

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Epidemiologia clássica e molecular de infecções por *Acinetobacter baumannii* MR e não MR em pacientes internados e ambiente no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Mariana Lima Prata Rocha

Uberlândia – MG
Dezembro - 2013

Epidemiologia clássica e molecular de infecções por *Acinetobacter baumannii* MR e não MR em pacientes internados e ambiente no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas como requisito parcial a obtenção do título de Doutor.

Mariana Lima Prata Rocha

Prof. Dr. Geraldo Batista de Melo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R672e Rocha, Mariana Lima Prata, 1982-
2013 Epidemiologia clássica e molecular de infecções por
Acinetobacter baumannii MR e não MR em pacientes
internados e ambiente no Hospital de Clínicas da
Universidade Federal de Uberlândia / Mariana Lima Prata
Rocha. – 2013.
76 p. : il.

Orientador: Geraldo Batista de Melo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia
Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Epidemiologia - Teses. 3.
Acinetobacter baumannii - Teses. I. Melo, Geraldo Batista
de. II. Cunha Júnior, Jair Pereira da. III. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas. IV. Título.

CDU: 612.017

Aos meus pais, e à minha irmã, pelo estímulo, carinho e compreensão.
Ao meu Tio Dom Joviano, pelo grande incentivo e contribuição nos meus estudos.
Ao meu esposo pela compreensão e paciência nos momentos de ausência.

*"O cientista não só tem que fazer
ciência, mas também escrevê-la."
(Day, 1990)*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Geraldo Batista de Melo, pela grande oportunidade, pela confiança e pelos conhecimentos compartilhados durante a realização deste trabalho. Agradeço a oportunidade de ter realizado um trabalho sobre sua orientação.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Departamento de Ciências Biomédicas pela oportunidade de realizar esta pesquisa.

Aos professores do Laboratório de Microbiologia pelos conhecimentos compartilhados durante as atividades e seminários.

Aos meus pais, Dagoberto e Vera Lúcia, e à minha irmã, Juliana, que me acompanharam nessa trajetória.

Ao meu tio, Dom Joviano de Lima Júnior (*in memoria*) que sempre me apoiou e me incentivou nos estudos.

Ao meu esposo, Edson Jr., que me apoiou e incentivou nessa caminhada.

Aos meus amigos, professores e demais funcionários da Universidade Federal de Uberlândia, nos quais encontrei compreensão, apoio e cooperação.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AIM – Australian imipenemase
AMI – Amicacina
AMP – Ampicilina
Amp C – cefalosporinas cromossomais
AMP-SUL – Ampicilina-Sulbactam
ARI-1 – *Acinetobacter* resistente ao imipenem
ATCC – “*American Type Culture Collection*”
ATM - Aztreonam
BGN – Bactérias Gram-negativas
BHI – *Brain Heart Infusion*
CHDL – Oxacilinas hidrolisantes de carbapenênicos
CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*
CRAb – *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenênicos
CEF - Ceftazidima
CI – Intervalo de confiança
cm - Centímetro
CIPRO – Ciprofloxacina
COL- Colistina
CPM - cefepime
DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
dNTP - Desoxinucleotídeos
EDTA –Ácido-etil-diamino-tetracético
ESBL – Beta lactamase de espectro estendido
EUA – Estados Unidos da América
FDA – *Food and Drug Administration*
GIM – Germany imipenemase
HC – Hospital de Clínicas
ICS – Infecção de Corrente Sanguínea
IMI - Imipenem
IMP – Imipenemase
IS – sequência de inserção
ITR – Infecção do Trato Respiratório
ITU – Infecção do Trato Urinário
KDa – Kilo Dalton
KHM – Kyorin Hospital metalo-beta-lactamase
LPS – Lipopolissacarídeo
MβL – Metalo-beta-lactamase
MR – multirresistente
MER – Meropenem
μg - Micrograma
MIC – Concentração Inibitória Mínima
mL – Mililitro
mm - Milímetro
OMP – Porina de membrana externa
OR – *Odds ratio*
OXA – Oxacilina

SIM – Seoul imipenemase
SPM – São Paulo metalo-beta-lactamase
PBP – Proteínas ligadoras da penicilina
PCR – Reação da Cadeia da Polimerase
PFGE – Gel de Eletroforese em Campo Pulsado
PIP-TAZ – Piperacilina-Tazobactam
TIG – Tigeciclina
TSA – *Trypticase Soy Agar*
TSB – *Trypticase Soy Broth*
UFU – Universidade Federal de Uberlândia
UTI – Unidade de Terapia Intensiva
VIM – Verona imipenemase

LISTA DE SÍMBOLOS

β – Beta

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

H_2O – água

NaCl – Cloreto de sódio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fatores que contribuem para a permanência no ambiente, infecção e colonização de pacientes por <i>A. baumannii</i>	16
Figura 2: Frequência de amostras multirresistentes, não-multirresistentes e pan-resistentes de <i>A. baumannii</i> em pacientes atendidos no HC-UFU.....	42
Figura 3: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{IMP-1} , bla _{VIM-2} , bla _{SIM} , bla _{SPM-1} e bla _{GIM}	48
Figura 4: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{OXA-23} ; bla _{OXA-24} , bla _{OXA-51} , bla _{OXA-58} e bla _{OXA-143}	49
Figura 5: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{OXA-23} ; bla _{OXA-24} , bla _{OXA-51} , bla _{OXA-58} e bla _{OXA-143}	49
Figura 6: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{OXA-23} ; bla _{OXA-24} , bla _{OXA-51} , bla _{OXA-58} e bla _{OXA-143}	49
Figura 7: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{OXA-23} ; bla _{OXA-24} , bla _{OXA-51} , bla _{OXA-58} e bla _{OXA-143}	50
Figura 8: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla _{OXA-23}	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Subgrupos de carbapenemases da família OXA de β -lactamases.....	23
Tabela 02: Sequências de oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR para detecção dos genes que codificam metalo- β -lactamases e oxacilinases.....	35
Tabela 03: Características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes com infecção por <i>Acinetobacter baumannii</i> durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	38
Tabela 04: Prevalência de <i>Acinetobacter baumannii</i> em espécimes clínicos.....	39
Tabela 05: Distribuição dos episódios causados pelo <i>Acinetobacter baumannii</i> por clínica de internação.....	39
Tabela 06: Perfil de resistência das amostras de <i>Acinetobacter baumannii</i> isoladas de pacientes com infecção durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia..	40
Tabela 07: Frequência de resistência entre os isolados de <i>Acinetobacter baumannii</i> nas infecções de corrente sanguínea, trato respiratório e trato urinário durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	41
Tabela 08: Distribuição por clínicas de internação entre os pacientes com infecção por <i>Acinetobacter baumannii</i> durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia..	42
Tabela 09: Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por <i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia..	43
Tabela 10: Análise univariada dos fatores preditores de morte em pacientes com infecção pelo <i>Acinetobacter baumannii</i> durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia..	44
Tabela 11: <i>Acinetobacter baumannii</i> produtores de metalo- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de pacientes com infecção durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	46
Tabela 12: <i>Acinetobacter baumannii</i> produtores de carbapenemases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de pacientes com infecção durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	47
Tabela 13: Detecção de bla _{OXA} em 72 amostras clínicas de <i>Acinetobacter</i> spp.....	51
Tabela 14: Distribuição das amostras de <i>Acinetobacter baumannii</i>	

multirresistente e não-multirresistente por momento e categoria de coleta das amostras do ambiente dos 25 pacientes internados na UTI com infecção pelo microrganismo.....

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	15
2.JUSTIFICATIVA.....	27
3.OBJETIVOS.....	28
4.MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
5.RESULTADOS.....	37
6.DISSCUSSÃO.....	53
7.CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

RESUMO

A incidência de infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes produtores de carbapenemases está aumentando mundialmente, especialmente em pacientes críticos. O objetivo deste estudo foi determinar a incidência de *A. baumannii* em pacientes infectados no HC-UFU e no ambiente da UTI de adultos do HC-UFU, caracterizando os aspectos epidemiológicos e identificando fenotipicamente e genotipicamente os mecanismos de resistência, no período de agosto de 2009 a outubro de 2010. Foi realizado um estudo prospectivo longitudinal, com busca de casos de infecção por *A. baumannii*. Adicionalmente, foi feito também um estudo caso-controle, sendo para a avaliação dos fatores de risco associados à infecção por *A. baumannii*, com os casos sendo pacientes com infecção por *A. baumannii* multirresistente e os controles aqueles com infecção por *A. baumannii* não-multirresistente. Dos pacientes da UTI que apresentaram infecção, nesse período, por *A. baumannii* coletou-se material do ambiente antes e após a limpeza para verificar a contaminação de superfície por *A. baumannii*. A mortalidade total hospitalar foi avaliada no prazo de 30 dias após o diagnóstico de infecção por *Acinetobacter baumannii*. Das amostras coletadas de paciente e ambiente, realizou-se a identificação fenotípica e genotípica dos mecanismos de resistência e a relação clonal entre as amostras. Um total de 73 pacientes desenvolveu infecções por *A. baumannii* durante o período de estudo. Alguns pacientes tiveram mais de um tipo de infecção, totalizando 84 amostras isoladas de *A. baumannii*. Do total de pacientes, a maioria foi do gênero masculino 49 (67,1%), com idade média de 57,8 anos. Dentre as causas de internação, 49 pacientes (67,1%) foram clínicas, seguido de 17 (23,3%) cirúrgicas. As principais co-morbidades observadas incluíram: nefropatia (30,1%), neoplasia (13,7%) e diabetes mellitus (10,9%). Em relação ao uso de procedimentos invasivos observou-se maior frequência no uso de ventilação mecânica (61,6%), cateter venoso central (60,3%), nutrição parenteral (34,2%) e traqueostomia (34,2%). A média do tempo de internação entre os pacientes foi de 49,5. A maioria dos pacientes fez uso prévio de antimicrobianos (58%). Destas 84 amostras, 30% apresentaram-se não multirresistentes, 59% multirresistentes e 11% pan-resistentes. Foi possível realizar a detecção dos genes de resistência em 72 amostras (84,7%). Um total de 55 amostras (76%) apresentou algum gene pesquisado, sendo que 32(44%) apresentaram somente o gene bla_{OXA-51} e 23 (32%) apresentaram os genes para bla_{OXA-51} e bla_{OXA-23}. Foi observada uma taxa de mortalidade hospitalar total de 39,7% entre os casos de pacientes com infecção por *A.baumannii* MR. O risco de morte foi maior para pacientes com idade superior a 60 anos, pneumonia por *A. baumannii* multirresistente, diabetes mellitus, doença renal, uso de mais de dois procedimentos invasivos e terapia inapropriada através da análise univariada. O PFGE foi realizado em 23 amostras aleatórias; sendo 15 amostras clínicas e 8 amostras provenientes do ambiente. Dessas amostras somente 5 eram sensíveis ao imipenem, sendo 3 clínicas e 2 do ambiente. Com isso, pudemos observar a presença de 8 clones (A – H), sendo que os mesmos apresentaram relação temporal/espacial. Embora com limitações neste estudo, evidenciamos uma forte correlação de contaminação entre ambiente e paciente. Estudos adicionais de prevalência não-epidêmica são necessários para promover um melhor conhecimento sobre os padrões de disseminação de *A. baumannii* MR dentro do nosso hospital.

Palavras-chave: carbapenemase, *Acinetobacter baumannii*, fatores de risco, oxacilinas.

ABSTRACT

The incidence of infections caused by multidrug-resistant *A. baumannii* producing carbapenemases is increasing worldwide, especially in critically ill patients. The aim of this study was to evaluate the incidence of *A. baumannii* in patients infected on the HC-UFU and the adult ICU of HC-UFU environment, characterizing the epidemiology, phenotypically and genotypically identifying resistance mechanisms, from August 2009 to October 2010. This study is a longitudinal prospective of the hospital epidemiology database.

Additionally, we also made a case-control study, to assess risk factors associated with infection by *A. baumannii*; the non-MDR isolates were used as the control group. Of ICU patients with infection, in that period, was collected material environment before and after cleaning to verify surface contamination by *A. baumannii*. The overall hospital mortality was assessed within 30 days after diagnosis of infection with *A. baumannii*. Samples collected from patients and environment, held the phenotypic and genotypic identification of mechanisms of resistance and clonal relationship among samples. A total of 73 patients with 84 *A. baumannii* isolates were obtained between August 2009 and October 2010 in this hospital. Of all patients, the majority were males 49 (67.1 %) with mean age of 57.8 years. Among the causes of hospitalization, 49 patients (67.1 %) were clinical, followed by 17 (23.3 %) surgical. The main comorbidities observed were: nephropathy (30.1 %), malignancy (13.7%) and diabetes mellitus (10.9%). Regarding the use of invasive procedures was observed more frequently in the use of mechanical ventilation (61.6 %), central venous catheter (60.3 %), parenteral nutrition (34.2 %) and tracheostomy (34.2 %). The mean length of hospital stay among patients was 49.5. Most patients had prior use of antibiotics (58 %). In the present study, the 30-day mortality rate was 39, 7%. Of 84 *A. baumannii* isolates, 50 (59%) were MDR, nine (11%) were pan-resistant, and 25 (30%) were non-MDR. The factors significantly associated with multidrug resistance included previous surgeries, presence of comorbidity (renal disease), use of more than two devices, parenteral nutrition, and inappropriate antimicrobial therapy. Significant predictors of 30-day mortality in the univariate analysis included pneumonia, diabetes mellitus, renal disease, use of more than two devices, and inappropriate antimicrobial therapy administered within two days of the onset of infection. The factors associated with mortality in patients with MDR *A. baumannii* infection in this study were: age $\geq$ 60 years, pneumonia, diabetes mellitus, renal disease, use of more than two invasive procedures, and inappropriate antimicrobial therapy. It was possible to perform the detection of resistance genes in 72 samples (84.7%). A total of 55 samples (76%) presented a searched gene, 32 (44%) showed only the gene bla_{OXA-51} and 23(32%) showed the genes to bla_{OXA-51} and bla_{OXA-23}. The rate of hospital mortality was 39.7 % among cases of patients with MR *A. baumannii* infection. The PFGE was performed on 23 random samples, with 15 clinical samples and 8 samples from the environment. Only 5 of these samples were susceptible to imipenem, 3 clinics and 2 of the environment. Thus, we observed the presence of 8 clones (A - H), and showed the temporal/spatial relationship. Although with limitations in this study, we observed a strong correlation between environmental contamination and patient. Additional studies of non-epidemic prevalence are needed to promote a better understanding of the patterns of spread of MDR *A. baumannii* within our hospital.

Key-words: carbapenemase, *Acinetobacter baumannii*, risk factors, oxacilinas.

1.INTRODUÇÃO

Características do gênero

Acinetobacter sp. é um cocobacilo Gram-negativo, não fermentador, estritamente aeróbico, não-móvel, sem pigmento, catalase positivo e oxidase negativo (VON GRAEVENITZ, 1995).

Taxonomia

A história taxonômica deste gênero é bastante complexa e tem sido amplamente modificada nos últimos anos. Estudos baseados na hibridização do DNA resultaram na descrição de pelo menos 32 espécies genômicas, das quais 17 foram nomeadas (VAN LOOVEREN e GOOSENS, 2004). Os métodos de identificação tradicionais não são satisfatórios (GERNER-SMIDT, TJERNBERG e URSING, 1991). *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *Acinetobacter calcoaceticus* e genoespécie 3 e 13TU são dificilmente distinguidas fenotipicamente e são denominadas de complexo *Acinetobacter baumannii* - *A. calcoaceticus* (JOLY-GUILLOU, 2005; VAN LOOVEREN e GOOSENS, 2004 e GERNER-SMIDT, TJERNBERG e URSING, 1991). Esse grupo representa as amostras de *Acinetobacter* mais comumente associadas com infecções relacionadas aos cuidados com a saúde, chegando a 75% de *Acinetobacter* spp. isolados de espécimes clínicos (HENWOOD *et al*, 2002).

