acesso em: 20 jul. 2023

KALAYCIOĞLU, Z. ERIM, F. B. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food chemistry*, v. 221, p. 496-507, 2017.

KATZUNG, B. G; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. *Farmacologia básica e clínica*. 12 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KHOSHNOOD, S., HEIDARY, M., MIRNEJAD, R., BAHRAMIAN, A., SEDIGHI, M., &

MIRZAEI, H. (2017). Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 94, p. 982-994, 2017.

KHOSHNOOD, S., HEIDARY, M., MIRNEJAD, R., BAHRAMIAN, A., SEDIGHI, M., & MIRZAEI, H. (2017). Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 94, p. 982-994, 2017.

KONEMAN, E.W.; PROCOP, G.W.; CHURCH, D.L.; HALL, G.S.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER P.C.; WOODS, G.L. COLOR ATLAS & TEXTBOOK of KRAUSE, K. M.; SERIO, A. W.; KANE, T. R.; CONNOLL, L. E. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring HarbPerspect Med*, 6: a027029, 2016.

KUNDU, J. et al. Evaluation of ERIC-PCR and MALDI-TOF as typing tools for multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from a tertiary care center in India. *PLOS ONE*, v. 17, n. November, p. 1-13, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0271652>.

Lahmar, A.; Bedoui, A.; Mokdad-Bzeouichi, I.; Dhaouifi, Z.; Kalboussi, Z.; Cheraif, I.; Ghedira, K.; Chekir-Ghedira, L.; Reversal or resistance in bactéria underlies synergistic effect of essential oils with conventional antibiotics. *Microbial Pathogenesis*, 2016.

LAI, C. et al. Increased antimicrobial resistance during the Covid-19 pandemic. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 57, 2021.

LAI, C. et al. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. 2020. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7574147/>.

Laila, H. J. E. A.; Santos, R. C. V.; General aspects and molecular mechanisms involved in the formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*. *DisciplinarumScientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 17, n. 1, p. 125-144, 2016.

LANA, R. M. et al. The novel coronavirus (SARS-CoV-2) emergency and the role of timely and effective national health surveillance. *Cadernos de Saude Publica*, v. 36, n. 3, p. 1-5, 2020.

LATORRE, M et al. 6-O-Nucleotidyltransferase: an aminoglycosidemodifying enzyme specific for streptomycin/streptidine. *Med. Chem. Commun.* 7, 177. 2016.

Leal, N. C., Campos, T. L., Rezende, A. M., Docena, C., Mendes-Marques, C. L., de Sá Cavalcanti, F. L. & de-Melo-Neto, O. P. (2020). Comparative genomics of *Acinetobacter baumannii* clinical strains from Brazil reveals polyclonal dissemination and selective exchange of mobile genetic elements associated with resistance genes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1176.

LEEDAHL, D.D. et al. Predictors of mortality among bacteremic patients with septic shock receiving appropriate antimicrobial therapy. *BMC Anesthesiology*, London, v.25, n.21, p.14- 21, Mar.2014.

Lemos, E. V.; Hoz, F. P.; Einarson, T. R.; Mcghan, W. F.; Quevedo, E.; Castañeda, C. And Kawai, K.; Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacter baumannii* infection: systematic review and meta-analysis. *ClinMicrobiol Infect* 2014; 20: 416–423.

Leylabadlo, H. E.; Pourlak, T.; Bialvaei, A. Z.; Aghazadeh, M.; Asgharzadeh, M.; Kafil, H. S. Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Gram Negative Bacteria In Iran: A Review. *Afr., J. Infect. Dis.* 11 (2): 39-53, 2017.

LIFEMAP – Disponível em <http://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/> Acesso em: 12 de outubro de 2023.

LIMA, A. V. A. et al. Occurrence and Diversity of Intra- and Interhospital Drug-Resistant and Biofilm-Forming *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*, p.mdr.2019.0214, 2020.

LIMA, A.V.A.; DA SILVA, S.M.; DO NASCIMENTO JÚNIOR, J.A.A.; CORREIA, M.T.S.; LUZ, A.C.; LEAL-BALBINO, T.C.; DE OLIVEIRA, M.B.M. Occurrence and Diversity of Intra- and Interhospital Drug-Resistant and Biofilm-Forming *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*. 2020.

LINDSTROM, E. B.; BOMAN, H. G.; STEELE, B. B. Resistance of *Escherichia coli* to penicillins. VI. Purification and characterization of the chromosomally mediated penicillinase present in ampA-containing strains. *Journal of bacteriology*. Suécia, v. 101 n. 1, p. 218-31, jan. 1970.

LIU, L. H. et al. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 51, n. 4, p. 565– 572, 2018.

LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em <http://www.bacterio.net/index.html>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2023.

LU, S.Y.; ZHANGS, S.N.; GENG, T.Y.; LI, C.M.; YED, D.; ZHANG, F. ZOU, H. W. High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. *Appl. Environ. Microbiol.*; v.76, p.5972-5976, 2010.

MA, S. et al. Metagenomic analysis reveals oropharyngeal microbiota alterations in patients with Covid-19. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2021.

MACEDO, V. et al. The health facility as a risk factor for multidrug-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients with COVID-19. *Clinics*, v. 77, n. October, 2022.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. *Microbiologia de Brock*. 14<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARTINEZ-GUERRA, B. A. et al. Antimicrobial resistance patterns and antibiotic use during hospital conversion in the Covid-19 pandemic. *Antibiotics*, v. 10, n. 2, p. 1–9, 2021.

MARTINS, W. M. B. S. et al. SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* ST277 clone recovered from microbiota of migratory birds. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 90, n. 3, p. 221–227, 2018.

Mathlouthi, N.; El Salabi, A. A.; Jomàa-Jemili, M. B.; Bakour, S.; Al-Bayssari, C.; Zorgani, A. A.; Kraiema, A.; Elahmer, O.; Okdah, L.; Rolain, J.; Chouchani, C. Early detection of metallo- $\beta$ -lactamase NDM-1- and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Libyan hospitals. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 48 (1): 46-50, 2016.

MAZUI, G. Um dia após pronunciamento, Bolsonaro repete ataques a governadores e críticas ao isolamento. G1, Rio de Janeiro, 25 mar. 2020. Disponível em: <https://g1.globo.com/politica/noticia/2020/03/25/um-dia-apos-pronunciamento-bolsonaro-repete-ataques-a-governadores-e-defende-isolamento-mais-brando.ghtml>. Acesso em: 31 ago. 2020.

MAZZARIOL, A.; BAZAJ, A.; CORNAGLIA, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *Journal of Chemotherapy*, v. 29, n. 1, p. 2–9, 2017.

Mcconnell, M. J.; Actis, L.; Pachón, J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* 37 (2): 130–155, 2013.

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

Medicina Intensiva (English Edition), v. 46, n. 7, p. 392–402, 2022.

MELLA, S.; SEPULVEDA, M.; GONZALEZ, G.; BELLOT, H.; DOMINGUEZ, M.; VAZIRI, F.; PEERAYEH, S.N.; NEJAD, Q.B.; FARHADIAN, A. The prevalence of aminoglycosidemodifying enzyme genes (aac (6')-I, aac (6')-II, ant (2")-I, aph (3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinics (Sao Paulo)*. 66:1519-22. 2011.

MIRÓ, E.; GRU'NBAUM, F.; GÓMEZ, L.; RIVERA, A.; MIRELIS, B.; COLL, P.; NAVARRO, F. Characterization of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Enterobacteriaceae Clinical Strains and Characterization of the Plasmids Implicated in Their Diffusion. *Microbial Drug Resistance*. 19: 2, 2013.

MIRZAEI, R. et al. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. *IUBMB Life*, v. 72, n. 10, p. 2097–2111, 2020.

MOHAMMED, H. et al. Spread of TEM, VIM, SHV, and CTX-M  $\beta$ -Lactamases in Imipenem-Resistant gram-Negative Bacilli Isolated from Egyptian Hospitals. *International Journal of Microbiology*, 2016.

MONTEIRO, S. G.; GONÇALVES, A. G. Phenotypic detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São

Luis, State of Maranhão, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 46(4):506-509, 2013.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia Médica 7a edição.

Nachimuthu, R.; Subramani, R.; Maray, S.; Gothandam, K. M.; Sivamangala, K.; Manohar, P.; Bozdogan, B. Characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria from Tamil Nadu. Journal of Chemotherapy. 00 (0): 1-4, 2016.

Nordmann, P. Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négative. Médecine/Sciences. 26 (11): 950-959, 2010.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. Clinical Infectious Diseases, v. 69, n. Suppl 7, p. S521-S528, 2019.