Patogenicidade de *A. baumannii*

Diversos fatores de virulência e patogenicidade já identificados em *A. baumannii* podem ter um importante papel nos mecanismos de colonização e infecção. Entre eles, podemos mencionar a capacidade de se manter viável por longos períodos em superfícies secas, a aquisição de nutrientes essenciais como o ferro, a adesão às células epiteliais levando a apoptose destas e a secreção de produtos tóxicos (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008 e DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007).

A produção de biofilme, regulada pela atividade de genes do quorum-sensing também tem sido demonstrada (LEE *et al*, 2008). O biofilme facilita a adesão bacteriana a materiais plásticos como cateteres e tubos de ventilação mecânica, favorecendo a colonização e infecção dos pacientes (DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007; LEE *et al*, 2008 e

RODRIGUEZ-BANO *et al*, 2008). Além disso, a interação do pili e do lipopolissacarídeo (LPS) promovendo adesão às células hospedeiras podem ser a primeira etapa na colonização (KNAPP *et al*, 2006).

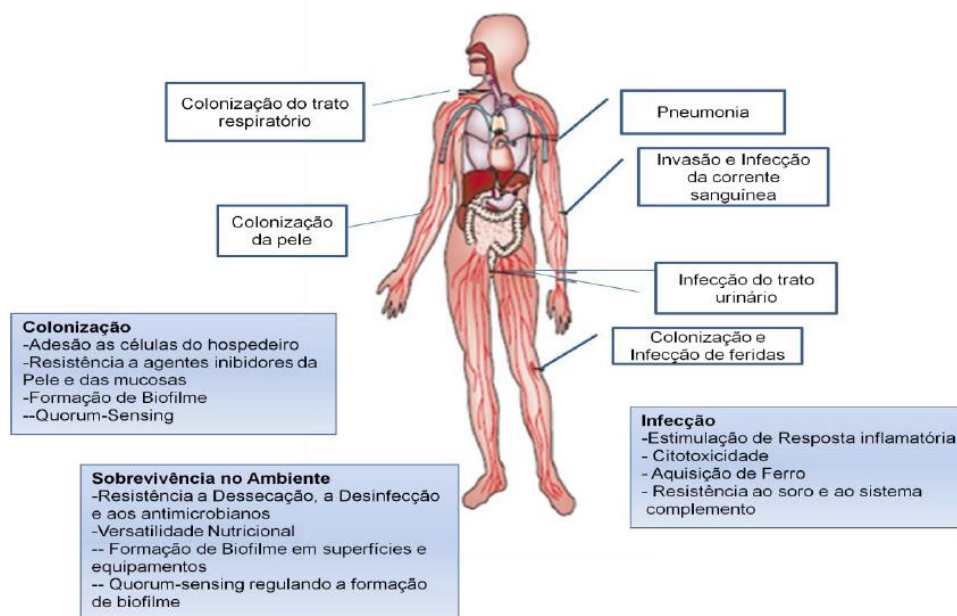


Figura 01: Fatores que contribuem para a permanência no ambiente, infecção e colonização de pacientes por *A. baumannii**

*Adaptado de DIJKSHOORN, NEMEC e SEIFERT, 2007

Epidemiologia global

Acinetobacter baumannii é recuperado do solo, água, animais e humanos, sendo ubiqüitário na natureza (PATERSON, 2006).

Acinetobacter spp. é normalmente membro da microbiota da pele humana de pacientes da comunidade e são frequentemente isolados no trato respiratório de pacientes hospitalizados (FOURNIE e RICHET, 2006). Na comunidade, 10% dos residentes com consumo excessivo de álcool podem apresentá-lo na faringe (ANSTEY *et al*, 2002). Isso sugere que a pele pode ser fonte de infecção severa por *A. baumannii* como a bacteremia (FOURNIE e RICHET, 2006). Um estudo de Berlau e colaboradores (1999) de 192 voluntários sadios revelou que 40% apresentavam *Acinetobacter* spp. como membro da microbiota (com *A. lwoffii* predominando em 60%), enquanto somente um voluntário apresentava uma amostra de *A. baumannii*. Em contraste, em outros estudos *A. baumannii* foi isolado de fontes tais como frutas e artrópodes (FOURNIE e RICHET, 2006).

Pacientes hospitalizados em UTIs sofrem alterações na microbiota normal incluindo a da mucosa do trato respiratório superior, com substituição de bactérias como espécies de *Streptococcus* por bacilos Gram-negativos (BGN) representantes da família Enterobacteriaceae, além de não fermentadores com destaque para *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, e Gram-positivos como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (BASSI *et al*, 2010). Essa alteração ocorre a partir de 5 a 7 dias de internação e é favorecido pela gravidade do estado clínico do paciente, pelo uso de procedimentos invasivos e, sobretudo, pela utilização de antibióticos (RELLO *et al*, 2002).

Infecções por *A. baumannii* foram identificadas em injúrias traumáticas, sugerindo contaminação da ferida (PEREZ *et al*, 2007). *A. baumannii* foi isolado de cultura sanguínea obtidas de 102 pacientes hospitalizados no serviço médico no Afeganistão e na região do Iraque-Kuwait (PEREZ *et al*, 2007; FOURNIE e RICHET, 2006 e CDC, 2004). Na guerra do Vietnã, o *A. baumannii* foi o cocobacilo Gram-negativo mais comum em injúrias traumáticas (FOURNIE e RICHET, 2006). Além disso, *Acinetobacter* multirresistente (MR) foi descrito em 2006 como agente de pneumonia associada a ventilação mecânica em soldados gravemente doentes que retornaram do Afeganistão (TIEN *et al*, 2001). Entretanto, em ambos os casos a fonte do patógeno não é conhecida, somente sugere-se contaminação ambiental, pois o *Acinetobacter* pode sobreviver em ambiente úmido e seco (CATALANO *et al*, 1999 e WENDT *et al*, 2004).

Acinetobacter spp. podem sobreviver por períodos superiores a 5 meses em fontes hospitalares inanimadas (HANLON, 2005; FOURNIE e RICHET, 2006). As mais comuns fontes são ventiladores, equipamentos de sucção, travesseiros, umidificadores, grade da cama, equipamento de nutrição intravenosa, bombas de infusão, pias, mesas, termômetro, saboneteiras e nebulisadores (PATERSON, 2006).

Vigilância e Fatores de risco

A. baumannii está atualmente emergindo como causa de numerosos surtos globais bem como amostras endêmicas em UTI com altas taxas de resistência. *A. baumannii* MR está sendo relatado em hospitais da Europa, EUA, China, Hong Kong, Coreia, Japão e áreas do sul do Pacífico (PEREZ *et al*, 2007).

Dados de vigilância da Sociedade Britânica de Antimicrobianos relatam aumento na resistência desde 2002 em *A. baumannii*, sendo mais de 30% de isolados no sangue resistentes a gentamicina e piperacilina/tazobactam e isolados em outros espécimes clínicos mais

resistentes (BSAC, 2006). Entretanto, taxas de resistência para imipenem são baixas, não excedendo 6%. É interessante que o clone de multirresistência de *A. baumannii* foi identificado em 24 hospitais no Reino Unido, os quais foram resistentes para ampicilina, piperacilina, piperacilina/tazobactam, ceftazidima, cefotaxima, gentamicina e ciprofloxacina, com a maioria dos isolados também resistentes aos carbapenêmicos (TURTON *et al*, 2004(a) e MANUEL *et al*, 2003).

Em diversos estudos, uma variedade de fatores de risco no isolamento de amostras de *A. baumannii* MR foi identificada (FALAGAS e KOPTERIDES, 2006). Em pesquisa de 20 anos no PubMed de setembro de 1985 a setembro de 2005, embora os desenhos dos estudos sejam heterogêneos limitando as análises, aquisição e disseminação de *A. baumannii* MR, foi relatado um grande número de variáveis (FALAGAS e KOPTERIDES, 2006; CARBONNE *et al*, 2005). Em 20 estudos caso-controle com análise multivariada, o uso de antibióticos foi o mais comum fator de risco em mais de 50% dos estudos (FALAGAS e KOPTERIDES, 2006). Carbapenêmicos e cefalosporinas de terceira geração foram os antibióticos mais comumente implicados, seguidos de fluorquinolonas, aminoglicosídeos e metronidazol. Em um estudo de coorte de 203 pacientes, 43% das amostras de *A. baumannii* foram resistentes ao imipenem, com ampla distribuição clonal. Como fatores de risco foram considerados: o tamanho do hospital (maior que 500 leitos), terapia antimicrobiana prévia, uso do cateter de Foley e cirurgia. A análise concluiu que o elemento chave no controle de infecção deveria ser a melhor diferenciação entre colonização e infecção para limitar o uso inapropriado de antibióticos (DEL MAR *et al*, 2005). Outros fatores de risco incluem internação na UTI, tempo de permanência na UTI e no ambiente hospitalar, severidade da doença, sexo, intervenções terapêuticas tais como traqueostomia, hidroterapia, transfusão, cateter venoso central e arterial, cateter de Foley etc (FALAGAS e KOPTERIDES, 2006; NAVON- VENEZIA, BEN-AMI, CARMELI, 2005 e D'AGATA, THAYER, SCCHAFFNER, 2000).

A avaliação do impacto na mortalidade nas infecções por *Acinetobacter baumannii* em pacientes hospitalizados permanece matéria de controvérsia (MARAGAKIS e PERL, 2008; PEREZ *et al*, 2007). Aspectos tais como o número limitado de pacientes, como em nossa investigação, a heterogeneidade metodológica e a dificuldade em parear adequadamente controles quanto à gravidade da doença do grupo caso, contribuem para esta indefinição (ABBO *et al*, 2007; FALAGAS; KOPTERIDES; SIEMPOS, 2006; FOURNIER e RICHET, 2006; MARAGAKIS e PERL, 2008). Há relatos na literatura de taxas de mortalidade atribuída a essas infecções variando de 10 a 43% (FALAGAS, BLIZIOTIS e SIEMPOS, 2006). Portanto, alguns autores defendem que a infecção por *A. baumannii* é um marcador

para aqueles pacientes com doença grave e não um preditor independente de mortalidade (ALBRECHT *et al*, 2006).

Identificação Laboratorial

A identificação fenotípica do gênero baseia-se nas características fenotípicas, porém a identificação das espécies é muito complexa. O sistema com mais de 20 testes diferentes proposto inicialmente por Bouvet e Grimont em 1986 e revisto em 1991 (BOUVET e GRIMONT, 1986 e GERNER-SMIDT, TJERNBERG e URSING, 1991) não é amplamente utilizado e espécies fortemente relacionadas geneticamente não são separadas adequadamente com este sistema. O grande problema é que as espécies mais relevantes clinicamente como *A. baumannii*, genoespécie 3 e 13TU não são diferenciadas da espécie *A. calcoaceticus* considerada de origem ambiental (DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007 e GERNER-SMIDT, TJERNBERG e URSING, 1991).

Os sistemas de identificação comerciais também não conseguem distinguir as espécies do complexo *A. baumannii-calcoaceticus* e, dessa forma, os métodos usados nos laboratórios de rotina não conseguem discriminar as espécies (DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007).

Para melhorar a identificação das espécies de *Acinetobacter*, vários métodos moleculares têm sido propostos. O método de hibridização de DNA proposto inicialmente é muito trabalhoso e não tem sido muito utilizado (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008 e DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007). Atualmente, diferentes métodos baseados na técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando diferentes iniciadores (primers) capazes de amplificar regiões específicas de cada espécie, estão sendo amplamente utilizados. Entre eles, podemos citar a análise da região 16S rRNA e o *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) que são os mais utilizados (DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007). Existe também, o sequenciamento da região intergênica do gene 16S-23S rRNA e o sequenciamento do gene que codifica a subunidade β da RNA polimerase (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008 e DIJKSHOEN, NEMEC e SEIFERT, 2007). A espécie *A. baumannii* pode ser confirmada pela identificação do gene *bla*_{OXA-51like} o qual é intrínseco à espécie (HERITIER *et al*, 2005).

Mecanismos de resistência

Os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos ou adquiridos, sendo que ambos têm sido observados em *A. baumannii*. Os mecanismos de resistência são provenientes da evolução das bactérias, sendo usados como forma de proteção do micro-organismo. A resistência intrínseca é previsível, estando relacionada com a baixa permeabilidade da membrana externa, sistema ativo de efluxo, produção de β -lactamases e de enzimas inativadoras de outros antimicrobianos como aminoglicosídeos e quinolonas (LIVERMORE, 2001 e LIVERMORE e BROWN, 2001).

A resistência adquirida resulta de uma alteração fisiológica ou estrutural na bactéria, não sendo previsível. Quando ocorrem alterações genéticas, podem ser mutação, transdução, transformação ou conjugação. Quando não há alteração pode ocorrer indução de um fenótipo devido às condições do meio, que pode ser estável, permanecendo após retirada do fator ou instável, desaparecendo com o fator de exposição (FORBES, SAHAN e WEISSFELD, 1998).

A recente emergência de amostras de *A. baumannii* MR para muitas classes de antibióticos tem sido atribuída a sua rápida habilidade em acumular mecanismos de resistência. Ilhas com resistência antibiótica para mais de 40 genes foram identificados (FOURNIER *et al*, 2006). Mecanismos combinados de resistência bacteriana são frequentemente encontrados e identificados como um dos causadores de multirresistência disseminada na espécie (BONOMO e SZABO, 2006).

Vallenet *et al* (2008) seqüenciaram o genoma de 3 cepas diferentes de *Acinetobacter*, sendo duas da espécie *A. baumannii*, isoladas de humanos, uma multirresistente (MR) e outra multisensível. Neste estudo, foi demonstrado que a cepa MR apresentava uma ilha de resistência (86kb), onde se localizavam 45 dos 52 genes de resistência identificados. Dentro desta região foram identificados 88 sequências abertas de leitura (open reading frames), das quais 82 foram relacionadas à outras bactérias. Muitos elementos genéticos móveis (integrons, transposons e sequências de inserção) foram identificados nesta região, não sendo encontrada na cepa multisensível (VALLENET *et al*, 2008).

No gênero *Acinetobacter* spp. resistência específica aos carbapenêmicos está relacionada à perda de porinas, mas de forma mais significativa, à produção de β -lactamases da classe B (metalo- β -lactamases) e da classe D (OXA-carbapenemases) (POIREL e NORDMANN, 2006).

Resistência aos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos atuam inibindo a última etapa da síntese de peptidoglicano por inibição da transpeptidase. Além disso, as proteínas de ligação da penicilina (PBP) participam na síntese do peptidoglicano e no processo de divisão celular (CHAMBERS e SANDE, 1996). Para ter ação antimicrobiana, os β -lactâmicos precisam penetrar na parede celular e se ligar às PBPs. Esse processo é difícil em *A. baumannii*, pois a parede celular apresenta uma camada de lipopolissacarídeos ancorada na membrana externa que também dificulta a penetração de fármacos hidrofílicos e também porque *A. baumannii* carece das porinas de alta permeabilidade que permitem que o fármaco penetre na célula. Por esse motivo, apenas alguns β -lactâmicos específicos apresentam atividade contra *A. baumannii*.

Os principais tipos de resistência aos β -lactâmicos são: (a) hidrólise por β -lactamases, (b) alteração nas proteínas de membrana externa (OMPs) (porinas) e proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) e (c) aumento na atividade das bombas de efluxo (PEREZ *et al*, 2007; POIREL, NORDMANN, 2006; VILA, MARTI, SÁNCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

B-lactamases

Pela classificação de Ambler (1980), as β -lactamases são divididas em quatro classes distintas, com base na estrutura molecular e de acordo com a sequência de aminoácidos. A classe A pertence ao grupo das penicilinase e carbenicilinase (serino e β lactamase de espectro estendido - ESBL); a classe B engloba as metalo β lactamases (MBL); a classe C é a referente às cefalosporinases cromossomais (AmpC) e a classe D, pertencente às oxacilinas, derivadas das serino β lactamases. A resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* spp. pode ser conferida pela classe B de Ambler, classe D ou por mecanismos β -lactamases independentes (COELHO *et al*, 2004).

Cefalosporinases cromossomais (AmpC) são comuns em todas as amostras de *A. baumannii* (CORVEC *et al*, 2003). Essas enzimas hidrolisam penicilinas bem como todas as cefalosporinas de amplo e estreito espectro. É de origem cromossomal cuja expressão é regulada pela sequência promotora denominada ISAb_a1 (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008).

Algumas variantes de β -lactamases de Espectro Ampliado (ESBL) têm sido relatadas em *A. baumannii* (ZAVASCKI *et al*, 2010), no entanto a detecção fenotípica laboratorial é difícil devido à presença de outros mecanismos que interferem nos testes de ESBL (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008).

As metalo-beta-lactamases (MBL) são enzimas caracterizadas por possuírem um sítio catalítico que é dependente de cátions divalentes. O zinco é o principal cofator utilizado por essas enzimas, sendo quelado por EDTA e compostos derivados do tiol. Assim, essa classe de enzimas é inibida por quelantes e não é afetada pelos inibidores convencionais de β -lactamases, como tazobactam e sulbactam (QUEENAN e BUSH, 2007). Atuam, preferencialmente, sobre os carbapenêmicos, mas também possuem afinidade por cefalosporinas e penicilinas e não são ativas contra os monobactâmicos (LIVERMORE e WOODFORD, 2000). Até o momento, foram identificadas seis diferentes famílias dessas enzimas móveis: IMP (imipenemase), VIM (Verona imipenemase), SPM (São Paulo metalo- β -lactamase), GIM (Germany imipenemase), SIM (Seoul imipenemase), AIM (Australian imipenemase) e KHM (Kyorin Hospital metalo- β -lactamase), sendo as duas primeiras mais prevalentes (MALTEZOU, 2009 e SEKIGUCHI *et al*, 2008).

A primeira MBL móvel foi do tipo IMP, descrita no Japão em 1991 em *P. aeruginosa* (WATANABE *et al*, 1991) e, posteriormente, em Hong Kong, entretanto VIM-2 foi descrita pela primeira vez em Verona, na Itália, em 1997 (LAURETTI *et al*, 1999). Outras famílias de MBL foram identificadas posteriormente: SPM-1 no Brasil (TOLEMAN *et al*, 2002), GIM-1 na Alemanha (CASTANHEIRA *et al*, 2004), SIM-1 em Seoul (LEE *et al*, 2005), AIM na Austrália (YONG *et al*, 2007) e KHM no Japão (SEKIGUCHI *et al*, 2008). Muitas MBL são encontradas em integrons classe 1 que são parte dos transposons (PEREZ *et al*, 2007).

As oxacilinas, β -lactamases classe D, que inativam carbapenêmicos foram reportados em *A. baumannii* e formam o grupo de maior prevalência de famílias gênicas de β -lactamases codificadas por plasmídeos desde o início dos anos 1980 (BROWN e AMYES, 2006; POURNARAS, MARKOGIANNAKIS e IKONOMIDIS, 2006).

As oxacilinas são fracamente inibidas por ácido clavulânico e EDTA e são conhecidas por sua ampla variabilidade na sequência de aminoácidos (BUSH, JACOBS e MEDEIROS, 1995). Essas enzimas geralmente hidrolisam oxacilina com mais eficiência do que benzilpenicilina. Além disso, também hidrolisam amoxacilina, metilicina, cefaloridina e cefalotina. A atividade de carbapenemase parece ser uma propriedade intrínseca de algumas oxacilinas que não são derivadas de mutações pontuais. Estudos mostram que oxacilinas hidrolisantes de carbapenêmicos (CHDLs) são satisfatoriamente inibidas por NaCl (POIREL e NORDMANN, 2006).

A primeira descrição foi de OXA-23, inicialmente chamada de ARI-1 (*Acinetobacter* resistente ao imipenem), que foi isolada na Escócia em 1985 (PATON *et al*, 1993).

Oxacilinasas são codificadas por genes da família bla_{OXA}. Carbapenemases do tipo OXA tem emergido globalmente como os principais responsáveis pela resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* spp. (CARVALHO *et al*, 2009).

No Brasil, a primeira descrição de OXA-23 em *A. baumannii* foi em 2003 relacionada a um surto na cidade de Curitiba (DALLA-COSTA *et al*, 2003). Após esse relato, o segundo foi em 2009 quando foi descrita a disseminação de diferentes clones produtores de OXA-23 no Rio de Janeiro (CARVALHO *et al*, 2009). Também, em 2009, foi publicada a identificação dessa enzima em Porto Alegre e demonstrou a transmissão de um clone de CRAB entre profissionais de saúde, equipamentos médicos e pacientes (MARTINS *et al*, 2009). Girlich, Poirel e Nordmann (2010) identificaram este gene em um isolado de *A. baumannii* do ambiente.

A tabela 1 mostra os subgrupos de carbapenemases da família oxacilinase.

Tabela 01: Subgrupos de carbapenemases da família OXA de β -lactamases.

Grupo	Subfamília enzimática	Membros OXA adicionais
1	OXA-23 (ARI-1)	OXA-27, OXA-49, OXA-73, OXA-102, OXA-103, OXA-105, OXA-133 e OXA-134
2	OXA-24 (OXA-40)	OXA-25, OXA-26, OXA-33 e OXA-72
3	OXA-51	OXA-64, OXA-65, OXA-66, OXA-67, OXA-68, OXA-69, OXA-70, OXA-71, OXA-75, OXA-76, OXA-77, OXA-78, OXA-79, OXA-80, OXA-82, OXA-83, OXA-84, OXA-86, OXA-87, OXA-88, OXA-89, OXA-90, OXA-91, OXA-92, OXA-93, OXA-94, OXA-95, OXA-104, OXA-106, OXA-107, OXA-108, OXA-109, OXA-110, OXA-111, OXA-112, OXA-113, OXA-115, OXA-116, OXA-117, OXA-130, OXA-131 e OXA-132
4	OXA-58	OXA-96 e OXA-97
5	OXA-55	OXA-SHV
6	OXA-48	OXA-54 e OXA-SAR2
7	OXA-50	OXA-50a, OXA-50b, OXA-50c, OXA-50d e PoxB
8	OXA-60	OXA-60a, OXA-60b, OXA-60c, OXA-60d

9	OXA-62	Nenhum
10	OXA-143	Nenhum

Adaptado de Queenan e Bush, 2007 e Poirel, Naas e Nordmann, 2010

Desses grupos, cinco já foram descritos em isolados de *Acinetobacter* sp., como produtores de carbapenemases: OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58 e OXA-143. Estudos mostram uma forte relação entre a presença do gene bla_{OXA-51} em isolados de *Acinetobacter baumannii*, sugerindo que este gene poderia atuar como marcador molecular da espécie, uma vez que este é um gene intrínseco a ela (TURTON et al, 2006(b)), tornando a espécie um reservatório desse gene de β -lactamase no ambiente (FEIZABADI et al, 2008).

Mudanças na OMPs e PBPs

Modificações na permeabilidade da membrana externa de *Acinetobacter* spp. têm sido associada com a resistência aos β -lactâmicos (VILA, MARTI e SANCHEZ-CESPEDES, 2007; BÓU et al, 2000 e QUALE et al, 2003). A bicamada lipídica da membrana externa dos Gram-negativos é impermeável a compostos hidrofóbicos tais como os carbapenêmicos. Por esse motivo, canais protéicos transportadores, denominados porinas de membrana externa (OMP) são necessários para que estes fármacos consigam atravessar a bicamada lipídica.

Alterações na estrutura molecular das porinas ou na expressão genética são mecanismos importantes das BGN para se protegerem contra a ação dos carbapenêmicos (VILA, MARTI e SANCHEZ-CESPEDES, 2007).

Muitos surtos de infecção causada por *A. baumannii* resistente ao imipenem foi devido a perda de porina (PEREZ et al, 2007 e VAN LOOVEREN e GOOSENS, 2004). Quale e colaboradores (2003) mostraram que isolados de *A. baumannii* resistente ao imipenem tinham expressão reduzida das OMPs 47, 44 e 37 KDa mais aumento da expressão de AmpC. Similarmente, em isolados de Madri (Espanha), perda das OMPs de 22 e 33 kDa combinadas com a produção de OXA-24 resultou em resistência aos carbapenêmicos. Expressão reduzida de PBP2, como descrito em isolados na Sevilha (Espanha), explica a resistência do *A. baumannii* a carbapenêmicos (BÓU et al, 2000).

A estrutura CarO têm sido associada a resistência aos carbapenêmicos em cepas de *A. baumannii*, apesar de não possuir sítio de ligação específico para imipenem e meropenem (SIROY et al, 2005).

Bombas de efluxo

As bombas de efluxo, presentes em todas as células, são responsáveis pelo transporte de compostos orgânicos tóxicos, para fora da célula (VILA, MARTI e SANCHEZ-CESPEDES, 2007). As BGN apresentam baixa permeabilidade da membrana externa e, por isso, quando os sistemas ativos de efluxo estão presentes, o antimicrobiano terá dificuldade para penetrar através da membrana externa, depois de ter sido expulso da célula (VILA, MARTI e SANCHEZ-CESPEDES, 2007).

A bomba de efluxo AdeABC foi bem caracterizada em *A. baumannii* (MAGNET, COURVALIN e LAMBERT; 2001). Ela bombeia aminoglicosídeos, cefotaxima, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, trimetropim e fluorquinolona, no entanto a super expressão em conjunto com oxacilinase hidrolisando carbapenêmico pode conferir alta taxa de resistência aos carbapenêmicos (MAGNET, COURVALIN e LAMBERT; 2001). Outra bomba de efluxo multidroga, AbeM, foi identificada. Entretanto, seu espectro é limitado a fluorquinolonas (SU *et al*, 2005).

Sequências de inserção IS*Aba*

As sequências de inserção (IS) são os menores e mais abundantes elementos de transposição presentes no genoma bacteriano capazes de realizar transposição independente (MUGNIER, POIREL e NORDNANN, 2009). Sua ação no aumento da resistência consiste no fato de poderem conter regiões promotoras que aumentam a expressão de genes de resistência localizados posteriormente no genoma (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008).

Várias sequências têm sido descritas em *Acinetobacter*, cada uma associada com genes específicos. São denominadas IS*Aba*, sendo conhecidas como IS*Aba*1, IS*Aba*2, IS*Aba*3 e IS*Aba*4. Certos elementos como IS*Aba*1 parecem estar relacionados somente a espécie *A. baumannii* (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008).

As oxacilinas dos grupos OXA-23, OXA-58 e OXA-51 com frequência possuem associação com esses elementos de inserção. OXA-23 é a mais comum e frequentemente possuem elementos do tipo IS*Aba*1 e IS*Aba*4, enquanto o grupo OXA-58 já foi descrito associado com IS*Aba*1, IS*Aba*2, IS*Aba*3 e IS18 (POIREL, NAAS e NORDAMANN, 2010). Já a OXA-51 tem associação com IS*Aba*1 e IS*Aba*9 (FIGUEIREDO *et al*, 2009).

Desse modo, a resistência aos carbapenêmicos pode não ser inferida pela detecção de genes bla_{OXA-51}, mas sim, pela detecção deste em associação à tais elementos de inserção. Em contrapartida, a detecção de alelos genéticos que codificam enzimas do tipo OXA-23, OXA-

24 e OXA-58 estão associados com, ao menos, a diminuição da susceptibilidade aos carbapenêmicos (WOODFORD *et al*, 2006).

Make e colaboradores (2006) investigaram a presença de diferentes determinantes de resistência em isolados nosocomiais de *A. baumannii* MR. O estudo analisou amostras provenientes de dois hospitais na Austrália e relacionaram a resistência aos carbapenêmicos à presença do gene *bla_{oxa-23}* associado ao elemento promotor *ISAb₁*. A resistência às cefalosporinas foi associada à expressão de AmpC (também associada ao elemento *ISAb₁*).

Resistência a polimixinas

As polimixinas são uma importante alternativa terapêutica para as infecções causadas por CRAB (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008). Devido ao aumento do seu uso, os relatos de resistência cresceram. Poucos estudos têm demonstrado esse fenômeno em *A. baumannii* e provavelmente está associado à baixa afinidade de ligação ao LPS, como visto em outros BGN (PELEG, SEIFERT e PATERSON, 2008).

2. JUSTIFICATIVA

As infecções hospitalares apresentam grande importância no fator morbidade, mortalidade e custos dos pacientes internados em hospitais de nível terciário, bem como poucos trabalhos com informações epidemiológicas e microbiológicas em nosso país e uma grande necessidade de políticas de saúde para controle de antibióticos. Tal gênero, por estar presente nos mais diversificados ambientes, é capaz de albergar genes que causam resistência e disseminá-los através de elementos móveis presentes em seu genoma. Sabemos que a rápida disseminação de genes de resistência tem contribuído para agravar a situação e que a identificação de fenótipos e genótipos de resistência pode ajudar a evitar essa propagação e diminuir os custos com internação.

Durante a última década, o tratamento dessas infecções tem se tornado crítico, em função do surgimento de cepas multirresistentes cuja disseminação tem sido associada à contaminação de equipamentos hospitalares (respiradores, ar-condicionado, equipamentos para diagnóstico por imagem) e/ou através das mãos colonizadas da equipe assistencial. A emergência da resistência aos carbapenêmicos tem limitado o tratamento ao uso de polimixinas como principal opção terapêutica.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Determinar a incidência de *Acinetobacter baumannii* em pacientes infectados no HC-UFU e no ambiente da UTI de adultos do HC-UFU, caracterizando-os fenotipicamente e genotipicamente, no período de agosto de 2009 a outubro de 2010.

3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Para as amostras provenientes de pacientes infectados e internados no HC-UFU

- ✓ Avaliar a epidemiologia de *Acinetobacter baumannii* em relação aos fatores de risco para infecção;
- ✓ Avaliar o perfil de susceptibilidade do *Acinetobacter baumannii* aos antimicrobianos e avaliar a frequência de amostras multirresistentes e pan-resistentes;
- ✓ Avaliar a taxa de mortalidade total dos pacientes infectados por cepas multirresistentes e não multirresistentes no prazo de 30 dias após a infecção por *Acinetobacter baumannii*;
- ✓ Determinar fenotipicamente as beta-lactamases de classe A e B de *Acinetobacter baumannii* para as amostras provenientes de infecção através do Teste de Sinergismo Duplo Disco com EDTA e Teste de Hodge;
- ✓ Determinar a presença dos genes bla_{IMP-1}, bla_{VIM-2}, bla_{SIM}, bla_{SPM-1} e bla_{GIM} em *Acinetobacter baumannii* por PCR das amostras provenientes de infecção;
- ✓ Determinar a presença dos genes bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143} em *Acinetobacter baumannii* por PCR das amostras provenientes de infecção;

3.2.2 Para as amostras do ambiente da UTI adulta do HC-UFU

- ✓ Verificar a contaminação de superfícies por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes a partir dos pacientes infectados e internados na UTI adulto antes e após a limpeza;
- ✓ Determinar a presença dos genes bla_{IMP-1}, bla_{VIM-2}, bla_{SIM}, bla_{SPM-1} e bla_{GIM} em *Acinetobacter baumannii* isolados de ambiente na UTI adulta do HC-UFU;
- ✓ Determinar a presença dos genes bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143} em *Acinetobacter baumannii* isolados de ambiente na UTI adulta do HC-UFU.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), complexo hospitalar público, universitário, de assistência terciária e com capacidade para 530 leitos. É um hospital de referência para uma população de 81 municípios das regiões do Triângulo Mineiro, Alto Paranaíba e sul de Goiás. Possui clínicas de várias especialidades. A Unidade de Terapia intensiva (UTI) mista de adultos é clínico-cirúrgica e no momento do estudo apresentava 15 leitos.