NORI, P. et al. Emerging Co-Pathogens: New Delhi Metallo-beta-lactamase producing Enterobacterales Infections in New York City Covid-19 Patients. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 56, 2020.

NORONHA, K. V. M. DE S. et al. The COVID-19 pandemic in Brazil: analysis of supply and demand of hospital and ICU beds and mechanical ventilators under different scenarios. Cadernos de Saúde Pública, v. 36, n. 6, 2020.

OLIVE, D. M.; BEAN, P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. Journal of clinical microbiology, v. 37, n. 6, p. 1661-1669, 1999.

Oliveira, A. C.; Silva, R. S.; Díaz, M. E. P.; Iquiapaza, R. A. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 18 (6): 1-10, 2010.

OMBELET, S. et al. Blood culture surveillance in a secondary care hospital in Benin: epidemiology of bloodstream infection pathogens and antimicrobial resistance. BMC Infect Dis, v. 22, n. 1, p. 1-15, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07077-z>.

OVIAÑO, M., & RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, v. 39, n. 4, p. 192–200, 2020.

PARAJULI, N. P. et al. High burden of antimicrobial resistance among gram negative bacteria causing healthcare associated infections in a critical care unit of Nepal. Antimicrobial Resistance and Infection Control, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2017.

PATEL, A. N. BANDAWANE, D. D. MHETRE, N. K. Pomegranate (*Punica granatum* Linn.) leaves attenuate disturbed glucose homeostasis and hyperglycemia mediated hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. European Journal of Integrative Medicine, v. 6, n. 3, p. 307-321, 2014.

PATIÑO, M. G. G., CONTRERAS, R. G., LIMÓN, P. L. The Immune Response against

*Acinetobacter baumannii*, na Emerging Pathogen in Nosocomial Infections. *Frontiers in Immunology*. v. 8, 2017.

Paz Pereira, J. N., de Andrade, C. A. D. N., da Costa Lima, J. L., de Lima Neto, R. G., de Araújo, P. S. R., & Maciel, M. A. V. (2020). Clonal dissemination of clinical isolates of *acinetobacter baumannii* carriers of 16S rRNA methylase genes in an oncological hospital in Recife, Brazil. *Current microbiology*, 77(1), 32-39.

Peleg AY, Franklin C, Bell JM, Spelman DW. Dissemination of the metallo-blactamases Gene blaIMP-4 among Gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1549-1556.

PELLING, H. et al. Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. *Letters in Applied Microbiology*, v. 68, n. 4, p. 277–293, 2019.

PEREIRA, A.; CRUZ, K. A. T. DA; LIMA, P. S. PRINCIPAIS ASPECTOS DO NOVO CORONAVÍRUS SARS-CoV-2: UMA AMPLA REVISÃO. *Arquivos do Mudi*, v. 25, n. 1, p. 73–90, 16 abr. 2021.

Perez, L.R. (2015). *Acinetobacter baumannii* displays inverse relationship between meropenem resistance and biofilm production. *J.Chemother*. 27,13–16.

PERNAMBUCO. Secretaria de Planejamento e Gestão de Pernambuco (Seplag-PE). COVID19 em Dados. Recife, 2020. Disponível em: <https://dados.seplag.pe.gov.br/apps/corona.html#regula%C3%A7%C3%A3o-srag>. Acesso 01 set. 2021

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (SES-PE). Boletim covid-19 - Comunicação SES-PE. Boletim Nº592. Recife, 2021. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1a4-4gtDXQF-G-HPNMLE3hSl2u5Ayji8h/view> . Acesso em 13 out. 2021

PITOUT, J.D.D. et al. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clin Microbiol Rev*, 33(1), 2019.

Potron, A. Poirel, L. Nordmann, P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology, *Int. J. Antimicrob. Agents* 45 (2015) 568–585.

POTRON, A., L. POIREL, AND P. NORDMANN. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents* 45: 568–585. 2015.

Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S and Song H.; Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front. Microbiol*. 7: 483, 2016.

QI, L., H. LI, C. ZHANG, B. LIANG, J. LI, L. WANG, X. DU, X. LIU, S. QIU, AND H. SONG. Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front. Microbiol.* 7:483. 2016.

RAMIREZ MS, TOLMASKY ME. Enzimas modificadoras de aminoglicosídeos. *Drug Resist Updat* 13: 151–171. 2010.

RANG, H. P. et al. Rang e Dale: Farmacologia. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RANGEL, K. CHAGAS, T. P. G. DE-SIMONE, S. G. Infecções por *Acinetobacter baumannii* em tempos de pandemia de COVID-19. *Patógenos* , v. 10, n. 8, pág. 1006, 2021.

Rasheed JK, Anderson GJ, Yigit H, Quennan AM, Doménech-Sánchez A, Swenson JM, et al. Caracterization of the Extended-Spectrum b-lactamase Reference strain, Klebsiella pneumoniae K6 (ATCC 700603), which Produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2382-2388.

RECIFE. Decreto nº 33.551 de 20 de março de 2020. DECLARA ESTADO DE CALAMIDADE PÚBLICA NO MUNICÍPIO DO RECIFE PARA FINS DE PREVENÇÃO E DE ENFRENTAMENTO À PANDEMIA CAUSADA PELO COVID-19 (NOVO CORONAVÍRUS), no Município de Recife. Recife: Prefeitura do Recife, 20 mar. 2020a. Disponível em: <https://reciprev.recife.pe.gov.br/sites/default/files/inline-files/DECRETO%2033.551.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2023.

Reiter, K.C.; Da Silva Paim, T.G.; De Oliveira, C.F.; D'Azevedo, P.A. High biofilm production by invasive multiresistant staphylococci. *APMIS* 2011, 119, 776–781.

Revista de Medicina, v. 99, n. 5, p. 473–479, 2020.

RIBEIRO, A. M. F. Farmacologia dos antibióticos aminoglicosídeos. Dissertação do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal, 2017.

RIBEIRO, P.C.S., A.S. MONTEIRO, S.G. MARQUES, S.G. MONTEIRO, V. MONTEIRO-NETO, M.M.M. COQUEIRO, AND M.R.Q. BOMFIM. Phenotypic and molecular detection of the blaKPC gene in clinical isolates from patients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect. Dis.* 16:737. 2016.

Rodríguez-Baño, J. Martí, S. Soto, S. Fernández-Cuenca, F. Cisneros, J.M. Pachón, J. et al., Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications, *Clin. Microbiol. Infect.* 14 (2008)276–278.

ROTHE, K. et al. Rates of bacterial co-infections and antimicrobial use in Covid-19 patients: a retrospective cohort study in light of antibiotic stewardship. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 40, n. 4, p. 859–869, 2021.

ROUZÉ, A. et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-

associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study. *Intensive Care Medicine*, v. 47, n. 2, p. 188–198, 2021.

RUS, M. et al. Distribution of NDM1 carbapenemase-producing *proteae* strains on high-risk hospital wards. *Infection and Drug Resistance*, v. 13, p. 4751–4761, 2020.

RUSCHEL, K. et al. Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Medicina Programa de Pós Graduação em Medicina -Ciências Médicas  $\beta$ -lactamases na família Enterobacteriaceae: Métodos de detecção e prevalência. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14753/000664017.pdf>>. Acesso em: 29 maio. 2023.

SALAZAR-OSPINA, L.; VANEGAS, J. M.; JIMÉNEZ, J. N. High intermittent colonization by diverse clones of  $\beta$ -lactam-resistant Gram-negative bacilli suggests an excessive antibiotic use and different sources of transmission in haemodialysis patients. *Journal of Hospital Infection*, v. 107, p. 76-86, 2021.

Sanchez, C.J., Jr.; Mende, K.; Beckius, M.L.; Akers, K.S.; Romano, D.R.; Wenke, J.C.; Murray, C.K. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC Infect. Dis.* 2013, 13, 47. Seyedjavadi, S. S.; Goudarzi, M.; Sabzehali, F. Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *Journal of Acute Disease*. 5 (1): 71–76, 2016.

SELEGATTO, G. et al. SURTO DE ACINETOBACTER BAUMANNII RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS EM UMA UTI DE PACIENTES COM COVID-19: CONTROLE COM MEDIDAS BÁSICAS É POSSÍVEL. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, p. 102520, set. 2022.

SERIO, A. W., KEEPERS, T., ANDREWS, L., & KRAUSE, K. M. Aminoglycoside Revival: Review of a Historically Important Class of Antimicrobials Undergoing Rejuvenation. *EcoSal Plus*, 8(1). 2018.

SHARMA, A.; LEE, S.; PARK, Y.-S. Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review. *Food Science and Biotechnology*, v. 29, n. 10, p. 1301–1318, 16 ago. 2020.

SHAW, K. J. et al. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiological Reviews*, v. 57, n. 1, p. 138–163, 1 mar. 1993.

SHERIF, M. M. et al. Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Biofilms: Evaluation of Phenotypic–Genotypic Association and Susceptibility to Cinnamic and Gallic Acids. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 17 set. 2021.

SILVA, K. C. DA; LINCOLN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 48, n. 2, p. 91–99, abr. 2012.

Silva, k. c.; Lincopan, n. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio • J Bras Patol Med Lab v. 48 n. 2 p. 91-99 abril 2012.

SILVA, P.M.; SILVA, B.R.; SILVA, J.N.O.S.; MOURA, M.C.; SOARES, T.; FEITOSA, A.P.S.; BRAYNER, F.A.; ALVES, L.C.; PAIVA, P.M.; INGMER, P.D.H.; NAPOLEÃO, ZÁRATE, S.G.; CLAURE, M.L.D.L.C.; ARENAS-BENITO, R.; REVUELTA, J.; SANTANA, A.G.; BASTIDA, A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. *Molecules* 23, 284; 2018.

SILVA, P.M.; SILVA, J.N.O.; SILVA, B.R.; FERREIRA, G.R.S.; GAIÃO, W.D.C.; RECIO, M.V.; GONÇALVES, G.G.A.; RODRIGUES, C.G.; MEDEIROS, P.L.; BRAYMER, F.A.; ALVES, L.C.; LARSEN, M.H.; INGMER, H.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Antibacterial effects of the lectin from pomegranate sarcotesta (PgTeL) against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology* , v. 131, n. 2, pág. 671-681, 2021.

SILVA, S.M.; SILVA, F. H.; SÁ, R. A. Q. C.; BARBOSA, A. V.; LIMA, A. V. A.; PEREZ, A. M. C.; FILHO- CHAVES, A. C.; LIMA, A. R. B.; RAMOS, B. A.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; OLIVEIRA, M. B. M.; Virulence factors of human pathogens: an always-needed approach. *Journal of Public Health*. V: P: 2022.

SILVEIRA, M. C. et al. Genetic Basis of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated From Bloodstream in Brazil. *Front Med*, v. 8, n. March, p. 1-9, 2021.

SPYROPOULOU, A. et al. A ten-year surveillance study of carbapenemaseproducing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care Greek university hospital: Predominance of KPC- over VIM- or NDM-producing isolates. *Journal of Medical Microbiology*, v. 65, n. 3, p. 240–246, 2016.

Stepanovic, S. Vukovic, D. Hola, V. Bonaventura, G. Djukic, S. Cirkovic, I. Ruzicka. F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Journal Compilation APMIS*.115 891, 2007.

SULTAN, I., RAHMAN, S., JAN, A. T., SIDDIQUI, M. T., MONDAL, A. H., & HAQ, Q. M. R. Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: a bacterial perspective. *Frontiers in microbiology*, p. 2066, 2018.

TACCONELLI, E., CARRARA, E., SAVOLDI, A., et al., 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 18, 318–327. 2018.

TAKISSIAN, J. et al. NG-test carba 5 for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriales from positive blood cultures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 63, n. 5, p. 17–20, 2019.

- TAN, C. et al. Bloodstream infection and ventilator-associated pneumonia in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) supported by extracorporeal membrane oxygenation. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 2019, p. 1-8, 2022.
- Tanner, W. D.; Atkinson, R. M.; Goel, R. K.; Toleman, M. A.; Benson, L. S.; Porucznik, C. A.; Vanderslicea, J. A. Horizontal transfer of the blaNDM-1 gene to *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in biofilms. *FEMS Microbiol Lett*. 364 (8): 1-6, 2017.
- Tariq, T. M. Bacteriologic Profile and Antibiogram of Blood Culture Isolates from a Children's Hospital in Kabul. *J Coll Physicians Surg Pak*. 24 (6): 396-399, 2014.
- TEIXEIRA, B.; RODULFO, H.; CARRENO, N.; GUZMAN, M.; SALAZAR, E.; & DONATO, M. D. Aminoglycoside resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Cumana, Venezuela. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 58. 2016.
- TORTORA, G.; FUNKE, B.; CASE, C. Livro - Tortora - Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- VAKULENKO, S.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev*. 3:430-50. 2003.
- VERDEROSA, A. D., TOTSIKA, M., & FAIRFULL-SMITH, K. E. Bacterial biofilm eradication agents: a current review. *Frontiers in chemistry*, p. 824, 2019.
- VESTBY, L. K., GRØNSETH, T., SIMM, R., & NESSE, L. L. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, v. 9, n. 2, p. 59, 2020.
- VIJAYAKUMAR, S.; RAJENDERAN, S.; LAISHRAM, S.; ANANDAN, S.; BALAJI, V.; AND BISWAS. I. Biofilm formation and motility depend on the nature of the *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Front. Public Health*. 4:105. 2016.
- VON WINTERSDORFF, C. J. H.; et al. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*. v. 7, p. 1-10, 2016.
- Wattal, C. Oberoi, J.K. Goel, N. Raveendran, R. Khanna. S. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of microorganisms in the routine clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016.
- WEBER, B. S. et al. A multidrug resistance plasmid contains the molecular switch for type VI secretion in *Acinetobacter baumannii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 30, p. 9442-9447, 28 jul. 2015.
- Y. DOI, G. MURRAY, A. PELEG, *Acinetobacter baumannii: Evolution of Antimicrobial Resistance-Treatment Options*, *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 36 085-098. 2015.
- Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel

Carbapenem-Hydrolyzing  $\beta$ -lactamase, KPC-1, from a CarbapenemResistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 45: 1151-1161, 2001.

ZÁRATE, S.G.; CLAURE, M.L.D.L.C.; ARENAS-BENITO, R.; REVUELTA, J.; SANTANA, A.G.; BASTIDA, A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. *Molecules* 23, 284; 2018.

ZEMELMAN, R.; ET AL. Aminoglucósidos-aminociclitóles: características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Rev Chil Infect*. 21:330-8. 2004.

ZHAI, X. et al. Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel. *Carbohydrate polymers*, v. 202, p. 461-469, 2018.

ZHAO W-H, HU Z-Q. IMP-type metallo- $\beta$ -lactamases in gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons. *Crit Rev Microbiol*, v. 37, p. 214-226, 2011.

ZHAO, W-H.; HU, Z-Q. Acquired metallo- $\beta$ -lactamases and their genetic association with class 1 integrons and ISCR elements in Gram-negative bacteria. *Future Microbiol*. (2015) 10(5), 873–887, 2015.

ZHONG, N. et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, v. 362, n. 9393, p. 1353–1358, out. 2003.

## 6. CONCLUSÕES

1. Os diferentes perfis de suscetibilidade fenotípicos e genotípicos encontrados, demonstram a capacidade de adaptação dos patógenos investigados e revelam a problemática terapêutica das infecções causadas por eles;
2. Os resultados descritos neste estudo demonstram a situação crítica na transmissão de infecções hospitalares, reforçando a necessidade de intervenções com estratégias tanto para o tratamento quanto para o monitoramento das infecções hospitalares, bem como para a prevenção da infecção cruzada;
3. Não foi possível correlacionar o perfil de resistência com a capacidade de formação de biofilme, indicando que essa capacidade parece ser intrínseca e multifatorial na espécie investigada;
4. O presente estudo forneceu dados alarmantes que indicam a elevada e crescente capacidade de adaptação de *A. baumannii* no ambiente hospitalar, demonstrando o aspecto problemático do tratamento e erradicação desse patógeno.

## **SÚMULA CURRICULAR**

- Certificação no curso “Medidas de proteção no manejo da COVID-19 na Atenção Especializada”, produzido pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), na categoria qualificação profissional, com carga horária de 15 horas - 2021.
  - 2021 - 2021 Técnicas de Coloração de Gram. (Carga horária: 15h). plataforma de Educação Permanente, TELELAB, Brasil.
  - 2021 - 2021 Biossegurança Laboratórios de DST, AIDS e Hepatites Virais. (Carga horária: 15h).
  - Resumos publicados em anais de congressos: Ocorrência de *Acinetobacter baumannii* resistentes a drogas e formadores de biofilme em uma UTI-COVID, no ano de 2020/2021 RECIFE, PERNAMBUCO, BRASIL .
- .