4.2 Desenho de estudo

No período de agosto de 2009 a outubro de 2010 foi realizado um estudo prospectivo longitudinal, com busca de casos de infecção por *Acinetobacter baumannii*. Adicionalmente, foi feito também um estudo caso-controle, sendo para a avaliação dos fatores de risco associados à infecção por *Acinetobacter baumannii*, com os casos sendo pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii* multirresistente e os controles aqueles com infecção por *Acinetobacter baumannii* não-multirresistente. Foi preenchida uma ficha individual contendo os seguintes dados de cada paciente: idade, gênero, diagnóstico de admissão, procedimentos invasivos, uso prévio de antimicrobianos e corticóides, tempo de internação (Anexo 1). Foi ainda realizada a vigilância ativa de todos os pacientes da UTI e de todos os que apresentaram infecção, nesse período, por *Acinetobacter baumannii* coletou-se material do ambiente antes e após a limpeza para verificar a contaminação de superfície por *Acinetobacter baumannii*. A mortalidade total hospitalar foi avaliada no prazo de 30 dias após o diagnóstico de infecção por *Acinetobacter baumannii*.

4.3 Definições

Multirresistência (MR): foi definida quando a bactéria apresentou resistência a três ou mais classes diferentes de antimicrobianos (DEPUYDT *et al*, 2008). A sensibilidade/resistência foi interpretada de acordo com os critérios do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).

Mortalidade total (hospitalar): relação entre o número de óbitos de pacientes com infecção microbiana durante a internação hospitalar, independentemente da causa, considerando até 30 dias após o diagnóstico microbiológico da infecção.

Terapia antimicrobiana prévia: foi definido quando houve uso de antimicrobianos dentro de um período de 14 dias anteriores ao isolamento do micro-organismo.

4.4 Amostras provenientes de ambiente hospitalar (UTI – HC - UFU)

4.4.1 Seleção dos pacientes

Durante a vigilância de incidência de infecções por *Acinetobacter baumannii* no laboratório de microbiologia do HC-UFU foram identificados os pacientes internados no período de agosto de 2009 a outubro de 2010, na UTI de adultos com infecção por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. A amostragem ambiental foi realizada no quarto desses pacientes com infecção por *A. baumannii* e as coletas realizadas antes e após a limpeza de rotina da unidade, totalizando seis coletas por paciente, sendo a metade (três) antes e as demais após a limpeza do local.

4.4.2 Locais de coleta

- Categoria 1 – Superfícies próximas ao paciente onde as mãos dos profissionais de saúde entram em contato (grade da cama).
- Categoria 2 – Superfícies localizadas até um metro do paciente (mesa de cabeceira).
- Categoria 3 – Superfícies distantes (maior que 1m) do paciente (maçaneta da porta).

4.4.3 Técnica de coleta (“Wipe-rinse”) de ambiente

Método qualitativo para amostragem de grandes áreas por meio de gazes pré-umidificadas esteréis (7 x 7 cm). A gaze foi removida cuidadosamente de um tubo umidificada com solução salina estéril, e pressionada sobre a superfície utilizando movimento circular. A gaze foi colocada em um frasco estéril contendo 10-15 mL de TSB seguindo-se de agitação por 20-30 segundos em Vortex e incubação “overnight” a 37°C (AL-HAMAD; MAXWELL, 2008).

4.4.4. Técnicas microbiológicas

4.4.4.1 Cultivo primário

A partir do crescimento em TSB, a suspensão resultante foi inoculada em Agar Mac Conkey, pela técnica de esgotamento, seguido de incubação a 37°C por 24 horas (KONEMAN *et al.*, 2001).

4.4.4.2 Provas de identificação

As colônias foram caracterizadas como *Acinetobacter* spp. pelos seguintes testes: reação de citocromo-oxidase, oxidação e fermentação da glicose pelo teste de OF, motilidade, atividade de diidrólise de arginina, descarboxilação da lisina, produção de DNase e produção de pigmento. Como controles foram utilizados a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 (KONEMAN *et al.*, 2001). Após identificação prévia as amostras foram submetidas ao PCR para identificação de gene intrínseco ao gênero *Acinetobacter*, bla_{OXA-51}.

4.4.4.3 Teste de sensibilidade

A susceptibilidade dos isolados de *Acinetobacter* spp. foi determinada pelo método de disco difusão. As amostras estocadas foram subcultivadas em Agar TSA pela técnica de esgotamento e incubadas a 37°C por 24 horas. Cerca de 3 a 5 colônias representativas foram semeadas em 5mL de caldo TSB. A suspensão foi incubada a 37°C até atingir uma turvação equivalente à escala 0,5 de McFarland e semeada em placa de Agar Müeller-Hinton com auxílio de “swab” de modo a obter crescimento confluyente. Os discos com antimicrobianos foram aplicados sobre a superfície das placas seguindo-se de incubação a 37°C por 24 horas (CLSI, 2010). Os seguintes antimicrobianos foram utilizados: ampicilina-sulbactam, aztreonam, ceftazidima, cefepima, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, piperacilina-tazobactam, colistina, sulfametoxazol-trimetropim, tigeciclina. Pela inexistência de dados sobre tigeciclina para *Acinetobacter* spp., foram usados os pontos de corte propostos pelo Food and Drug Administration (FDA) listados para Enterobacteriaceae (≤ 2 , 4 e 8 µg/mL para amostras susceptíveis, intermediárias e resistentes, respectivamente). Como amostra padrão foi utilizada a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

4.5 Amostras provenientes de pacientes internados no HC-UFU

4.5.1 Seleção dos pacientes

Foram incluídos no estudo todos os pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii* internados no HC-UFU no período de agosto de 2009 a outubro de 2010.

4.5.2 Seleção das amostras de *Acinetobacter baumannii*

Durante a vigilância de incidência de infecções por *Acinetobacter baumannii* no laboratório de microbiologia do HC-UFU foram identificados os pacientes internados no período de agosto de 2009 a outubro de 2010 com infecções por esse micro-organismo e, obtiveram-se amostras que foram armazenadas para realização dos testes fenotípicos e genotípicos de resistência bacteriana.

4.5.3 Armazenamento das bactérias

Após a identificação e confirmação de espécie/gênero, colônias com 24 horas de crescimento em Agar TSA foram transferidas para caldo BHI acrescido de 15% de glicerol e estocadas a -80°C no Laboratório de Microbiologia da UFU.

A fim de permitir o isolamento de colônias puras e viáveis para os experimentos subsequentes, alíquotas das culturas estocadas foram cultivadas novamente em BHI, incubadas a 37°C, durante 18-24 horas e transferidas para Agar Mac Conkey, antes de serem submetidas aos experimentos.

4.5.4 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Para os isolados clínicos foi realizada a diluição em gel (MIC) de acordo com os critérios recomendados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).

A susceptibilidade pelo método de diluição em gel (MIC) foi determinada através do VITEK® (bioMérieux). As culturas testes foram suspensas em solução salina 0,45% com objetivo de obter uma solução com turbidez compatível com a escala de 0,50 a 0,63 de McFarland e em seguida, diluídas conforme as recomendações do fabricante. Os cartões foram inseridos no aparelho e automaticamente preenchidos com as suspensões bacterianas. No cartão, os antimicrobianos são encontrados em duas a quatro concentrações diferentes.

Cada poço com o antibiótico teste é avaliado automaticamente a cada 15 minutos durante 18 horas de maneira a gerar uma curva de crescimento e, por comparação, com um controle, o MIC (do inglês, “Minimum Inhibitory Concentration”) de cada antibiótico é estimado. Esse cálculo é realizado com um algoritmo específico para cada antimicrobiano independente da espécie do micro-organismo.

Os isolados foram classificados em panresistentes (PAN), multirresistentes (MR) e não-multirresistentes (não-MR) seguindo os critérios utilizados pela maioria dos autores, conforme exposto a seguir.

Para linhagens de *Acinetobacter* spp.:

- Multirresistentes – linhagem resistente à três classes de antimicrobianos: aminoglicosídeos, penicilinas, carbapenêmicos, cefalosporinas, quinolonas, polimixina, ampicilina-sulbactam e tetraciclina.
- Panresistentes – linhagem resistente a todas as classes acima, inclusive à tigeciclina.

4.5.5 Triagem fenotípica de beta-lactamase

Para a triagem inicial das amostras possivelmente produtoras de beta-lactamase, selecionamos todas as amostras resistentes a ceftazidima e/ou carbapenêmicos.

4.5.5.1 Detecção de metalo-beta-lactamase pelo método de Arakawa *et al* (2000) modificado (Teste do duplo disco sinergismo – DDST)

As amostras resistentes a ceftazidima e/ou carbapenêmicos foram submetidas ao teste de sinergismo com duplo disco; como inibidor foi utilizado o ácido-etil-diamino-tetracético (EDTA); e como indicadores discos de imipenem (10µg) e ceftazidima (30µg). As amostras foram subcultivadas em caldo TSB e a suspensão incubada a 37°C até atingir a turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland e em seguida semeadas em placas de Petri contendo Agar Müeller-Hinton de modo a obter um crescimento confluyente. Foram acrescidos discos de ceftazidima(30µg) e imipenem (10µg) distantes 10mm de um disco de papel-filtro esterilizado contendo 8µL de EDTA 5M. Após a incubação a 37°C, por 24 horas a determinação de um aumento na zona de inibição ou a presença de um halo de inibição em torno do disco de ceftazidima e/ou imipenem caracterizou o teste como positivo para a presença de metalo-β-lactamase. Como cepas controle foram utilizadas *P. aeruginosa* ATCC 27853 (controle negativo) e *P. aeruginosa* P-319 (controle positivo).

4.5.5.2 Detecção de carbapenemases pelo Método de Hodge Modificado (LEE *et al*, 2001)

Uma suspensão bacteriana de *E. coli* ATCC 25922 foi preparada a partir de uma placa com crescimento bacteriano de 18 a 24 horas, na escala de 0,5 McFarland e comparado com uma escala de turvação padrão e depois essa solução foi diluída na escala 1:10. *E. coli* foi semeada em Agar Müeller-Hinton, conforme documento do CLSI (M7-A5, 2002). O procedimento foi igual aquele realizado no método de difusão do disco. Após uma breve secagem (3 a 10 minutos) um disco de imipenem de 10µg foi inserido no centro da placa. A partir desse disco, foi realizado uma linha até a periferia da placa com um inóculo grosseiro (3 a 5 colônias) de uma cultura de crescimento em Agar sangue com tempo de incubação de 18 a 24 horas do isolado a ser testado. As placas foram incubadas a 35°C, por 24 horas, em posição invertida (lado do Agar para cima). Após a incubação, foi analisado o crescimento da cepa padrão *E. coli* ATCC 25922 na proximidade do isolado testado. A presença de um aumento de crescimento do isolado padrão próximo ao isolado testado indica positividade na produção de carbapenemase. A ausência desse aumento de crescimento indica uma negatividade do teste.

4.5.6 Análise Molecular

4.5.6.1 Extração do DNA

Foi realizada de acordo com o método descrito por Jin e colaboradores (2009), com pequenas modificações. Amostras de *A. baumannii* foram cultivadas *overnight*, a 37° C, em ágar TSA e 5 a 6 colônias foram transferidas para tubos *ependorf* com 500mL de água ultrapura e então passadas em agitador tipo Vortex. A suspensão resultante foi então fervida a 99° C por 10min no termociclador *Eppendorf Mastercycler*, o sobrenadante com DNA extraído transferido para outro tubo, quantificado por espectrofotometria e conservado a -20° C até a utilização.

4.5.6.2 Reação de amplificação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de genes de resistência

Utilizou-se o método de multiplex PCR descrito por Woodford e colaboradores (2006) e Higgins, Lehmann e Seifert (2010). Foram utilizados os *primers* relacionados na tabela 02.

A reação de PCR foi preparada para um volume final de 25µL utilizando os seguintes reagentes: 14,25µL de H₂O; 2,5µL de tampão de PCR 10X, 0,2mM de dNTP mix; 1,5µL de MgCl₂; 0,25µL de cada primer de oxacilinase, 1,25U de DNA polimerase e 1µL de DNA bacteriano. A amplificação foi realizada no *Eppendorf Mastercycler*, sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 94° C por 5min, seguido de 30 ciclos com desnaturação a 94° C por 25s, anelamento a 52° C por 40s, extensão a 72° C por 50s e extensão final a 72° C por 6 min. Após amplificação do DNA, o produto final foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5% 100V por cerca de 40 minutos. O gel foi corado com brometo de etídio (10mg/mL) durante 15 minutos e descorado em água por mais de 15 minutos, para então ser visualizado utilizando o Sistema de Fotodocumentação L-Pix EX (Loccus Biotecnologia).

Tabela 02: Sequência de oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR para detecção dos genes que codificam metalo-beta-lactamases e oxacilinases.

Primer	Sequência 5'-3'	Alvo	Referência
IMP-F	GGA ATA GAG TGG CTT AAT TCT C	bla _{IMP}	Ellington <i>et al</i> , 2007
IMP-R	CCA AAC CAC TAC GTT ATC T		
VIM-F	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A	bla _{VIM}	Ellington <i>et al</i> , 2007
VIM-R	CGA ATG CGC AGC ACC AG		
GIM-F	TCG ACA CAC CTT GGT CTG AA	bla _{GIM}	Ellington <i>et al</i> , 2007
GIM-R	AAC TTC CAA CTT TGC CAT GC		
SPM-F	AAA ATC TGG GTA CGC AAA CG	bla _{SPM}	Ellington <i>et al</i> , 2007
SPM-R	ACA TTA TCC GCT GGA ACA GG		
SIM-F	TAC AAG GGA TTC CGC ATC G	bla _{SIM}	Ellington <i>et al</i> , 2007
SIM-R	TAA TGG CCT GTTCCC ATG TG		
OXA-23F	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA	bla _{OXA-23}	Woodford <i>et al</i> , 2006
OXA-23R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT		
OXA-24F	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA	bla _{OXA-24}	Woodford <i>et al</i> , 2006
OXA-24R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT		
OXA-51F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	bla _{OXA-51}	Woodford <i>et al</i> , 2006
OXA-51R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG		
OXA-58F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	bla _{OXA-58}	Woodford <i>et al</i> , 2006

OXA-58R	CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC		
OXA-143F	TGG CAC TTT CAG CAG TTC CT	bla _{OXA-143}	Woodford <i>et al</i> , 2006
OXA-143R	TAA TCT TGA GGG GGC CAA CC		

4.6 Análise estatística

A análise estatística dos fatores de risco foi realizada utilizando-se o teste do χ^2 para comparação entre os valores quando o n foi maior que 5 e o teste de exato de Fisher quando o n foi menor ou igual a cinco. Os fatores de risco foram comparados individualmente contra uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2). A significância estatística foi definida por um valor de *P* menor que 0,05.

4.7 Aprovação pelo comitê de ética em pesquisa

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia sob o número de protocolo 479/09 (Anexo 2).

5. RESULTADOS

5.1 Estudo epidemiológico

Um total de 73 pacientes desenvolveu infecções por *Acinetobacter baumannii* durante o período de estudo (agosto de 2009 a outubro de 2010). Alguns pacientes tiveram mais de um tipo de infecção, totalizando 84 amostras isoladas de *Acinetobacter baumannii*. Destas 84 amostras, 30% apresentaram-se não multirresistentes, 59% multirresistentes e 11% pan-resistentes.

Foi possível realizar a detecção dos genes de resistência em 72 amostras (84,7%). Um total de 55 amostras (76%) apresentou algum gene pesquisado, sendo que 32(44%) apresentaram somente o gene bla_{OXA-51} e 23 (32%) apresentaram os genes para bla_{OXA-51} e bla_{OXA-23}. Os demais genes pesquisados não foram identificados em qualquer cepa bacteriana isolada nesse estudo.

Foi observada uma taxa de mortalidade hospitalar total de 39,7% entre os casos de pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii* MR.

5.2 Características demográficas, fatores de risco e mortalidade dos pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii*

Durante o período de agosto/2009 a outubro/2010 foi realizado uma vigilância da incidência de infecções por *Acinetobacter baumannii* no laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas da UFU. Neste período, foram detectados 73 pacientes com infecção pelo complexo *A. baumannii*. As características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes incluídos no estudo estão na tabela 03.