## REFERÊNCIAS

- ACHRAF, A. et al. Natural pomegranate juice reduces inflammation, muscle damage and increase platelets blood levels in active healthy Tunisian aged men. *Alexandria Journal of Medicine*, v. 54, n. 1, p. 45-48, 2018.
- Akhi, M. T.; Khalili, Y.; Ghotaslou, R.; Yousefi, S.; Kafil, H. S.; Naghili, B.; Sheikhalizadeh, V. Evaluation of Carbapenem Resistance Mechanisms and Its Association with *Pseudomonas aeruginosa* Infections in the Northwest of Iran. *Microbial Drug Resistance*. 00 (00): 1-10, 2017.
- AKHTAR, S. et al. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food chemistry*, v. 174, p. 417-425, 2015.
- ALFOUZAN, W. et al. Epidemiology and Microbiological Profile of Common Healthcare Associated Infections among Patients in the Intensive Care Unit of a General Hospital in Kuwait: A Retrospective Observational Study. *Journal of Epidemiology and Global Health*, v. 11, n. 3, p. 302, 2021.
- ARAUJO, B.F.; FERREIRA, M.L.; CAMPOS, P.A.D.; ROYER, S.; BATISTÃO, D.W.D.F.; DANTAS R.C.C; ET AL. Clinical and Molecular Epidemiology of MultidrugResistant *P. aeruginosa* Carrying *aac(6')*-Ib-cr, *qnrS1* and *blaSPM* Genes in Brazil. *PLoS ONE* 11(5): e0155914. 2016.
- ASIF, M. ALVI, I. A. REHMAN, S. U. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and drug resistance*, v. 11, p. 1249, 2018.
- ASLAM, B., WANG, W., ARSHAD, I., KHURSHID, M., MUZAMMIL, S., RASOOL, M. H., NISAR, M. A., ALVI, R. F., ASLAM, M. A., QAMAE, M. U., SALAMAT, M. K. F., BALOCH, Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist*. 11: 1645–1658. 2018.
- Atashili, J., Lyonga, E.E., Mandi, H., Ikomey, G., Mukwele, B., and Eyoh, A.B. (2014). Relationship between multiple drug resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from medical and non-medical personnel in Yaoundé, Cameroon. *Pan Afr. Med. J.* 17:186.
- BADAVE, G. K. Biofilm Producing Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* : An Emerging Challenge. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*, 2015
- BATRA, Aditi; ROEMHILD, Roderich; ROUSSEAU, Emilie; et al. High potency of sequential therapy with only  $\beta$ -lactam antibiotics. *eLife*, v. 10, p. e68876, 2021
- BEIJERINCK, M. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. *Versl Koninklijke Akad Wetensch Amsterdam*, v. 19, p. 1092-103, 1911.
- BERLANGA, M.; UERRERO, R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its

biotechnological implications. *Microb Cell Fact.* 15(1):165, 2016.

Bilal, M.; Rasheed, T.; Iqbal, H. M. N.; Hu, H.; Wang, W.; Zhang, X. Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. *International Journal of Biological Macromolecules.* 103: 554–574, 2017.

BLAIR, J. M. A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, n. 1, p. 42–51, 1 dez. 2014.

BLAIR, J. M.A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews/Microbiology.* V. 13, 2015.

BLOT, S. et al. Healthcare-associated infections in adult intensive care unit patients: Changes in epidemiology, diagnosis, prevention and contributions of new technologies. *Intensive and Critical Care Nursing*, v. 70, p. 103227, 3 mar. 2022.

Boettger BC, Cayô R, Streling AP, Nodari CS, Almeida LGP, Martins WMBS, Girardello R, Vasconcelos ATR, Gales AC, Pignatari ACC. Dynamic of High-Risk *Acinetobacter baumannii* Major Clones in a Brazilian Tertiary Hospital During a Short Time Period. *Microbiol Drug Resist.* 2020.

BOTELHO, J., GROSSO, F., & PEIXE, L. Resistência a antibióticos em *Pseudomonas aeruginosa* Mecanismos, epidemiologia e evolução. *Atualizações de resistência a drogas* , v. 44, p. 100640, 2019.

BÖ TTGER, E. C., & CRICH, D. Aminoglycosides: time for the resurrection of a neglected class of antibacterials?. *ACS infectious diseases*, v. 6, n. 2, p. 168-172, 2019.

BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2021

BUSH, K.; BRADFORD, P. A.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 6, n. 8, p. a025247, 21 jun. 2016.

Cabral, A. B.; Melo, R. C. A.; Maciel, M. A. V.; Lopes, A. C. S. L.; Multidrug resistance genes, including blaKPC and blaCTX-M-2, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brasil; *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(5):572-578, Sep-Oct, 2012.

CAG, Y. et al. Resistance mechanisms. *Annals of Translational Medicine*, v. 4, n. 17, p. 326–326, set. 2016.

CARVALHO, R. M. L.; MARQUES, S. G.; GONÇALVES, L. H. B.; ABREU, A. G.; MONTEIRO, S. G.; GONÇALVES, A. G. Phenotypic detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São Luis, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(4):506-509, 2013.

Clsi. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informat.

Supplement - M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.

Connell, M. J., Actis, L., Pachon, J.; *Acinetobacter baumannii: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models*. FEMS Microbiol Rev 37 (2013) 130–155.

CORIOLANO, M. C., BRITO, J. S., FERREIRA, G. R. S., MOURA, M. C., MELO, C. M. L., SOARES, A. K. A., ... & COELHO, L. C. B. B. (2020). Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. *South African Journal of Botany*, v. 129, p. 198-205, 2020.

COX, G.; EJIM, L.; STOGIOS, P. J.; KOTEVA, K.; BORDELEAU, E.; EVDOKIMOVA, E.; SIERON, A. O.; SAVCHENKO, A.; SERIO, A. W.; KRAUSE, K. M.; WRIGHT, D. D. Plazomicin retains antibiotic activity against most aminoglycoside modifying enzymes. *ACS Infect. Dis.* 2018.

Croxatto, A. Prod'hom, G. Greub. G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev.* 36 (2012) 380–407.

CURRAN, C. S., BOLIG, T., & TORABI-PARIZI, P. Mechanisms and targeted therapies for *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, v. 197, n. 6, p. 708-727, 2018.

DE ROSA, Margherita; VERDINO, Anna; SORIENTE, Annunziata; et al. The Odd Couple(s): An Overview of Beta-Lactam Antibiotics Bearing More Than One Pharmacophoric Group. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 2, p. 617, 2021.

Diagnostic Microbiology. 7.ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017.

DOBROVIĆ, K. et al. Healthcare-Associated Bloodstream Infections Due to Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in COVID-19 Intensive Care Unit: A Single-Center Retrospective Study. *Microorganisms*, v. 11, n. 3, p. 774, 17 mar. 2023.

Doi, Y. Murray, G. Peleg, A. *Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance treatment options*, *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 36(2015) 085–098.

Domenico, E. G. D.; Farulla, I.; Prignano, G.; Gallo, M. T.; Vespaiani, M.; Cavallo, I.; Sperduti, I.; Pontone, M.; Bordignon, V.; Cilli, L.; Santis, A.; Salvo, F.; Pimpinelli, F.; Parola, I. L. L; Toma, L.; Ensoli, F.; Biofilm is a Major Virulence Determinant in Bacterial Colonization of Chronic Skin Ulcers Independently from the Multidrug Resistant Phenotype; *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 1077;

Dong F, Xu Xi-wei, Song Wen-qi, Lü Ping, Yu Sang-jie, Yang Yong-hong, et al. Characterization of multidrug-resistant and metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a pediatric clinic in China. *Chin Med J* 2008; 121:1611-1616.

DUARTE, A. et al. Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, v. 45, p. 29–33, abr. 2016.

DUARTE, A., S. FEREIRA, S. ALMEIDA, AND F.C. DOMINGUES. Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.. 45:29–33. 2016.

Duarte, A.; Fereira, S.; Almeida, S.; Domingues, F. C.; Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 45 (2016) 29-33.

Ece, G., Erac, B., Cetin, H. Y., Ece, C., & Baysak, A. (2015). Antimicrobial susceptibility and clonal relation between *Acinetobacter baumannii* strains at a Tertiary Care Center in Turkey. Jundishapur journal of microbiology, 8(2).

Elramalli, A.; Almshawt, N.; Ahmed, M. O. Current challenges and emergence of carbapenemaseproducing bacteria: a brief report from a Libyan hospital. Pan Afr Med J. 29 (26):180, 2017.

Erdönmez, D.; Rad, A. Y.; Aksöz, N. Quorum sensing molecules production by nosocomial and soil isolates *Acinetobacter baumannii*. Arch Microbiol. 1–10, 2017.

ERIKSONN-GRENNBERG, K. G.; NORDSTROM, K.; ENGLUND, P. Resistance of *Escherichia coli* to Penicillins IX. Genetics and Physiology of Class II Ampicillin-Resistant Mutants That Are Galactose Negative or Sensitive to Bacteriophage C21, or Both. Journal of Bacteriology. Suécia, v. 108, n. 3, p. 1210–1223, dez. 1971.