Do total de pacientes, a maioria foi do gênero masculino 49 (67,1%), com idade média de 57,8 anos (0-94 anos). Dentre as causas de internação, 49 pacientes (67,1%) foram clínicas, seguido de 17 (23,3%) cirúrgicas. As principais co-morbidades observadas incluíram: nefropatia (30,1%), neoplasia (13,7%) e diabetes mellitus (10,9%). Em relação ao uso de procedimentos invasivos observou-se maior frequência no uso de ventilação mecânica (61,6%), cateter venoso central (60,3%), nutrição parenteral (34,2%) e traqueostomia (34,2%). A média do tempo de internação entre os pacientes foi de 49,5 (1-224) com taxa de mortalidade total de 39,7%. A maioria dos pacientes fez uso prévio de antimicrobianos (58%).

Tabela 03. Características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii* durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Características	Pacientes
	N= 73 (%)
Idade, anos - média (variação)	57,8(0-94)
Gênero masculino	49 (67,1)
T. hospitalização prévia, dias média (variação)	49,5(1-224)
Causa internação	
Clínica	49 (67,1)
Cirúrgica	7 (9,6)
Trauma	17 (23,3)
Presença UTI¹	25 (34,2)
Cirurgia prévia	23 (31,5)
Co-morbidades	
Diabetes Mellitus	8 (10,9)
Nefropatia	22 (30,1)
Neoplasia	10 (13,7)
AIDS ²	2 (2,7)
DPOC ³	2 (2,7)
Procedimentos invasivos	
Uso > 2	47 (64,4)
Cateter Venoso Central	44 (60,3)
Ventilação mecânica	45 (61,6)
Sonda vesical	15 (20,5)
Traqueostomia	25 (34,2)
Colostomia	5 (6,8)
Nutrição parenteral	25 (34,2)
Uso prévio de antimicrobiano	58 (79,4)
Terapia inapropriada	30 (41,1)
Mortalidade total (30 dias após a infecção)	29 (39,7)

¹Unidade de Terapia Intensiva; ²do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*; ³Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

5.3 Prevalência das infecções: material biológico e unidade hospitalar

Foram diagnosticados 84 episódios de infecções nos 73 pacientes. Com a recuperação de *Acinetobacter baumannii* dos seguintes espécimes clínicos: 39,3% em sangue ou ponta de cateter, 32,1% em secreção traqueal, 17,8% urina, 3,6% em secreção de sítio cirúrgico, 1,2% do líquido cefalorraquidiano e 6% em outros espécimes (fragmento de tecido, secreção abdominal, secreção de escaras e líquido ascítico). (Tabela 04)

Tabela 04: Prevalência de *Acinetobacter baumannii* em espécimes clínicos

Infecção por <i>Acinetobacter baumannii</i>	Espécime clínico N=(%)					
	Urina	Secreção traqueal	Sangue ou Ponta de cateter	Secreção de sítio cirúrgico	Líquor ¹	Outros ²
N= 84 (%)	15 (17,8)	27 (32,1)	33 (39,3)	3 (3,6)	1 (1,2)	5 (6)

¹Líquido cefalorraquidiano, ²fragmento de tecido, secreção abdominal, líquido ascítico, secreção de escaras

A prevalência das infecções causadas pelo *Acinetobacter baumannii* foi maior na unidade crítica com 30,9% na UTI mista de adultos seguida de 23,9% na clínica médica, 22,6% no pronto socorro, 21,4% nas clínicas cirúrgicas e 1,2% na pediatria e/ou berçário. (Tabela 05)

Tabela 05: Distribuição dos episódios causados pelo *Acinetobacter baumannii* por clínica de internação.

Clínicas	Infecção por <i>Acinetobacter baumannii</i> N=(%)
Clínica Médica	20 (23,9)
Clínica Cirúrgica (1, 2)	18 (21,4)
UTI ¹	26 (30,9)
Pronto Socorro	19 (22,6)
Pediatria/Berçário	1 (1,2)
TOTAL	84 (100)

¹Unidade de Terapia Intensiva

Observamos que das 84 amostras identificadas como *A. baumannii*, 30% apresentaram-se não-multirresistente, 59% multirresistente e 11% pan-resistente. (Figura 2)

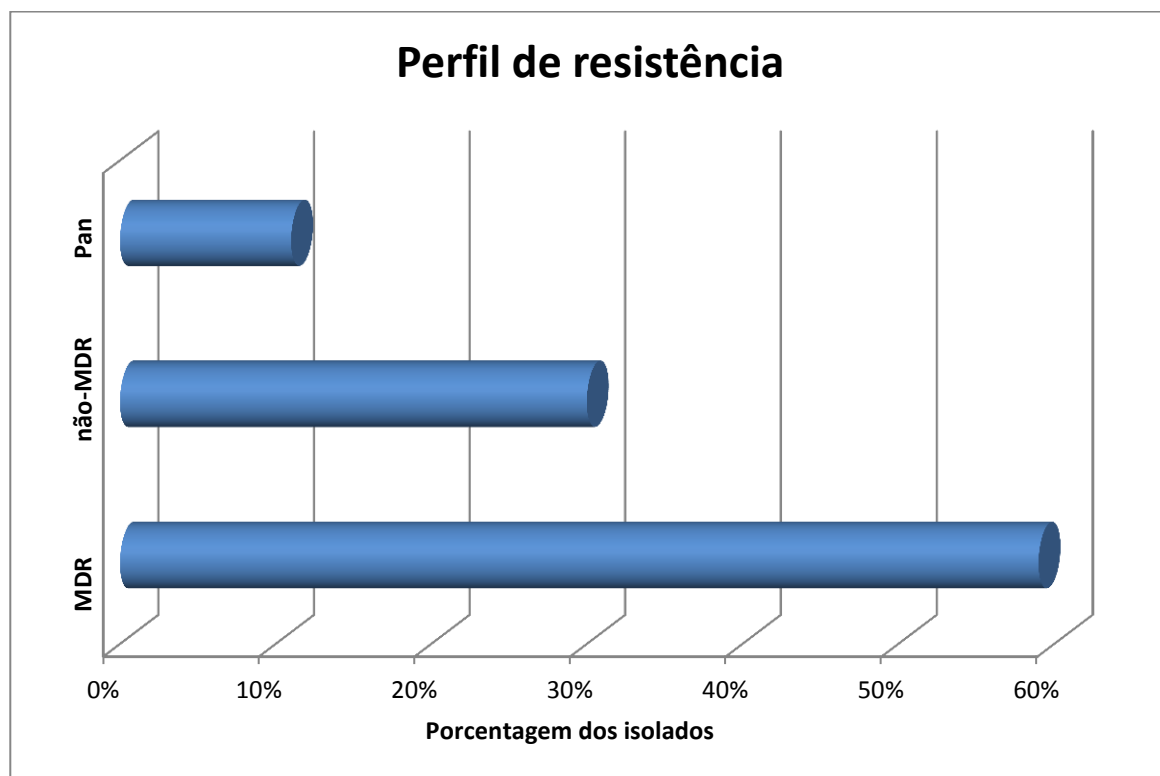


Figura 2: Frequência de amostras multirresistentes, não-multirresistentes e pan-resistentes de *A. baumannii* em pacientes atendidos no HC-UFU.

A presença do fenótipo multirresistência entre os isolados de *Acinetobacter baumannii* foi frequentemente detectados no pulmão (85,2%), seguido de sangue (63%) e trato urinário (60%). (Tabela 07)

Tabela 07: Frequência de resistência entre os isolados de *Acinetobacter baumannii* nas infecções de corrente sanguínea, trato respiratório e trato urinário durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Infecção	<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	MR ¹	não-MR ²	TOTAL
	N= (%)	N= (%)	N= (%)
ICS ³	21 (63,6)	12 (36,4)	33 (100)
ITR ⁴	23 (85,2)	4 (14,8)	27 (100)
ITU ⁵	9 (60)	6 (40)	15 (100)

¹ Multirresistente; ² não Multirresistente; ³ Infecção de corrente sanguínea, ⁴ Infecção do trato respiratório, ⁵ Infecção do trato urinário

A tabela 8 mostra a distribuição das infecções causadas pelo *A. baumannii* multirresistente e não-multirresistente nas diversas unidades do HC-UFU. Nas ICS, 28,6% do *Acinetobacter baumannii* MR estava na clínica médica e 28,6% na clínica cirúrgica, já o *Acinetobacter baumannii* não-MR predominou na UTI (33,3%). Nas ITR, 39,1% do *Acinetobacter baumannii* MR e 100% do *Acinetobacter baumannii* não-MR foram isolados de pacientes da UTI. Nas ITU, 44,4% das infecções por *Acinetobacter baumannii* MR foram isolados de pacientes na clínica cirúrgica enquanto os *Acinetobacter baumannii* não-MR foram isolados predominantemente na clínica médica (33,3%) e pronto socorro (33,3%).

Tabela 08: Distribuição por clínicas de internação entre os pacientes com infecção por *Acinetobacter baumannii* durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Clínicas	ICS ⁴		ITR ⁵		ITU ⁶	
	MR ¹	não-MR ²	MR ¹	não-MR ²	MR ¹	não-MR ²
	N=21(%)	N= 12(%)	N=23(%)	N= 4(%)	N= 9(%)	N= 6(%)
Clínica Médica	6 (28,6)	2 (16,7)	7 (30,4)	0	2 (22,2)	2 (33,3)
Cirúrgica	6 (28,6)	3 (3,6)	1 (4,3)	0	4 (44,4)	1 (16,7)
UTI ³	5 (6)	4 (33,3)	9 (39,1)	4 (100)	1 (11,2)	1 (16,7)
Pronto Socorro	4 (19)	2 (16,7)	6 (26)	0	2 (22,2)	2 (33,3)
Pediatria/Berçário	0	1 (8,3)	0	0	0	0

¹ Multirresistente; ² não Multirresistente; ³ Unidade de Terapia Intensiva adultos, ⁴ Infecção de corrente sanguínea, ⁵ Infecção do trato respiratório, ⁶ Infecção do trato urinário

5.5 Análise dos fatores de risco

Para análise dos fatores de risco, os pacientes do grupo caso (pacientes com infecção por *A. baumannii* multirresistente) foram comparados com pacientes do grupo controle (pacientes com infecção por *A. baumannii* não-multirresistente). A análise univariada demonstrou que os fatores associados com infecção por *Acinetobacter baumannii* MR foi a realização de cirurgia prévia, nefropatia, o uso de mais de dois procedimentos invasivos, a necessidade de nutrição parenteral e a terapia inadequada. (Tabela 9)

Tabela 09: Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por *Acinetobacter baumannii* multirresistente durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Características	A.b.-MR ⁴	A.b.-nãoMR ⁵	P ⁶	OR ⁷
	N=49(%)	N=24(%)		(IC-95%) ⁸
Idade, anos - média (variação)	62(18-93)	46(2m-84)		NA ⁹
Gênero masculino	31 (63,3)	17 (70,8)	0,14	0,71(0,22-2,28)
T. hospitalização prévia, dias média (variação)	55(1-224)	36(1-112)		NA ⁹
Presença UTI¹	15 (30,6)	10 (41,7)	0,45	0,62(0,2-1,92)
Cirurgia prévia	15 (30,6)	8 (33,3)	0,00*	0,88(0,28-2,85)
Co-morbidades				
Diabetes Mellitus	5 (10,2)	3 (12,5)	1,00	0,8(0,14-4,71)
Nefropatia	15 (30,6)	7 (29,2)	0,02*	1,07(0,33-3,57)
Neoplasia	8 (16,3)	2 (8,3)	0,48	2,15(0,37-16,1)
AIDS ²	2 (4,1)	0	1,00	Indefinido
DPOC ³	1 (2,1)	1 (4,2)	1,00	0,48(0,01-18,51)
Procedimentos invasivos				
Uso > 2	38 (77,6)	9 (37,5)	0,001*	5,76(1,76-19,4)
Cateter Venoso Central	31 (63,3)	13 (54,2)	0,62	1,46(0,48-4,41)
Ventilação mecânica	32 (65,3)	13 (54,2)	0,50	1,59(0,53-4,85)
Sonda vesical	12 (24,5)	3 (12,5)	0,35	2,27(0,51-11,51)
Traqueostomia	19 (38,8)	6 (25)	0,36	1,9(0,57-6,52)
Colostomia	4 (8,2)	1 (4,2)	1,00	2,04(0,19-50,92)
Nutrição parenteral	17 (34,7)	8 (33,3)	0,02*	1,06(0,34-3,39)
Uso prévio de antimicrobiano	40 (81,3)	18 (75)	0,54	1,48(0,39-5,52)
Terapia inadequada	20 (40,8)	10 (41,7)	0,03*	0,97(0,32-2,92)
Mortalidade (30 dias após a infecção)	21 (42,9)	8 (33,3)	0,28	1,50(0,48-4,72)

¹Unidade de Terapia Intensiva; ²do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*; ³Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, ⁴*Acinetobacter baumannii* multirresistente; ⁵*Acinetobacter baumannii* não multirresistente; ⁶; P≤0,05; ⁷Odds ratio, ⁸Intervalo de Confiança, ⁹ Não aplicável

O risco de morte foi maior para pacientes com idade superior a 60 anos ($P=0,02$), pneumonia por *A. baumannii* multirresistente ($P=0,002$), diabetes mellitus ($P=0,05$), doença renal ($P=0,002$), uso de mais de dois procedimentos invasivos ($P=0,002$) e terapia inapropriada ($P=0,0000032$) através da análise univariada (Tabela 10).

Tabela 10: Análise univariada dos fatores preditores de morte em pacientes com infecção pelo *Acinetobacter baumannii* durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Fatores preditores	Mortalidade/Total (%)	Univariada $P^*(OR)^1$
Idade (anos)		
>=60	21/40	
<60	8/33	0,02*(3,45)
Bacteremia		
MR	12/21	0,62(1,87)
Não-MR	5/12	
Pneumonia		0,002*(Indefinido)
MR	11/23	
Não-MR	0/14	0,06(0,3)
Cirurgia		
Sim	5/23	
Não	24/50	0,05*(5,48)
Diabetes Mellitus		
Sim	6/8	0,002*(5,66)
Não	23/65	
Doença renal		0,29(0,33)
Sim	15/22	
Não	14/51	
Neoplasia		0,002*(0,18)
Sim	2/10	
Não	27/63	0,13(2,4)
Uso de mais de 2 procedimentos invasivos		
Sim	12/47	0,75(1,32)
Não	17/26	
Cateter venoso central		0,82(0,79)
Sim	21/44	
Não	8/29	0,74(0,70)

Ventilação mecânica

Sim	19/45
Não	10/28

Nutrição parenteral

Sim	9/25
Não	20/48

Uso prévio de antimicrobianos

Sim	22/58
Não	7/15

Terapia inapropriada

Sim	22/30	
Não	7/43	0,0000032* (14,14)

¹Odds ratio; * $P \leq 0,05$

5.6 Determinação fenotípica das beta-lactamases de classe A e B de *Acinetobacter baumannii*

5.6.1 Teste de sinergismo duplo disco com EDTA

Através da triagem de micro-organismos produtores de metalobetalactamases identificamos 71 amostras (84,5%) resistentes à ceftazidima e/imipenem. Desses 27 (38%) apresentaram teste de sinergismo duplo disco com EDTA positivo (Tabela 11).

Tabela 11: *Acinetobacter baumannii* produtores de metalo- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de pacientes com infecção durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Micro-organismo	Triagem ¹	MBL ²	Resistência N (%)				
	Positiva N (%)	Positivo N (%)					
			ATM ³	Fluorquinolona	AMI ⁴	GEN ⁵	Colistina
<i>Acinetobacter baumannii</i>	71 (84,5)	27 (38)	12	10	3	10	0
N=84 (%)			(70,6)	(58,8)	(17,6)	(58,8)	-

¹ Resistência a ceftazidima e/ou imipenem; ² Metallo- β -lactamase – Teste de sinergismo com duplo disco; ³ Aztreonam; ⁴ Amicacina; ⁵ Gentamicina

5.6.2 Teste de Hodge

Através da triagem de micro-organismos produtores de metalobetalactamases identificamos 71 amostras (84,5%) resistentes à ceftazidima e/imipenem. Dessas, 16 amostras (22,5%) apresentaram teste de Hodge positivo (Tabela 12).