FALLAH, A. et al. Frequency of bap and cpaA virulence genes in drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and their role in biofilm formation. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, v. 20, n. 8, p. 849–855, 1 ago. 2017.

FRAGKOU, P. C., POULAKOU, G., BLIZOU, A., BLIZOU, M., RAPTI, V., KARAGEORGOPoulos, D. E., & TSIODRAS, S. The role of minocycline in the treatment of nosocomial infections caused by multidrug, extensively drug and pandrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a systematic review of clinical evidence. Microorganisms, v. 7, n. 6, p. 159, 2019.

FRIERI, M., KUMAR, K., & BOUTIN, A. (2017). Antibiotic resistance. Journal of infection and public health, v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017.

GAD, G.; MOHAMED, H.; ASHOUR, H. Aminoglycoside resistance rates, phenotypes, and mechanisms of Gram-negative bacteria from infected patients in upper Egypt. PLoS ONE. 6:e17224. 2011.

Gallant, C. V.; Daniels, C.; Leung, J. M.; Ghosh, A. S.; Young, K. D.; Kotra, L. P.; Burrows, L. L.; Common  $\beta$ -lactamases inhibit bacterial biofilm formation; *Molecular Microbiology* v. 58 (4), 1012– 1024 2005.

GARNEAU-TSODIKOVA, S., & LABBY, K. J. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. *Med chem comm*, 7(1), 11-27. 2016.

GE, S., DUO, L., WANG, J., YANG, J., LI, Z., & TU, Y. A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 271, p. 113877, 2021.

GEBREYOHANNES, G., NYERERE, A., BII, C., & SBHATU, D. B. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Helijon*, v. 5, n. 8, p. e02192, 2019.

Gellatly, S. L.; Hancock, R. E. W.; *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*.67, 159–173, 2013.

Ghafourian, S.; Sadeghifard, N.; Sekawi, S. Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr. Issues Mol. Biol.* 17: 11-22. 2015.

Gurung, J.; Kyriem, A. B.; Banik, A.; Lyngdoh, W. V.; Choudhury, B.; Bhattacharyya, P.; Association of biofilm production with multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care unit; *Indian Journal of Critical Care Medicine* July-August 2013 Vol 17 Issue 4.

GUZMAN-N-BLANCO, M.; LABARCA, J.A.; VILLEGAS, M.V.; AND GOTUZZO, E. Extended spectrum b-lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J. Infect. Dis.* 18:421–433. 2014.

Guzman-Blanco, M., Labarca, J. A., Villegas, M. V., Gotuzzo, E. & Latin America Working Group on Bacterial Resistance. Resistance Extended spectrum b-lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J Infect Dis* 18, 421-433, 2014.

Howard, A.; O'donoghue, M.; Feeney, A.; Sleator, R. D. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, v. 3, n. 3, p. 243–50, 1 maio 2012.

HRABÁK, J.; CHUDÁČKOVA, E.; PAPAGIANNITSIS, C. C. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 20, n. 9, p. 839–853, set. 2014.

HUGHES, S. et al. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with Covid- 19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting S. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 26, n. January, p. 1395–199, 2020.

Jacome, P. R. L. A., Alves, L. R., Cabral, A. B., Lopes, A. C. S. & Maciel, M. A. V. (2012b).

First Report of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 56, 4990.

Jacome, P. R. L. A.; Alves, L. R.; Jacome-Junior, A. T.; Silva, M. J. B.; Lima, J. L. C.; Araujo, P. S. R.; Lopes, A. C. S.; Maciel, M. A. V.; Detection of blaSPM-1, blaKPC, blaTEM and blaCTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. From cancer patients with healthcare-associated infections; *Journal of Medical Microbiology* (2016), 65, 658-665.

JACOME, P.R.L.A., L.R. ALVES, A.T. JACOME-JUNIOR, M.J.B. SILVA, J.L.C. LIMA, P.S.R. ARAUJO, A.C.S LOPES, AND M.A.V. MACIEL. Detection of blaSPM-1, blaKPC, blaTEM and blaCTX-M genes in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and *Klebsiella* spp. From cancer patients with healthcare-associated infections. *J. Med. Microbiol.* 65:658–665. 2016.

JOSPE-KAUFMAN, M; SIOMIN, L; FRIDMAN, M. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020.

JUNIOR, C.; DA, S. D. Diversidade fenótipica e genética de cepas de *Escherichia coli* isoladas de leite bovino, caracara plancus e isolados clínicos : uma abordagem One health. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/48803>>. Acesso em: 20 jul. 2023

KALAYCIOĞLU, Z. ERIM, F. B. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food chemistry*, v. 221, p. 496-507, 2017.

KATZUNG, B. G; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. *Farmacologia básica e clínica*. 12 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KHOSHNOOD, S., HEIDARY, M., MIRNEJAD, R., BAHRAMIAN, A., SEDIGHI, M., & MIRZAEI, H. (2017). Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 94, p. 982-994, 2017.

KHOSHNOOD, S., HEIDARY, M., MIRNEJAD, R., BAHRAMIAN, A., SEDIGHI, M., & MIRZAEI, H. (2017). Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 94, p. 982-994, 2017.

KONEMAN, E.W.; PROCOP. G.W.; CHURCH, D.L.; HALL, G.S.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER P.C.; WOODS, G.L. *COLOR ATLAS & TEXTBOOK* of KRAUSE, K. M.; SERIO, A. W.; KANE, T. R.; CONNOLL, L. E. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring HarbPerspect Med*, 6: a027029, 2016.

KUNDU, J. et al. Evaluation of ERIC-PCR and MALDI-TOF as typing tools for multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from a tertiary care center in India. *PLOS ONE*, v. 17, n. November, p. 1-13, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0271652>.

Lahmar, A.; Bedoui, A.; Mokdad-Bzeouichi, I.; Dhaouifi, Z.; Kalboussi, Z.; Cheraif, I.; Ghedira, K.; Chekir-Ghedira, L.; Reversal or resistance in bactéria underlies synergistic effect of essential oils with conventional antibiotics. *Microbial Pathogenesis*, 2016.

LAI, C. et al. Increased antimicrobial resistance during the Covid-19 pandemic. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 57, 2021.

LAI, C. et al. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. 2020. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7574147/>.

Laila, H. J. E. A.; Santos, R. C. V.; General aspects and molecular mechanisms involved in the formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*. *DisciplinarumScientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 17, n. 1, p. 125-144, 2016.

LANA, R. M. et al. The novel coronavirus (SARS-CoV-2) emergency and the role of timely and effective national health surveillance. *Cadernos de Saude Publica*, v. 36, n. 3, p. 1–5, 2020.

LATORRE, M et al. 6-O-Nucleotidyltransferase: an aminoglycosidemodifying enzyme specific for streptomycin/streptidine. *Med. Chem. Commun.* 7, 177. 2016.

Leal, N. C., Campos, T. L., Rezende, A. M., Docena, C., Mendes-Marques, C. L., de Sá Cavalcanti, F. L.& de-Melo-Neto, O. P. (2020). Comparative genomics of *Acinetobacter baumannii* clinical strains from Brazil reveals polyclonal dissemination and selective exchange of mobile genetic elements associated with resistance genes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1176.

LEEDAHL, D.D. et al. Predictors of mortality among bacteremic patients with septic shock receiving appropriate antimicrobial therapy. *BMC Anesthesiology*, London, v.25, n.21, p.14-21, Mar.2014.

Lemos, E. V.; Hoz, F. P.; Einarson, T. R.; Mcghan, W. F.; Quevedo, E.; Castañeda, C. And Kawai, K.; Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacterbaumannii* infection: systematic review and meta-analysis. *ClinMicrobiol Infect* 2014; 20: 416–423.

Leylabadlo, H. E.; Pourlak, T.; Bialvaei, A. Z.; Aghazadeh, M.; Asgharzadeh, M.; Kafil, H. S. Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Gram Negative Bacteria In Iran: A Review. *Afr., J. Infect. Dis.* 11 (2): 39-53, 2017.

LIFEMAP – Disponível em <http://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/> Acesso em: 12 de outubro de 2023.

LIMA, A. V. A. et al. Occurrence and Diversity of Intra- and Interhospital Drug-Resistant and Biofilm-Forming *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*, p.mdr.2019.0214, 2020.

LIMA, A.V.A.; DA SILVA, S.M.; DO NASCIMENTO JÚNIOR, J.A.A.; CORREIA, M.T.S.; LUZ, A.C.; LEAL-BALBINO, T.C.; DE OLIVEIRA, M.B.M. Occurrence and Diversity of Intra-and Interhospital Drug-Resistant and Biofilm-Forming *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Microbial Drug Resistance. 2020.

LINDSTROM, E. B.; BOMAN, H. G.; STEELE, B. B. Resistance of *Escherichia coli* to penicillins. VI. Purification and characterization of the chromosomally mediated penicillinase present in ampA-containing strains. Journal of bacteriology. Suécia, v. 101 n. 1, p. 218-31, jan. 1970.

LIU, L. H. et al. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, v. 51, n. 4, p. 565– 572, 2018.

LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em <http://www.bacterio.net/index.html>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2023.

LU, S.Y.; ZHANGS, S.N.; GENG, T.Y.; LI, C.M.; YED, D.; ZHANG, F. ZOU, H. W. High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. Appl. Environ. Microbiol.; v.76, p.5972-5976, 2010.

MA, S. et al. Metagenomic analysis reveals oropharyngeal microbiota alterations in patients with Covid-19. Signal Transduction and Targeted Therapy, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2021.

MACEDO, V. et al. The health facility as a risk factor for multidrug-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients with COVID-19. Clinics, v. 77, n. October, 2022.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. Microbiologia de Brock. 14<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARTINEZ-GUERRA, B. A. et al. Antimicrobial resistance patterns and antibiotic use during hospital conversion in the Covid-19 pandemic. Antibiotics, v. 10, n. 2, p. 1–9, 2021.

MARTINS, W. M. B. S. et al. SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* ST277 clone recovered from microbiota of migratory birds. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v. 90, n. 3, p. 221–227, 2018.

Mathlouthi, N.; El Salabi, A. A.; Jomàa-Jemili, M. B.; Bakour, S.; Al-Bayssari, C.; Zorgani, A. A.; Kraiema, A.; Elahmer, O.; Okdah, L.; Rolain, J.; Chouchani, C. Early detection of metallo-βlactamase NDM-1- and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Libyan hospitals. International Journal of Antimicrobial Agents. 48 (1): 46-50, 2016.

MAZUI, G. Um dia após pronunciamento, Bolsonaro repete ataques a governadores e críticas ao isolamento. G1, Rio de Janeiro, 25 mar. 2020. Disponível em: <https://g1.globo.com/politica/noticia/2020/03/25/um-dia-apos-pronunciamento-bolsonaro-repete->

ataques-a-governadores-e-defende-isolamento-mais-brando.ghml. Acesso em: 31 ago. 2020.

MAZZARIOL, A.; BAZAJ, A.; CORNAGLIA, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *Journal of Chemotherapy*, v. 29, n. 1, p. 2–9, 2017.

Mcconnell, M. J.; Actis, L.; Pachón, J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* 37 (2): 130–155, 2013.

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

Medicina Intensiva (English Edition), v. 46, n. 7, p. 392–402, 2022.

MELLA, S.; SEPULVEDA, M.; GONZALEZ, G.; BELLOT, H.; DOMINGUEZ, M.; VAZIRI, F.; PEERAYEH, S.N.; NEJAD, Q.B.; FARHADIAN, A. The prevalence of aminoglycosidemodifying enzyme genes (aac (6')-I, aac (6')-II, ant (2")-I, aph (3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinics (Sao Paulo)*. 66:1519-22. 2011.

MIRÓ, E.; GRUÑBAUM, F.; GÓMEZ, L.; RIVERA, A.; MIRELIS, B.; COLL, P.; NAVARRO, F. Characterization of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Enterobacteriaceae Clinical Strains and Characterization of the Plasmids Implicated in Their Diffusion. *Microbial Drug Resistance*. 19: 2, 2013.

MIRZAEI, R. et al. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. *IUBMB Life*, v. 72, n. 10, p. 2097–2111, 2020.

MOHAMMED, H. et al. Spread of TEM, VIM, SHV, and CTX-M  $\beta$ -Lactamases in Imipenem-Resistant gram-Negative Bacilli Isolated from Egyptian Hospitals. *International Journal of Microbiology*, 2016.

MONTEIRO, S. G.; GONÇALVES, A. G. Phenotypicdetectionofmetallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São Luis, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(4):506-509, 2013.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia Médica* 7a edição.

Nachimuthu, R.; Subramani, R.; Maray, S.; Gothandam, K. M.; Sivamangala, K.; Manohar, P.; Bozdogan, B. Characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria from Tamil Nadu. *Journal of Chemotherapy*. 00 (0): 1-4, 2016.

Nordmann, P. Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram negative. *Medecine/Sciences*. 26 (11): 950-959, 2010.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in

Gram-negative Bacteria. Clinical Infectious Diseases, v. 69, n. Suppl 7, p. S521–S528, 2019.  
 NORI, P. et al. Emerging Co-Pathogens: New Delhi Metallo-beta-lactamase producing Enterobacteriales Infections in New York City Covid-19 Patients. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 56, 2020.

NORONHA, K. V. M. DE S. et al. The COVID-19 pandemic in Brazil: analysis of supply and demand of hospital and ICU beds and mechanical ventilators under different scenarios. Cadernos de Saúde Pública, v. 36, n. 6, 2020.

OLIVE, D. M.; BEAN, P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. Journal of clinical microbiology, v. 37, n. 6, p. 1661-1669, 1999.

Oliveira, A. C.; Silva, R. S.; Díaz, M. E. P.; Iquiapaza, R. A. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 18 (6): 1-10, 2010.

OMBELET, S. et al. Blood culture surveillance in a secondary care hospital in Benin: epidemiology of bloodstream infection pathogens and antimicrobial resistance. BMC Infect Dis, v. 22, n. 1, p. 1-15, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07077-z>.

OVIAÑO, M., & RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, v. 39, n. 4, p. 192–200, 2020.

PARAJULI, N. P. et al. High burden of antimicrobial resistance among gram negative bacteria causing healthcare associated infections in a critical care unit of Nepal. Antimicrobial Resistance and Infection Control, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2017.

PATEL, A. N. BANDAWANE, D. D. MHETRE, N. K. Pomegranate (*Punica granatum* Linn.) leaves attenuate disturbed glucose homeostasis and hyperglycemia mediated hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. European Journal of Integrative Medicine, v. 6, n. 3, p. 307-321, 2014.

PATIÑO, M. G. G., CONTRERAS, R. G., LIMÓN, P. L. The Immune Response against *Acinetobacter baumannii*, na Emerging Pathogen in Nosocomial Infections. Frontiers in Immunology. v. 8, 2017.

Paz Pereira, J. N., de Andrade, C. A. D. N., da Costa Lima, J. L., de Lima Neto, R. G., de Araújo, P. S. R., & Maciel, M. A. V. (2020). Clonal dissemination of clinical isolates of *acinetobacter baumannii* carriers of 16S rRNA methylase genes in an oncological hospital in Recife, Brazil. Current microbiology, 77(1), 32-39.

Peleg AY, Franklin C, Bell JM, Spelman DW. Dissemination of the metallo-blactamases Gene blaIMP-4 among Gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. Clin Infect Dis 2005; 41: 1549-1556.

PELLING, H. et al. Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. Letters in

Applied Microbiology, v. 68, n. 4, p. 277–293, 2019.

PEREIRA, A.; CRUZ, K. A. T. DA; LIMA, P. S. PRINCIPAIS ASPECTOS DO NOVO CORONAVÍRUS SARS-CoV-2: UMA AMPLA REVISÃO. Arquivos do Mudi, v. 25, n. 1, p. 73–90, 16 abr. 2021.

Perez, L.R. (2015). *Acinetobacter baumannii* displays inverse relationship between meropenem resistance and biofilm production. J.Chemother. 27,13–16.

PERNAMBUKO. Secretaria de Planejamento e Gestão de Pernambuco (Seplag-PE). COVID19 em Dados. Recife, 2020. Disponível em: <https://dados.seplag.pe.gov.br/apps/corona.html#regula%C3%A7%C3%A3o-srag>. Acesso 01 set. 2021

PERNAMBUKO. Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (SES-PE). Boletim covid-19 - Comunicação SES-PE. Boletim Nº592. Recife, 2021. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1a4-4gtDXQF-G-HPNMLE3hSl2u5Ayji8h/view> . Acesso em 13 out. 2021

PITOUT, J.D.D. et al. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. Clin Microbiol Rev, 33(1), 2019.

Potron, A. Poirel, L. Nordmann, P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology, Int. J. Antimicrob. Agents 45 (2015) 568–585.

POTRON, A., L. POIREL, AND P. NORDMANN. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Int. J. Antimicrob. Agents 45: 568–585. 2015.

Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S and Song H.; Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. Front. Microbiol. 7: 483, 2016.

QI, L., H. LI, C. ZHANG, B. LIANG, J. LI, L. WANG, X. DU, X. LIU, S. QIU, AND H. SONG. Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. Front. Microbiol. 7:483. 2016.