Tabela 12: *Acinetobacter baumannii* produtores de carbapenemases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de pacientes com infecção durante o período de agosto de 2009 a outubro de 2010 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Micro-organismo	Triagem ¹	Carbapenemase ²	Resistência N (%)				
	Positiva N (%)	Positivo N (%)					
			ATM ³	Fluorquinolona	AMI ⁴	GEN ⁵	Colistina
<i>Acinetobacter baumannii</i>	71 (84,5)	16 (22,5)	12	10	3	10	0
N=84 (%)			(70,6)	(58,8)	(17,6)	(58,8)	-

¹ Resistência a ceftazidima e/ou imipenem; ² Carbapenemase – Teste de Hodge; ³ Aztreonam; ⁴ Amicacina; ⁵ Gentamicina

5.5 Determinação genotípica dos mecanismos de resistência para metalobetalactamases e oxacilinases

5.5.1 Determinação dos genes *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{SIM}, *bla*_{SPM-1} e *bla*_{GIM} em *Acinetobacter baumannii* por PCR

Das 84 amostras provenientes de isolados clínicos de pacientes internados no HC-UFU no período estudado; foi possível realizar o PCR em 72 amostras, as outras amostras apresentaram problemas em sua reativação. Das 72 amostras analisadas por PCR, nenhuma amostra apresentou os genes pesquisados. Na figura 3, é possível visualizar no gel de agarose algumas amostras negativas para pesquisa desses genes.

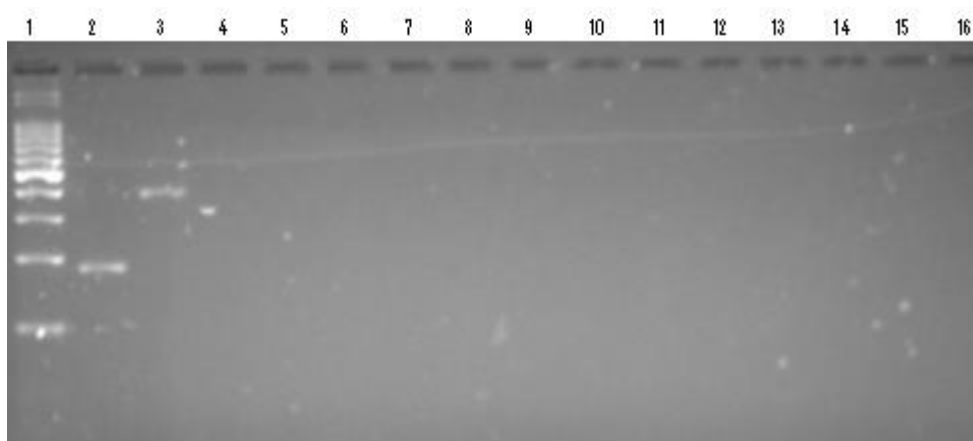


Figura 3: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{SIM}, *bla*_{SPM-1} e *bla*_{GIM}. Ordem das amostras no gel **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para *bla*_{IMP-1}; 3- controle positivo para *bla*_{VIM-2}; 4- Amostra 1; 5- Amostra 3; 6- Amostra 4; 7- Amostra 8; 8- Amostra 9; 9- Amostra 11; 10- Amostra 12; 11- Amostra 14; 12- Amostra 22; 13- Amostra 23; 14- Amostra 25; 15- Amostra 26; 16- Amostra 28.

5.5.2 Determinação dos genes *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} e *bla*_{OXA-143} em *Acinetobacter baumannii* por PCR

Das 84 amostras provenientes de isolados clínicos de pacientes internados no HC-UFU no período estudado; foi possível realizar o PCR em 72 amostras, as outras amostras apresentaram problemas em sua reativação. Das 72 amostras analisadas por PCR, 32 (44%) amostras geraram somente produtos de PCR compatíveis à amplificação do gene *bla*_{OXA-51}; 23 (32%) amostras geraram fragmento correspondente à amplificação dos genes *bla*_{OXA-51} e

bla_{OXA-23} e 17(24%) amostras não apresentaram produtos compatíveis com os genes pesquisados (Figuras de 4 a 8).

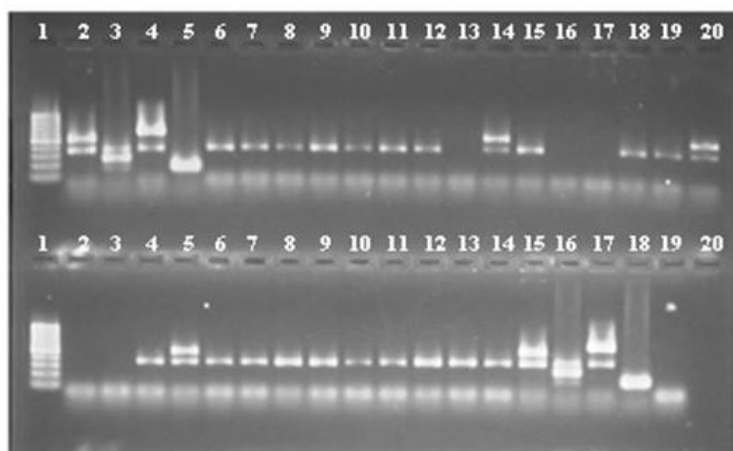


Figura 4: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla_{OXA-23}; bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}.

Ordem das amostras no gel **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para OXA-23 e OXA-51; 3- controle positivo para OXA-24 e OXA-51; 4- controle positivo para OXA-58 e OXA-51; 5- controle positivo para OXA-143; 6- Amostra 4; 7- Amostra 8; 8- Amostra 9; 9- Amostra 11; 10- Amostra 12; 11- Amostra 14; 12- Amostra 22; 13- Amostra 23; 14- Amostra 25; 15- Amostra 26; 16- Amostra 28; 17- Amostra 34; 18- Amostra 41; 19- Amostra 42; 20- Amostra 50. **Pente 2**: 1- peso molecular, 2- Amostra 52; 3- Amostra 54; 4- Amostra 55; 5- Amostra 56; 6- Amostra 57; 7- Amostra 59; 8- Amostra 62; 9- Amostra 67; 10- Amostra 68; 11- Amostra 70; 12- Amostra 73; 13- Amostra 76; 14- Amostra 100; 15- controle positivo para OXA-23 e OXA-51; 16- controle positivo para OXA-24 e OXA-51; 17- controle positivo para OXA-58 e OXA-51; 18- controle positivo para OXA-143; 19- controle negativo; 20- -----.

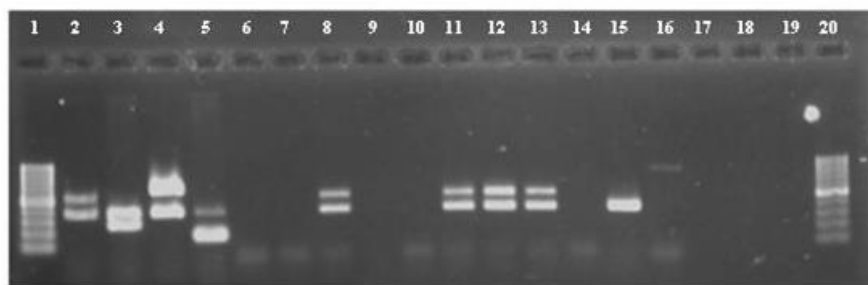


Figura 5: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla_{OXA-23}; bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}. Ordem das amostras no gel **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para OXA-23 e OXA-51; 3- controle positivo para OXA-24 e OXA-51; 4- controle positivo para OXA-58 e OXA-51; 5- controle positivo para OXA-143; 6- Amostra 13; 7- Amostra 18; 8- Amostra 20; 9- Amostra 21; 10- Amostra 32; 11- Amostra 91; 12- Amostra 94; 13- Amostra 95; 14- Amostra 96; 15- Amostra 97; 16- Amostra 98; 17- controle negativo; 18- -----; 19- -----; 20- peso molecular.

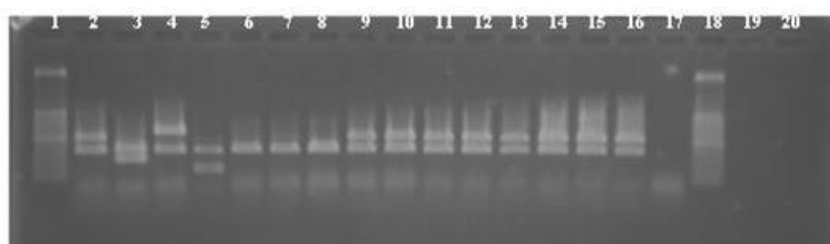


Figura 6: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla_{OXA-23}; bla_{OXA-}

24, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}. Ordem das amostras no gel **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para OXA-23; 3- controle positivo para OXA-24; 4- controle positivo para OXA-58; 5- controle positivo para OXA-143; 6- Amostra 77; 7- Amostra 78; 8- Amostra 80; 9- Amostra 81; 10- Amostra 82; 11- Amostra 83; 12- Amostra 84; 13- Amostra 85; 14- Amostra 86; 15- Amostra 87; 16- Amostra 90; 17- controle negativo; 18- peso molecular; 19- -----; 20- -----.

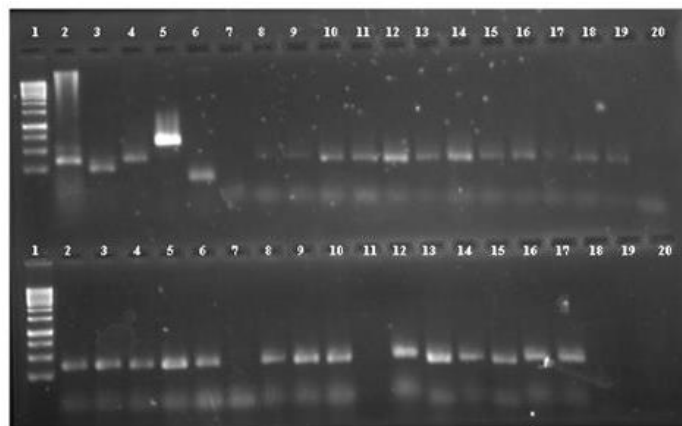


Figura 7: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla_{OXA-23}; bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}. Ordem das amostras no gel **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para OXA-23; 3- controle positivo para OXA-24; 4- controle positivo para OXA-51; 5- controle positivo para OXA-58; 6- controle positivo para OXA-143; 7- Amostra 03; 8- Amostra 07; 9- Amostra 09A; 10- Amostra 19; 11- Amostra 27; 12- Amostra 29; 13- Amostra 30; 14- Amostra 31; 15- Amostra 35; 16- Amostra 37; 17- Amostra 38; 18- Amostra 45; 19- Amostra 46; 20- Amostra 47. **Pente 2**: 1- peso molecular, 2- Amostra 48; 3- Amostra 53; 4- Amostra 58; 5- Amostra 60; 6- Amostra 61; 7- Amostra 63; 8- Amostra 64; 9- Amostra 72; 10- Amostra 77; 11- Amostra 79; 12- Amostra 80; 13- Amostra 81; 14- Amostra 82; 15- Amostra 85; 16- Amostra 87; 17- Amostra 90; 18- controle negativo; 19- -----; 20- -----.

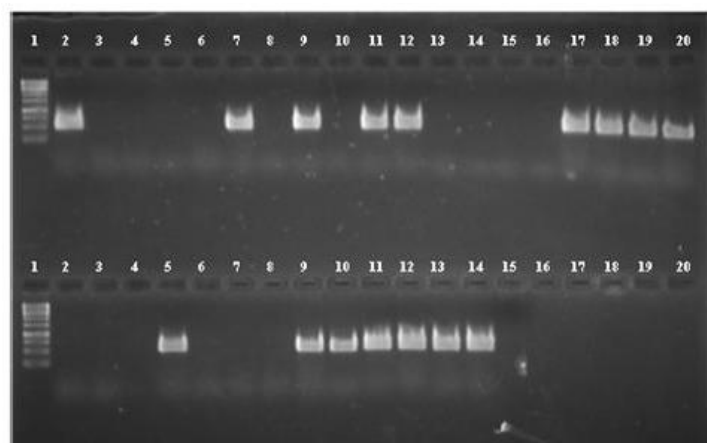


Figura 8: Eletroforese em gel de agarose dos fragmentos dos genes bla_{OXA-23}. **Pente 1**: 1- peso molecular, 2- controle positivo para OXA-23; 3- Amostra 03; 4- Amostra 07; 5- Amostra 09A; 6- Amostra 19; 7- Amostra 27; 8- Amostra 29; 9- Amostra 30; 10- Amostra 31; 11- Amostra 35; 12- Amostra 37; 13- Amostra 38; 14- Amostra 45; 15- Amostra 46; 16- Amostra 47; 17- Amostra 48; 18- Amostra 53; 19- Amostra 58; 20- Amostra 60. **Pente 2**: 1- peso molecular, 2- Amostra 61; 3- Amostra 63; 4- Amostra 64; 5- Amostra 72; 6- Amostra 77; 7- Amostra 78; 8- Amostra 79; 9- Amostra 80; 10- Amostra 81; 11- Amostra 82; 12- Amostra 85; 13- Amostra 87; 14- Amostra 90; 15- controle negativo; 16- -----; 17- -----; 18- -----; 19- -----; 20- -----.

Os fragmentos de PCR compatíveis com os genes pesquisados para oxacilinases de acordo com a resistência ao imipenem estão representados na tabela 13.

Tabela 13: Detecção de bla_{OXA} em 72 amostras clínicas de *Acinetobacter* spp.

Enzimas detectadas por PCR	Número de isolados (n=72)			
	MR(n=50) 69%		Não-MR(n=22) 31%	
	Imipenem-sensível n=30 (41,7%)	Imipenem-resistente n=20 (27,8%)	Imipenem-sensível n=12 (16,7%)	Imipenem-resistente n=10 (13,8%)
OXA-51like	21(29,2%)	5(6,9%)	6 (8,3%)	0
OXA-23like	0	2(2,8%)	1 (1,4%)	0
OXA-51like + OXA-23 like	3(4,2%)	8(11,1%)	3 (4,2%)	9 (12,5%)
OXA-24 like	0	0	0	0
OXA-58 like	0	0	0	0
OXA-143 like	0	0	0	0

5.7 Amostras recuperadas de superfície (unidade crítica adulta - UTI) para pesquisa de *Acinetobacter baumannii*

Foram coletadas 150 amostras, sendo 75 antes e 75 após a limpeza do ambiente dos 25 pacientes internados na unidade de terapia intensiva (UTI) com infecção por *Acinetobacter baumannii* no período de estudo. As taxas de contaminação das categorias de coleta (grade da cama, mesa de cabeceira e maçaneta da porta) antes e após a limpeza são mostradas na tabela 14. A prevalência de *A. baumannii* MR foi de 56% (14/25) antes da limpeza e de 46,2% (6/13) após a limpeza. Todas as amostras 38 (100%) recuperadas de superfície apresentaram o genótipo bla_{OXA-51} e 63% (24/38) apresentaram o genótipo bla_{OXA-23}. Nenhuma amostra apresentou os genes pesquisados (bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58}, bla_{OXA-143}, bla_{IMP-1}, bla_{VIM-2}, bla_{SIM}, bla_{SPM-1} e bla_{GIM}).