RAMIREZ MS, TOLMASKY ME. Enzimas modificadoras de aminoglicosídeos. Drug Resist Updat 13: 151–171. 2010.

RANG, H. P. et al. Rang e Dale: Farmacologia. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RANGEL, K. CHAGAS, T. P. G. DE-SIMONE, S. G. Infecções por *Acinetobacter baumannii* em tempos de pandemia de COVID-19. Patógenos , v. 10, n. 8, pág. 1006, 2021.

Rasheed JK, Anderson GJ, Yigit H, Quennan AM, Doménech-Sánchez A, Swenson JM, et al.

Caracterization of the Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase Reference strain, *Klebsiella* *l* *apneumoniae* K6 (ATCC 700603), which Produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2382-2388.

RECIFE. Decreto nº 33.551 de 20 de março de 2020. DECLARA ESTADO DE CALAMIDADE PÚBLICA NO MUNICÍPIO DO RECIFE PARA FINS DE PREVENÇÃO E DE ENFRENTAMENTO À PANDEMIA CAUSADA PELO COVID-19 (NOVO CORONAVÍRUS), no Município de Recife. Recife: Prefeitura do Recife, 20 mar. 2020a. Disponível em: <https://reciprev.recife.pe.gov.br/sites/default/files/inline-files/DECRETO%2033.551.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2023.

Reiter, K.C.; Da Silva Paim, T.G.; De Oliveira, C.F.; D'Azevedo, P.A. High biofilm production by invasive multiresistant staphylococci. *APMIS* 2011, 119, 776-781.

Revista de Medicina, v. 99, n. 5, p. 473-479, 2020.

RIBEIRO, A. M. F. Farmacologia dos antibióticos aminoglicosídeos. Dissertação do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal, 2017.

RIBEIRO, P.C.S., A.S. MONTEIRO, S.G. MARQUES, S.G. MONTEIRO, V. MONTEIRO-NETO, M.M.M. COQUEIRO, AND M.R.Q. BOMFIM. Phenotypic and molecular detection of the blaKPC gene in clinical isolates from patients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect. Dis.* 16:737. 2016.

Rodríguez-Baño, J. Martí, S. Soto, S. Fernández-Cuenca, F. Cisneros, J.M. Pachón, J. et al., Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications, *Clin. Microbiol. Infect.* 14 (2008)276-278.

ROTHE, K. et al. Rates of bacterial co-infections and antimicrobial use in Covid-19 patients: a retrospective cohort study in light of antibiotic stewardship. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 40, n. 4, p. 859-869, 2021.

ROUZÉ, A. et al. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study. *Intensive Care Medicine*, v. 47, n. 2, p. 188-198, 2021.

RUS, M. et al. Distribution of NDM1 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* strains on high-risk hospital wards. *Infection and Drug Resistance*, v. 13, p. 4751-4761, 2020.

RUSCHEL, K. et al. Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Medicina Programa de Pós Graduação em Medicina -Ciências Médicas  $\beta$ -lactamases na família *Enterobacteriaceae*: Métodos de detecção e prevalência. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14753/000664017.pdf>>. Acesso em: 29 maio. 2023.

SALAZAR-OSPINA, L.; VANEGAS, J. M.; JIMÉNEZ, J. N. High intermittent colonization by

diverse clones of  $\beta$ -lactam-resistant Gram-negative bacilli suggests an excessive antibiotic use and different sources of transmission in haemodialysis patients. *Journal of Hospital Infection*, v. 107, p. 76-86, 2021.

Sanchez, C.J., Jr.; Mende, K.; Beckius, M.L.; Akers, K.S.; Romano, D.R.; Wenke, J.C.; Murray, C.K. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC Infect. Dis.* 2013, 13, 47. Seyedjavadi, S. S.; Goudarzi, M.; Sabzevali, F. Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *Journal of Acute Disease*. 5 (1): 71–76, 2016.

SELEGATTO, G. et al. SURTO DE ACINETOBACTER BAUMANNII RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS EM UMA UTI DE PACIENTES COM COVID-19: CONTROLE COM MEDIDAS BÁSICAS É POSSÍVEL. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, p. 102520, set. 2022.

SERIO, A. W., KEEPERS, T., ANDREWS, L., & KRAUSE, K. M. Aminoglycoside Revival: Review of a Historically Important Class of Antimicrobials Undergoing Rejuvenation. *EcoSal Plus*, 8(1). 2018.

SHARMA, A.; LEE, S.; PARK, Y.-S. Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review. *Food Science and Biotechnology*, v. 29, n. 10, p. 1301–1318, 16 ago. 2020.

SHAW, K. J. et al. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiological Reviews*, v. 57, n. 1, p. 138–163, 1 mar. 1993.

SHERIF, M. M. et al. Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Biofilms: Evaluation of Phenotypic–Genotypic Association and Susceptibility to Cinnamic and Gallic Acids. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 17 set. 2021.

SILVA, K. C. DA; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 48, n. 2, p. 91–99, abr. 2012.

Silva, k. c.; Lincopan, n. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio • *J Bras Patol Med Lab* v. 48 n. 2 p. 91-99 abril 2012.

SILVA, P.M.; SILVA, B.R.; SILVA, J.N.O.S.; MOURA, M.C.; SOARES, T.; FEITOSA, A.P.S.; BRAYNER, F.A.; ALVES, L.C.; PAIVA, P.M.; INGMER, P.D.H.; NAPOLEÃO, ZÁRATE, S.G.; CLAURE, M.L.D.L.C.; ARENAS-BENITO, R.; REVUELTA, J.; SANTANA, A.G.; BASTIDA, A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. *Molecules* 23, 284; 2018.

SILVA, P.M.; SILVA, J.N.O.; SILVA, B.R.; FERREIRA, G.R.S.; GAIÃO, W.D.C.; RECIO, M.V.; GONÇALVES, G.G.A.; RODRIGUES, C.G.; MEDEIROS, P.L.; BRAYMER, F.A.;

ALVES, L.C.; LARSEN, M.H.; INGMER, H.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Antibacterial effects of the lectin from pomegranate sarcotesta (PgTeL) against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 131, n. 2, pág. 671-681, 2021.

SILVA, S.M.; SILVA, F. H.; SÁ, R. A. Q. C.; BARBOSA, A. V.; LIMA, A. V. A.; PEREZ, A. M. C.; FILHO- CHAVES, A. C.; LIMA, A. R. B.; RAMOS, B. A.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; OLIVEIRA, M. B. M.; Virulence factors of human pathogens: an always-needed approach. *Journal of Public Health*. V: P: 2022.

SILVEIRA, M. C. et al. Genetic Basis of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated From Bloodstream in Brazil. *Front Med*, v. 8, n. March, p. 1-9, 2021.

SPYROPOULOU, A. et al. A ten-year surveillance study of carbapenemaseproducing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care Greek university hospital: Predominance of KPC- over VIM- or NDM-producing isolates. *Journal of Medical Microbiology*, v. 65, n. 3, p. 240–246, 2016.

Stepanovic, S. Vukovic, D. Hola, V. Bonaventura, G. Djukic, S. Cirkovic, I. Ruzicka. F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Journal Compilation APMIS*.115 891, 2007.

SULTAN, I., RAHMAN, S., JAN, A. T., SIDDIQUI, M. T., MONDAL, A. H., & HAQ, Q. M. R. Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: a bacterial perspective. *Frontiers in microbiology*, p. 2066, 2018.

TACCONELLI, E., CARRARA, E., SAVOLDI, A., et al., 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 18, 318–327. 2018.

TAKISSIAN, J. et al. NG-test carba 5 for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacterales from positive blood cultures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 63, n. 5, p. 17–20, 2019.

TAN, C. et al. Bloodstream infection and ventilator-associated pneumonia in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) supported by extracorporeal membrane oxygenation. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 2019, p. 1–8, 2022.

TANNER, W. D.; ATKINSON, R. M.; GOEL, R. K.; TOLEMAN, M. A.; BENSON, L. S.; PORUCZNIK, C. A.; VANDERSLICEA, J. A. Horizontal transfer of the blaNDM-1 gene to *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in biofilms. *FEMS Microbiol Lett.* 364 (8): 1-6, 2017.

Tariq, T. M. Bacteriologic Profile and Antibiogram of Blood Culture Isolates from a Children's Hospital in Kabul. *J Coll Physicians Surg Pak.* 24 (6): 396-399, 2014.

TEIXEIRA, B.; RODULFO, H.; CARRENO, N.; GUZMAN, M.; SALAZAR, E.; & DONATO,

M. D. Aminoglycoside resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Cumana, Venezuela. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 58. 2016.

TORTORA, G.; FUNKE, B.; CASE, C. Livro - Tortora - Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VAKULENKO, S.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. Clin Microbiol Rev. 3:430-50. 2003.