Tabela 14: Distribuição das amostras de *Acinetobacter baumannii* multirresistente e não-multirresistente por momento e categoria de coleta das amostras do ambiente dos 25 pacientes internados na UTI com infecção pelo micro-organismo

Local		<i>Acinetobacter baumannii</i>		
		A.b. MR ¹ N=(%)	A. b. não-MR ² N=(%)	TOTAL N=(%)
Antes da Limpeza	Categoria 1 ³	4 (16)	3 (12)	7 (28)
	Categoria 2 ⁴	5 (20)	5 (20)	10 (40)
	Categoria 3 ⁵	5 (20)	3 (12)	8 (32)
TOTAL (Antes da Limpeza)		14 (56)	11 (44)	25 (100)

Após a Limpeza	Categoria 1 ³	3 (23)	2 (15,5)	5 (38,5)
	Categoria 2 ⁴	1 (7,5)	4 (31)	5 (38,5)
	Categoria 3 ⁵	2 (15,5)	1 (7,5)	3 (23)
TOTAL (Após a Limpeza)		6 (46,2)	7 (53,8)	13 (100)

¹ *Acinetobacter baumannii* multirresistente; ² *Acinetobacter baumannii* não-multirresistente; ³ materiais que estejam em contato com o paciente; exemplo - grade da cama; ⁴ materiais que estejam a 1 metro do paciente; exemplo - mesa do quarto; ⁵ materiais distantes do paciente; exemplo – maçaneta da porta.

6. DISCUSSÃO

Este é o primeiro relato documentando a tendência de taxas de prevalência de infecções associadas aos cuidados de saúde causadas por *A. baumannii* MR durante 12 meses na cidade de Uberlândia, Minas Gerais. A maioria dos dados sobre *A. baumannii* referem-se a surtos (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008). Poucos trabalhos estimaram as taxas endêmicas de *A. baumannii* MR em hospitais, fora do período de surto. Essas informações são úteis, pois fornecem evidências adicionais relacionadas ao impacto das medidas implantadas pra erradicar ou reduzir cepas de *A. baumannii* MR.

Em relação aos fatores de risco, observamos através da análise univariada que realização de cirurgia prévia, nefropatia, uso de dois procedimentos invasivos, necessidade de nutrição parenteral e terapia inadequada foram fatores de risco para aquisição de infecção por *A. baumannii* MR. Um trabalho realizado por Royer (2013) no mesmo hospital mostrou através da análise univariada que os fatores de risco para aquisição de pneumonia associada à ventilação mecânica por *A. baumannii* foram trauma como diagnóstico de admissão; e terapia inadequada foi fator de risco independente para o desenvolvimento de pneumonia por essa bactéria.

O risco de morte foi maior para pacientes com idade superior a 60 anos, pneumonia por *A. baumannii* MR, diabetes mellitus, doença renal, uso de mais de dois procedimentos invasivos e terapia inadequada. O uso prévio de antibióticos é o fator de risco mais comum para aquisição de *A. baumannii* MR (FALAGAS; KOPTERIDES; 2006), cuja frequência correspondeu a aproximadamente 75% dos casos em nosso estudo, e os carbapenêmicos, cefalosporinas de terceira geração e/ou fluorquinolonas são antibióticos comumente implicados como fatores de risco para esta aquisição (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

A mortalidade atribuída à infecção por *A. baumannii* não foi significativa quando comparamos pacientes com infecção por *A. baumannii* MR e não-MR e sabemos que a taxa de mortalidade continua controversa (PEREZ *et al*, 2007), isto porque muitos dos estudos utilizaram amostragens pequenas, com diferenças metodológicas que dificultam o pareamento adequado de controle e gravidade da doença (MARAGAKIS; PERL, 2008).

As opções terapêuticas são limitadas no tratamento das infecções por *A. baumannii* e a resistência antimicrobiana deste micro-organismo está associada a vários mecanismos, sendo o principal a produção de β -lactamases, conferida por enzimas da classe molecular D de Ambler (oxacilinases) (WOODFORD; TURTON; LIVERMORE, 2011). Atualmente, os

carbapenêmicos são considerados os antimicrobianos de escolha no tratamento de infecções graves causadas por esse micro-organismo (PEREZ *et al*, 2007). No Brasil e em outros países (GALES *et al*, 2012; WOODFORD; TURTON; LIVERMORE, 2011), entre as amostras resistentes aos carbapenêmicos predominam as produtoras de OXA-23, como evidenciado em nossas amostras resistentes ao imipenem.

Em relação ao perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das amostras clínicas e ambientais de *A. baumannii*, as taxas de resistência foram relativamente semelhantes, embora as amostras de origem clínica mostrem menor susceptibilidade ao imipenem e à ampicilina/sulbactam.

No que se referem à multirresistência, amostras clínicas representaram 70% enquanto as de superfície 52%, indicando a importância do ambiente como reservatório para micro-organismos MR, enfatizando a implementação das boas práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares quanto a limpeza e desinfecção de unidades críticas (WEBER *et al*, 2010). No trabalho de Royer (2013) no mesmo hospital, as taxas de multirresistência representaram 51,85% para amostras de aspirado traqueal e 74,2% para amostras de superfície.

Apesar de a fonte mais importante de *A. baumannii* ser o paciente infectado e/ou colonizado, a disseminação ambiental da bactéria é freqüentemente demonstrada (MARAGAKIS; PERL, 2008), como visto em nosso estudo, com uma contaminação tanto antes quanto após a limpeza, independente da distância até o paciente, questionando a eficácia do serviço de limpeza na UTI. Como o micro-organismo pode sobreviver em ambiente seco e persistir por prolongado tempo (TOWER, 2009), as superfícies podem ser um potencial reservatório de amostras epidêmicas envolvidas em surtos em UTIs, sendo necessário o fechamento e sua desinfecção (DANCER, 2009).

O presente estudo mostrou que 28,6% apresentaram-se resistentes ao imipenem. O número de isolados resistentes aos carbapenêmicos tem aumentado no mundo (FEIZABADI *et al*, 2008 e YANG *et al*, 2009) e a maioria dos trabalhos atribui a essa resistência à produção de β -lactamases (CHUANG *et al*, 2006 e BROWN *et al*, 2005).

Genes para carbapenemases foram identificados em 55/72 (76%), incluindo 32(44%) bla_{OXA-51} e 23 (32%) bla_{OXA-51}/bla_{OXA-23}. Em outros estudos no Brasil, os genes foram identificados em 44 (88%) das amostras, sendo 9 bla_{OXA-51}/bla_{OXA-23}, 5 bla_{IMP} e 38 bla_{OXA-143}. Já no estudo de Martins *et al* (2009), 99% das amostras apresentaram bla_{OXA-23} e 99,6% apresentaram o bla_{OXA-51}.

Nenhum gene para metalobetalactamase pesquisado foi identificado em nossas amostras (bla_{IMP-1} , bla_{VIM-2} , bla_{SIM} , bla_{SPM-1} e bla_{GIM}). Outros estudos mostram resultados diferentes: 11% de bla_{IMP} em amostras isoladas em São Paulo (MOSTACHIO *et al*, 2012).

Acinetobacter tornou-se um problema sério para os hospitais devido sua resistência intrínseca a vários antibióticos e à sua capacidade de acumular mecanismos de resistência (HIGGINS *et al*, 2010). Comparado com outras regiões do mundo, *Acinetobacter* spp. parece ser mais importante no Brasil e América Latina (CARVALHO *et al* 2009; GALES *et al*, 2010). No Brasil, as principais carbapenemases descritas são OXA-23 e IMP-1 (CARVALHO *et al* 2009; GALES *et al*, 2010; CLSI, 2011). As oxacilinases hidrolisam fracamente os carbapenêmicos, comparado às metalobetalactamases, mesmo assim são descritas com maior frequência em *Acinetobacter* conferindo resistência ao imipenem (POURNARAS *et al*, 2006; LEE *et al*, 2001; TENOVER *et al*, 1995; WERNECK *et al*, 2011).

Em nosso estudo, as oxacilinases identificadas foram OXA-51 e OXA-23. Essas enzimas são responsáveis em vários estudos pela diminuição da sensibilidade ao imipenem em *Acinetobacter*, mas comumente devido a superexpressão dessas enzimas estimuladas pela ISAb₁. Nesse trabalho não avaliamos a presença de ISAb₁. É importante avaliar a presença de elementos de inserção, tais como ISAb₁, para saber se a resistência está relacionada a posição desse em relação ao gene bla_{OXA} .

No Brasil, diversos autores identificaram o gene OXA-23 em surtos causados por *Acinetobacter* resistente aos carbapenêmicos (CARVALHO *et al* 2009; GALES *et al*, 2010). No nosso estudo, a presença de bla_{OXA-23} foi somente um mecanismo de resistência associado com baixa susceptibilidade ao imipenem e meropenem.

Recentemente, Higgins *et al* (2010) reportou a identificação de uma nova oxacilinase (OXA-143) em amostras de *A. baumannii* resistentes ao imipenem isoladas no Brasil em 2004. Em nosso estudo, nenhuma amostra apresentou o gene que codifica a OXA-143. Outros estudos mostraram diferentes prevalências: Antônio *et al* (2011) identificou OXA-143 em 70% das amostras; Werneck *et al* (2011) encontrou em 8,4% e Mostachio *et al* (2012) em 76%. Essa discrepância mostra a importância desses estudos para avaliar a distribuição clonal das amostras em hospitais brasileiros.

7. CONCLUSÕES

Para as amostras provenientes de pacientes infectados e internados no HC-UFU

- ✓ Os fatores de risco para infecção por *Acinetobacter baumannii* MR foram: realização de cirurgia prévia, nefropatia, uso de dois procedimentos invasivos, nutrição parenteral e terapia inapropriada.
- ✓ Das 84 amostras isoladas, 30% apresentaram-se não-MR, 59% MR e 11% pan-resistentes.
- ✓ A taxa de mortalidade total dos pacientes infectados por cepas MR foi de 39,7% no prazo de 30 dias após a infecção e não foi significativa quando comparados os grupos: pacientes com infecção por *A. baumannii* MR e pacientes com infecção por *A. baumannii* não-MR
- ✓ Das 84 amostras isoladas, 71 (84,5%) apresentaram-se resistentes a ceftazidima e/ou imipenema.
- ✓ Das cepas analisadas, 27 (38%) apresentaram-se positivas para o teste de duplo disco com EDTA.
- ✓ Das cepas analisadas, 16 (22,5%) apresentaram teste de Hodge positivo.
- ✓ Nenhuma cepa analisada por PCR apresentou os genes bla_{SPM-1}, bla_{SIM}, bla_{GIM}, bla_{VIM-2}, bla_{IMP-1}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}.
- ✓ Das 72 cepas analisadas por PCR, 32 (44%) apresentaram somente o gene bla_{OXA-51} e 23 (32%) apresentaram os genes bla_{OXA-51} e bla_{OXA-23}.

Para as amostras do ambiente da UTI adulta do HC-UFU

- ✓ A prevalência de *Acinetobacter baumannii* MR isolados de superfície de UTI foi de 56% antes da limpeza e de 46,2% após a limpeza.
- ✓ Nenhuma cepa isolada do ambiente de UTI adulta apresentou os genes bla_{SPM-1}, bla_{SIM}, bla_{GIM}, bla_{VIM-2}, bla_{IMP-1}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58} e bla_{OXA-143}.
- ✓ As amostras recuperadas de superfície: 100% apresentaram o gene bla_{OXA-51} e 63% apresentaram o gene bla_{OXA-23}.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBO, A.; CARMELI, Y.; NAVON-VENEZIA, S.; SIEGMAN-IGRA, Y.; SCHWABER, M.J. Impact of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* on clinical outcomes. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.26, n.11, p.793-800, 2007.

ALBRECHT, M.C.; GRIFFITH, M.E.; MURRAY, C.K.; CHUNG, K.K.; HORVATH, E.E.; WARD, J.A.; HOSPENTHAL, D.R.; HOLCOMB, J.B.; WOLF, S.E. Impact of *Acinetobacter* infection on the mortality of burn patients. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 203, n.4, p.546-50, 2006.

AL-HAMAD A.; MAXWELL, S. How clean is clean? Proposed methods for hospital cleaning assessment. **Journal of Hospital Infection**, v.70, n.4, p.328-334, 2008.

ANSTEY NM, CURRIE BJ, HASSELL M, PALMER D, DWYER B, SEIFERT H. Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused in the throat in at risk groups. **J Clin Microbiol**, v.40, n.1, p.685-6, 2002.

ANTONIO, C.S.; NEVES, P.R.; MEDEIROS, M.; MAMIZUKA, E.M.; ELMOR DE ARAÚJO, M.R.; LINCOPAN, N. High prevalence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the bla_{OXA-143} gene in Brazilian hospitals. **Antimicrob Agents Chemother**, v.55, p. 1322-3, 2011.

ARAKAWA, Y; SHIBATA, N.; SHIBAYAMA, K.; KUROKAWA, H.; YAGI, T.; FUGIWARA, H.; GOTO, M. Convenient test for screening metallo- β -lactamase producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. **Journal Clinical of Microbiology**, v. 38, n.1, p.40-43, 2000.

BASSI, G.L.; FERRER, M.; SAUCEDO L.M.; TORRES, A. Do guidelines change outcomes in ventilator-associated pneumonia? **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.23, n.2, p.171-7, 2010.

BERLAU, J.; AUCKEN, H.M.; HOUANG, E.; PITT, T.L. Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.18, n.1., p.179-83, 1999.

BONOMO, R.A.; SZABO, D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. **Clin Infect Dis**, v.43, n.2, p.49-6, 2006.

BÓU, G.; CERVERO, G.; DOMINQUEZ, M.A.; QUEREDA, C.; MARTINEZ-BELTRAN, J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter*

baumannii strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. Baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. **J Clin Microbiol**, v. 38, p. 3299-305, 2000.

BOUVET, P.J.M.; GRIMONT, P.A.D. Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov. *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov. *Acinetobacter johnsonii* sp. nov. and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. **Int J Syst Bacteriol**, v.36, n.2, p. 228-240, 1986.

BROWN, S.; AMYES, S. OXA β -lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. **J Antimicrob Chemother**, v.57, p.1-3, 2006.

British Society for Antimicrobial Chemotherapy. BSAC resistance surveillance website: 2006 bacteremia. <http://www.bsacsurv.org/>

BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob Agents Chemother**, v.9, n.6, p.1211-1233, 1995.

CATALANO, M.; QUELLE, L.S.; JERIC, P.E.; DI MARTINO, A.; MAIMONET, S.M. Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. **J Hosp Infect**, v.42, p. 27-35, 1999.

CARBONNE, A.; NAAS, T.; BLANCKAERT, K.; COUZIGOU, C.; CATTOEN, C.; CHAGNON, J.L. Investigation of a nosocomial outbreak of extended-spectrum β -lactamase VEB-1 producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting. **J. Hosp Infect**, v.60, p.14-8, 2005.

CARVALHO, K.R.; CARVALHO-ASSENF, AP.; PEIRANO, G.; SANTOS, L.C.; PEREIRA, M.J.; ASENSI, M.D. Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying bla_{OXA-23} collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **Int J Antimicrob Agents**, v. 34, n.1, p. 25-28, 2009.

CASTANHEIRA, M.; TOLEMAN, M.A.; JONES, R.N.; SCHMIDT, F.J.; WALSH, T.R. Molecular characterization of a beta-lactamase gene, bla_{GIM-1}, encoding a new subclass of metallo-beta-lactamase. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 48, n.12, p. 4654-4661, 2004.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Acinetobacter baumannii* infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members 2002-2004. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v.53, p.1063-6, 2004.

CHAMBERS, H.; SANDE, M. Fármacos antimicrobianos. In: Goodman & Gilman – As bases farmacológicas de terapêutica. Edited by Hardmanj, Limbird L, 9 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana; 1996: 757-776.

CLINICAL AND LABOARTORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twentieth Informational Supplment. CLSI document M100-S20, v.29, n.3, 2010.

CLINICAL AND LABOARTORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twentieth first Informational Supplment. CLSI document M100-S21Wayne, PA, 2011.

COELHO, J.; WOODFORD, N.; TURTON, J.; LIVERMORE, D.M. Multiresistant *Acinetobacter* in the UK: how big a threat? **J Hosp Infect**, v. 58, n.3, p. 167-169, 2004.

CORVEC, S.; CAROFF, N.; ESPAZE, E.; GIRAUDEAU, C.; DRUGEON, H.; REYNAUD, A. AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. **J Antimicrob Chemother**, v. 52, p.629-35, 2003.

DALLA-COSTA, LM.; COELHO, J.M.; SOUZA, H.A.; CASTRO, M.E.; STIER, C.J.; BRAGAGNOLO, K.L. REA-NETO,A.; PENTEADO-FILHO, S.R.; LIVERMORE, D.M.; WOODFORD, N. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. **J. Clin, Microbiol**, v.41, n.7, p. 3403-3406, 2003.

D'AGATA, E.M.; THAYER, V.; SCCHAFFNER, W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v.21, p.588-91, 2000.

DEL MAR, T.M.; CARTELLE, M.; PERTEGA, S.; BECEIRO, A.; LLINARES, P.; CANLE, D. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. **Clin Microbiol Infect**, v.11, p.540-6, 2005.

DEPUYDT, P.O.; VANDIJCK, D.M.; BEKAERT, M.A.; DECRUYENAERE, J.M.; BLOT, S.I. VOGELAERS, D.P.; BENOIT, D.D. Determinant and impact of multidrug antibiotic resistance in pathogens causing ventilator-associated pneumonia. **Crit Care**, v.12, n.6, p. 142, 2008.

DIJKSHOOM, L.; NEMEC, A.; SEIFERT, H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Nat Rev Microbiol**, v.5, n.12, p.939-951, 2007.

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

FALAGAS, M.E.; KOPTERIDES, P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. **J Hosp Infect**, v.64, p.7-15, 2006.

FALAGAS, M.E.; KOPTERIDES, P.; SIEMPOS, I.I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infection among critically ill patients. **Clinical Infectious Diseases**, v.43, n.43, p.389-90, 2006.

FEIZABADI, M.M.; FATHOLLAHZADEH, B.; TAHERIKALANI, M.; RASOOLINEJAD, M.; SADEGHIFARD, N.; ALIGHOLI, M.; SAROUSH, S.; MOHAMMADI-YEGANE, S. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of bla_{OXA} genes among *Acinetobacter* spp. isolated from patients at Tehran hospitals. **Open J Infect Dis**, v.61, n.4, p.274-278, 2008.

FIGUEIREDO, S.; POIREL, L.; PAPA, A.; KOULOURLIDA, V.; NORDMANN, P. Overexpression of the naturally occurring bla_{OXA-51} gene in *Acinetobacter baumannii* mediated by novel insertion sequence IS_{Aba9}. **Antimicrob Agents Chemother**, v.53, n.9, p.4045-4047, 2009.

FORBES, B.; SAHAN, D.; WEISSFELD, A. Principles of antimicrobial action and resistance: *Pseudomonas*, *Burkholderia* and similar organisms. In: Diagnostic Microbiology. Edited by Bailey, 10ed. New York: Mosby; 1998, p.448-461.

FOURNIER P.E.; VALLENET, D.; BARBE, V.; AUDIC, S.; OGATA, H.; POIREL, L. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **PLoS Genet**, p.2-7, 2006.

FOURNIER, P.E.; RICHET, H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. **Clin Infect Dis**, v.42, p.692-9, 2006.

GALES, A.C.; PFALLER, M.A.; SADER, H.S.; HOLLINS, R.J.; JONES, R.N. Genotypic characterization of carbapenem nonsusceptible *Acinetobacter* spp. isolates in Latin America. **Microb Drug Resist**, v.10, p. 286-91, 2010.

GERNER-SMIDT, P.; TJERNBERG, I.; URSING, J. Reability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. **J. Clin. Microbiol**, v.29, p.277-82, 1991.

GIRLICH, D.; POIREL, L.; NORDMANN, P. First isolation of the bla_{OXA-23} carbapenemase gene from an environment *Acinetobacter baumannii* isolate. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, n.1, p.578-579, 2010.

HAMOUDA, A.; AMYES, S.G. Development of highly ciprofloxacin-resistant laboratory mutants of *Acinetobacter baumannii* lacking topoisomerase IV gene mutations. **J. Antimicrob Chemother**, v.57, n.1, p.155-156, 2006.

HANLON, G.W. The emergence of multidrug resistant *Acinetobacter* species: a major concern in the hospital setting. **Lett Appl Microbiol**, v.41, p.375-8, 2005.

HENWOOD, C.J.; GATWARD, T.; WARNER, M.; JAMES, D.; STOCKDALE, M.W.; TOWNER, K.J. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the UK, and in vitro evaluation of tigecycline (GAR-936). **J Antimicrob Chemother**, v.49, p.479-87, 2002.

HERITIER, C.; POIREL, L.; FOURNIER, P.E.; CLAVERIE, J.M.; RAOULT, D.; NORDMANN, P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob Agents Chemoter**, v.49, n.10, p. 4174-4179, 2005.

HIGGINS, P.G.; LEHMANN, M.; SEIFERT, H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.35, n.3, p.305, 2010a.

HIGGINS, P.G.; DAMMHAYN, C.; HACKEL, M.; SEIFERT, H. Global spread of carbapenem-resistance *Acinetobacter baumannii*. **J Antimicrob Chemother**, v.65, p. 233-8, 2010b.

JIN, H.; XU, X.M.; MI, Z.H.; MOU, Y.; LIU, P. Drug-resistant gene based genotyping for *Acinetobacter baumannii* in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings. **Chinese Medical Journal**, v. 122, n.3, p.301-6, 2009.

JOLY-GUILLOU, M.L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. **Clin Microbiol Infect**, v.11, p.868-73, 2005.

KNAPP, S.; WIELAND, C.W.; FLORQUIN, S.; PANTOPHLET, R.; DIJKSHOORN, L.; TSHIMBALANGA, N.; AKIRA, S.; VAN DER POLL, T. Differential roles of CD14 and toll-like receptors 4 and 2 in murine *Acinetobacter* pneumonia. **Am J Respir Crit Care Med**, v.173, n.1, p.122-129, 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. Bacilos Gram-negativos não-fermentadores. **Diagnóstico Microbiológico**, 5th Ed., Medsi, Rio de Janeiro, 263-279, 2001.

LAURETTI, L.; RICCIO, M.L.; MAZZARIOL, A.; CORNAGLIA, G.; AMICOSANTE, G.; FONTANA, R.; ROSSOLINI, G.M. Cloning and characterization of bla_{VIM}, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. **Antimicrob Agents Chemother**, v.43, n.7, p.1584-1590, 1999.

LEE, K.; YUM, J.H.; YONG, D.; LEE, H.M.; KIM, H.D.; DOCQUIER, J.D.; ROSSOLINI, G.M.; CHONG, Y. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.11, p.4485-4491, 2005.

LEE, B.K.; CHONG, Y.; SHIN, H.B.; KIM, Y.A.; YONG, D.; YUM, J.H. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-β-lactamase producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.7, p.88-102, 2001.

LEE, H.W.; KOH, Y.M.; KIM, J.; LEE, J.C.; LEE, Y.C.; SEOL, S.Y.; CHO, D.T. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. **Clin Microbiol Infect** v.14, n.1, p.2008, 14 (1): 49-54.

LIVERMORE, D.M. Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. **J. Antimicrob Chemoter**, v.47, n.3, p.247-250, 2001.

LIVERMORE, D.M.; BROWN, D.F. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. **J Antimicrob Chemother**, v.48, suppl.1, p. 59-64, 2001.

LIVERMORE, D.M.; WOODFORD, N. Carbapenemase: a problem in waiting? **Curr Opin Microbiol**, v.3, n.5, p.489-495, 2000.

LOOVEREN, M.;VAN; GOOSSENS, H. ARPAC STEERING GROUP. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. In Europe. **Clin Microbiol. Infect**, v.10, n. 8, p. 684-704, 2004.

MAGNET, S.; COURVALIN, P.; LAMBERT, T. Resistance-nodulation-cell division type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. **Antimicrob Agents Chemother**, v.45, p.3375-80, 2001.

MAK, J.K.; KIM, M.J.; PHAM, J.; TAPSALL, J.; WHITE, P.A. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **J Antimicrob Chemother**, v.63, n.1, p.47-54, 2009.

MALTEZOU, H.C. Metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? **Int J Antimicrob Agents**, v.33, n.5, p.401-407, 2009.

MANUEL, R.J.; SHIN, G.Y.; FARRAG, N.; HOLLIMAN, R. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a London Hospital. **J Antimicrob Chemother**, v.52, p.141-2, 2003.

MARAGAKIS, L.L.; PERL, T.M. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. **Clin Infect Dis**, v. 46, n. 8, p.1254-1263, 2008.

MARTINS, A.F.; KUCHENBECKER, R.; SUKIENNIK, T.; BOFF, R.; REITER, K.C.; LUTZ, L.; MACHADO, A.B.; BARTH, A.L. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme: dissemination in Southern Brazil. **Infection**, v.37, p. 474-6, 2009.

MOSTACHIO, A.K.; LEVIN, A.S.; RIZEK, C.; ROSSI, F.; ZERBINI, J.; COSTA, S.F. High prevalence of OXA-143 and alteration of outer membrane proteins in carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. Isolates in Brazil. **Int J Ant Agents**, v.39, p. 396-401.

MUGNIER, P.D.; POPIREL, L.; NORDMANN, P. Funcional analysis of insertion sequence ISAb1, responsible for genomic plasticity of *Acinetobacter baumannii*. **J Bacteriol**, v. 191, n.7, p. 2414-2418, 2009.

NAVON-VENEZIA, S.; BEN-AMI, R.; CARMELI, Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. **Curr Opin Infect Dis**, v.18, p.306-13, 2005.

NEMEC, A.; DOLZANI, L.; BRISSE, S.; van den BROEK, P.; DIFKSHOORN, L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. **J Med Microbiol**, v. 53, p. 1233-40, 2004.

PATON, R.; MILES, R.S.; HOOD, J.; AMYES, S.G. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Int J Antimicrob Agents**, v.2, n.2, p.81-87, 1993.

PATERSON, D.L. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. **Clin Infect Dis**, v.43, suppl.2, S43-8, 2006.

PELEG, A.Y; SEIFERT, H; PATERSON, D.L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. **Clin Microbiol Rev**, v.212, n.3, p.538-582, 2008.

PEREZ, F.; HUJER, A.M.; HUJER, K.M.; DECKER, B.K.; RATHER, P.N.; BONOMO, R.A. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.51, p. 3471-84, 2007.

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

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

POURNARAS, S.; MARKOGIANNAKIS, A.; IKONOMIDIS, A. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing the carbapenemase OXA-40. **Antimicrob Agents Chemother**, v.50, p.2941-5, 2006.

QUALE, J.; BRATU, S.; LANDMAN, D.; HEDDURSHETTI, R. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. **Clin infect Dis**, v.37, n.2, p.214-220, 2003.

QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. **Clin Microbiol Rev**, v.20, n.3, p.440-448, 2007.

RELLO, J.; OLLENDORF, D.A.; OSTER, G.; VERA-LLONCH, M.; BELLM, L.; REDMAN, R.; KOLLEF, M.H. VAP Outcomes Scientific Advisory Group. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. **Chest**, v.122, n.6, p.2115-21, 2002.

ROMÃO, C.M.; FARIA, Y.N.; PEREIRA, L.R.; ASNSI, M.D. Susceptibility of clinical isolates of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* to a hospital disinfectant and molecular typing. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n.5, p.541-8, 2005.

RODRIGUEZ-BANO, J.; MARTI, S.; SOTO, S.; FERNANDEZ-CUENCA, F.; CISNEROS, J.M.; PACHON, J.; PASCUAL, A.; MARTINEZ-MARTINEZ, L.; McQUEARY, C.; ACTIS, L.A. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. **Clin Microbiol Infect**, v.14, n.3, p. 276-278, 2008.

RUZIN, A.; KEENEY, D.; BRADFORD, P.A. A AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii* complex. **J Antimicrob Chemother**, v.59, n.5, p.1001-1004, 2007.

SEKIGUCHI, J.; MORITA, K.; KITAO, T.; WATANABE, N.; OKAZAKI, M.; MIYOSHI-AKIYAMA, T.; KANAMORI, M.; KIRIKAE, T. KHM-1, a novel plasmid-mediated metallo-beta-lactamase from a *Citrobacter freundii* clinical isolate. **Antimicrob Agents Chemother**, v.52, n.11, p.4194-4197, 2008.

SIROY, A.; MOLLE, V.; LEMAITRE-GUILLIER, C.; VALLENET, D.; PESTEL-CARON, M.; COZZONE, A.J.; JOUENNE, T.; DE E. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.12, p.4876-4883, 2005.

SU, X.Z.; CHEN, J.; MIZUSHIMA, T.; KURODA, T.; TSUCHIYA, T. AbeM, an H⁺-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, p. 4362-4, 2005.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V.; MICKELSEN, P.A.; MURRAY, B.E.; PERSING, D.H.; SWAMINATHAN, B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33. n.9, p. 2233-9, 1995.

TIEN, H.C.; BATT, A.; BRYCE, E.A.; FULLER, J.; MULVEY, M.; BERNARD, K. Multidrug resistant *Acinetobacter* infections in critically injured Canadian forces soldiers. **BMC Infect Dis**, v.7, p.95, 2007.

TOLEMAN, M.A.; SIMM, A.M.; MURPHY, T.A.; GALES, A.C.; BIEDENBACH, D.J.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. **J Antimicrob Chemother**, v. 50, n.5, p.673-679, 2002.

TURTON, J.F.; KAUFMANN, M.E.; WARNER, M.; COELHO, J.; DIJKSHOORN, L.; VAN DER REIJDEN, T. A prevalent multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii* in Southeast England. **J Hosp Infect**, v.58, p.170-9, 2004a.

TURTON, J.F.; WOODFORD, N.; GLOVER, J.; YARDE, S.; KAUFMANN, M.E.; PITT, T.L. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51like carbapenemase gene intrinsic to this species. **J Clin Microbiol**, v.44, n.8, p.2974-6, 2006(b).

VALLENET, D.; NORDMANN, P.; BARBE, V.; POIREL, L.; MANGENOT, S.; BATAILLE, E.; DOSSAT, C.; GAS, S.; KREIMEYER, A.; LENOBLE, P. Comparative analysis of *Acinetobacter*: three genomes for three lifestyles. **PLoS One**, v. 3, n.3, p. 1805, 2008.

VAN LOOVEREN, M.; GOOSENS, H.A. Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. In Europe. **Clin Microbiol Infect**, v.10, p.684-704, 2004.

VILA, J.; MARTI, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **J Antimicrob Chemother**, v.59, p.1210-5, 2007.

VON GRAEVENITZ, A. *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella* and other nonfermentative Gram-negative bacteria. In: Murray PR, Baron JE, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press: p. 520-32, 1995.

ZAVASCKI, A.P.; CARVALHAES, C.G.; PICAIO, R.C.; GALES, A.C. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.8, n.1, p.71-93, 2010.

YONG, D.R.B.; PRATT, R.; TOLEMAN, M.; WALSH, T. A novel sub-group metallo- β -lactamase (MBL), Aim-1 emerges in *Pseudomonas aeruginosa* (Psa) from Australia. In: 47th ICAAC. Vol abstract C1-593. Chicago, USA: 47th ICAAC; 2007: p.75.

WATANABE, M.; IYOBE, S.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.35, n.1, p. 147-151, 1991.

WENDT, C.; DIETZE, B.; DIETZE, E.; RUDEN, H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. **J Clin Microbiol**, v.35, p.1394-7, 1997.

WERNECK, J.S.; PICÃO, R.C.; GIRARDELLO, R.; CAYÔ, R.; MARGUTI, V.; DLLA-COSTA, L. Low prevalence of bla_{OXA-143} in private hospitals in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 55, p. 4494-5, 2011.

WOODFORD, N; ELLINGTON, M.J.; COELHO, J.M.; TURTON, J.F.; WARD, M.E.; BROWN, S.; AMYES, S.G.; LIVERMORE, D.M. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. **Int J Antimicrob Agents**, v.27, n.4, p. 351-353, 2006.