VERDEROSA, A. D., TOTSIKA, M., & FAIRFULL-SMITH, K. E. Bacterial biofilm eradication agents: a current review. Frontiers in chemistry, p. 824, 2019.

VESTBY, L. K., GRØNSETH, T., SIMM, R., & NESSE, L. L. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. Antibiotics, v. 9, n. 2, p. 59, 2020.

VIJAYAKUMAR, S.; RAJENDERAN, S.; LAISHRAM, S.; ANANDAN, S.; BALAJI, V.; AND BISWAS. I. Biofilm formation and motility depend on the nature of the *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Front. Public Health. 4:105. 2016.

VON WINTERSDORFF, C. J. H.; et al. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. Frontiers in Microbiology. v. 7, p. 1–10, 2016.

Wattal, C. Oberoi, J.K. Goel, N. Raveendran, R. Khanna. S. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of microorganisms in the routine clinical microbiology laboratory. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2016.

WEBER, B. S. et al. A multidrug resistance plasmid contains the molecular switch for type VI secretion in *Acinetobacter baumannii*. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 112, n. 30, p. 9442–9447, 28 jul. 2015.

Y. DOI, G. MURRAY, A. PELEG, *Acinetobacter baumannii*: Evolution of Antimicrobial Resistance-Treatment Options, Semin. Respir. Crit. Care Med. 36 085–098. 2015.

Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sánchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing b-lactamase, KPC-1, from a CarbapenemResistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 45: 1151-1161, 2001.

ZÁRATE, S.G.; CLAURE, M.L.D.L.C.; ARENAS-BENITO, R.; REVUELTA, J.; SANTANA, A.G.; BASTIDA, A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. Molecules 23, 284; 2018.

ZEMELMAN, R.; ET AL. Aminoglucósidos-aminociclitóles: características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Rev Chil Infect. 21:330-8. 2004.

ZHAI, X. et al. Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel. Carbohydrate polymers, v. 202, p. 461-469, 2018.

- ZHAO W-H, HU Z-Q. IMP-type metallo- $\beta$ -lactamases in gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons. *Crit Rev Microbiol*, v. 37, p. 214-226, 2011.
- ZHAO, W-H.; HU, Z-Q. Acquired metallo- $\beta$ -lactamases and their genetic association with class 1 integrons and ISCR elements in Gram-negative bacteria. *Future Microbiol*. (2015) 10(5), 873–887, 2015.
- ZHONG, N. et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, v. 362, n. 9393, p. 1353–1358, out. 2003.

## ANEXO A - REGISTRO NO COMITÊ DE ÉTICA

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Perfil de infecções secundárias bacterianas associadas a pacientes com COVID-19 em um hospital de referência em Recife, Pernambuco, Brasil

**Pesquisador:** Rafael Thiago Pereira Da Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 64012522.5.0000.5208

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio  
Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.848.665

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um Projeto de Mestrado apresentado ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (PGBQF) pelo ALUNO Rafael Thiago Pereira Da Silva sob a ORIENTAÇÃO da Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira – UFPE.

Os principais mecanismos de resistência a antimicrobianos em *A. baumannii* e *P. aeruginosa* incluem a produção de beta-lactamases, superexpressão de bombas de efluxo e alterações nos canais de porina. O objetivo desse trabalho é investigar a ocorrência de beta-lactâmicos em isolados de *A. baumannii* e *P. aeruginosa* obtidos de pacientes confirmados com COVID-19 em unidade de terapia intensiva, de um hospital público em Recife-PE, além de verificar seu potencial como formadora de biofilmes. Para isso, serão realizados experimentos fenotípicos e moleculares por meio da detecção dos genes codificadores das beta-lactamases. Para avaliar o potencial de formação de biofilme será utilizado o método de Cristal Violeta descrito por Stepanovic et al. Os experimentos serão realizados em placas de microtitulação, com diferentes meios de cultura: Luria Bertani Miller(LB Miller), Tryptose Soy Broth (TSB) e TSB suplementado com 1% de glicose. Os resultados gerados auxiliarão no controle das infecções causados por esses microrganismos aprimorando as políticas de saúde publica quanto a disseminação de bactérias resistentes.

**Endereço:** Av. das Engenharias, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

**UF:** PE **Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.848.665

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Investigar a ocorrência de betalactamases em isolados bacterianos de *A. baumannii* e *P. aeruginosa* proveniente de pacientes acometidos pelo COVID -19, obtidos de um hospital públicos de referência em Recife-PE e verificar o potencial de formação de biofilme nesses isolados.

**Objetivo Secundário:**

Caracterizar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos da família beta-lactamase; Detectar o gene blaZ, produtor de betalactamases e seus reguladores (blaR1, blaI) nos isolados bacterianos de *A. baumannii* e *P. aeruginosa*, proveniente de pacientes acometidos pelo COVID-19, obtidos de um hospital público de referência, em Recife-PE;

Comparar a frequência dos genes blaZ, blaR1 e blaI nos isolados investigados.

Analizar o potencial de formação de biofilme nesses isolados.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**RISCOS:** Quanto aos riscos inerentes ao trabalho, pode ocorrer o extravio de material e quebra de sigilo. Para minimizar os riscos o pesquisador afirmou que ficará responsável pelo envio das amostras, será realizado a dupla identificação das amostras em cada placa, para que não haja confusão e troca, além disso, será utilizada uma tabela de dados com data de envio para rastreabilidade de cada amostra caso haja necessidade, e para minimizar o risco de extravio, as amostras antes de enviadas, serão protegidas por três barreiras, a primeira será uma barreira de papel filme, a segunda PVC, e a terceira uma caixa para transporte, devidamente sinalizada como risco biológico. Foi anexado termo de compromisso e confidencialidade.

**BENEFÍCIOS:** serão indiretos. Os resultados obtidos nesta pesquisa, fornecerão dados sobre os fatores de resistência e virulência de amostras de *A. baumanii* e *P. aeruginosa* obtidos de pacientes positivados para a COVID-19. Essas informações poderão auxiliar os setores competentes do hospital investigado na relação e associação desses fatores com os desfechos clínicos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo experimental. Na plataforma Brasil o pesquisador informa na metodologia que "as amostras serão disponibilizadas" pelo setor de microbiologia do hospital Agamenon Magalhães, obtidas de pacientes positivados para corona vírus, internados tanto em setores de

**Endereço:** Av. das Engenharias, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

**UF:** PE **Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588

**Fax:** (81)2126-3163

**E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.848.665

urgência quanto na UTI de um hospital público de grande porte da capital pernambucana, no "período de agosto de 2021 a janeiro de 2022". Estes isolados serão encaminhados para o laboratório de biologia molecular da UFPE, para o desenvolvimento da pesquisa.

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

Os termos apresentados estão em conformidade com as normas do CEP.

**Recomendações:**

Sem Recomendações.

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

Aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Conforme as instruções do Sistema CEP/CONEP, ao término desta pesquisa, o pesquisador tem o dever e a responsabilidade de garantir uma devolutiva acessível e compreensível acerca dos resultados encontrados por meio da coleta de dados a todos os voluntários que participaram deste estudo, uma vez que esses indivíduos têm o direito de tomar conhecimento sobre a aplicabilidade e o desfecho da pesquisa da qual participaram.

Informamos que a aprovação definitiva do projeto só será dada após o envio da NOTIFICAÇÃO COM O RELATÓRIO FINAL da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final disponível em [www.ufpe.br/cep](http://www.ufpe.br/cep) para enviá-lo via Notificação de Relatório Final, pela Plataforma Brasil. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consustanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado. Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJECTO_1879688.pdf	10/01/2023 11:46:42		Aceito

**Endereço:** Av. das Engenharias, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

**CEP:** 50.740-600

**Bairro:** Cidade Universitária

**UF:** PE

**Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588

**Fax:** (81)2126-3163

**E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.848.665

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PREPROJETO_PLATAFORMA_BRASIL_Rafael.doc	10/01/2023 11:46:28	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	10/01/2023 11:45:33	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	CartadeanuenciaHospitalAgamenon.docx	06/10/2022 14:31:19	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	5_termo_de_confidencialidade_final.docx	06/10/2022 14:26:17	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	curriculo_maria_oliveira.pdf	26/05/2022 15:28:33	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	curriculo_rafael_silva.pdf	26/05/2022 15:27:35	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Outros	declaracao_vinculo_rafael_thi.pdf	26/05/2022 15:24:44	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	28/04/2022 16:36:58	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito
Folha de Rosto	doc_um_rostro.pdf	28/04/2022 16:31:34	Rafael Thiago Pereira Da Silva	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 11 de Janeiro de 2023

Assinado por:  
**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
 (Coordenador(a))

**Endereço:** Av. das Engenharias, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br