

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – *CAMPUS* DE
FRANCISCO BELTRÃO, CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE,
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
APLICADAS À SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

DÉBORA FIORENTIN VANDRESEN

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES
DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA
RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES
HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL**

FRANCISCO BELTRÃO – PR
FEVEREIRO/2020

DÉBORA FIORENTIN VANDRESEN

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES
DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23
RESISTÊNTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA
RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES
HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas à Saúde, nível Mestrado, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador(a): Dra. Lirane Elize Defante Ferreto

Co-orientador(a): Dra. Cleide Viviane B. Martins

FRANCISCO BELTRÃO – PR
FEVEREIRO/2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Vandresen, Débora Fiorentin

ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23 RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL : ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23 RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL / Débora Fiorentin Vandresen; orientador(a), Lirane Elize Defante Ferreto; coorientador(a), Cleide Viviane B. Martins, 2020.
89 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Francisco Beltrão, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2020.

1. Resistência microbiana. 2. Epidemiologia. 3. Fatores de Risco. 4. *Acinetobacter baumannii*. I. Ferreto, Lirane Elize Defante. II. Martins, Cleide Viviane B.. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

DÉBORA FIORENTIN VANDRESEN

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES
DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23
RESISTÊNTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA
RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES
HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde e aprovada em sua forma final pela Orientada e pela Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Orientador (a): Prof^a. Dra. Lirane Elize Defante Ferreto
UNIOESTE

Membro da banca: Prof^a. Dra. Kérley Braga Pereira Bento Casaril
UNIOESTE

Membro da banca: Prof^a. Dra. Caroline Lermen Munhoz
UNISEP

FRANCISCO BELTRÃO, PR
Fevereiro/2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada e me guiou em todos os cominhos para a concretização deste objetivo.

Á minha mãe, pelo apoio, confiança e por estar sempre ao meu lado nas minhas escolhas e me oferecer sempre o melhor que pode me dar, dando-me sempre muito força e coragem para encarar todas as dificuldades.

Regracio a professora Dra. Lirane, minha orientadora, não só pela paciência e orientação para a conclusão deste estudo, mas também pelas oportunidades de aprendizado oferecidas. Minha eterna gratidão e admiração, pelo exemplo profissional e pelo confiança em mim depositada.

Aos professores que me auxiliaram para a realização desta pesquisa e em especial a professora Dra. Cleide, que me auxiliou em suas orientações.

Agradeço ao meu marido Rodrigo Cornelli, por seu apoio e por entender todos os momentos de preocupação e ser um grande incentivador para a conclusão deste meu trabalho.

DEDICATÓRIA

Dedico este meu trabalho ao meu pai, que mesmo não estando presente em mais uma conquista, me ajudou dando forças diversas vezes para eu continuar, pois sei que assim como minha mãe, eles estarão sempre torcendo por mim.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Porcentagens dos fenótipos de resistência entre os bacilos Gram-negativos mais frequentemente notificados como agentes etiológicos de IPCS associadas a cateter venoso central em pacientes hospitalizados em UTI adulto (Brasil, 2016).....	17
Figura 2 - Fluxograma do recrutamento do estudo e processo de triagem dos casos e controles.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Perfil de sensibilidade/resistência do Complexo <i>Acinetobacter baumannii</i> reportado em IRAS, no período de janeiro a julho de 2018, no Paraná, Brasil.....	17
Tabela 2- Distribuição do subgrupo de Gram-negativos não fermentadores como causadores de IRAS, no período de janeiro a junho de 2018, no Paraná, Brasil.....	17
Tabela 3- - Estudos de <i>A. baumannii</i> resistentes aos carbapenêmicos carreadores do gene OXA-23 no Brasil, no período de 2014-2018.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A. baumannii - *Acinetobacter baumannii*

AIS - Sinais Autoindutores

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BGNMF - Bacilos Gram-negativos não Fermentadores

CCIH - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute

CMHCA - Muller Hinton Cátion Ajustado

CVC - Cateter Venoso Central

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetracético

ESBL - Beta-lactamases de Espectro Alargado

HRS - Hospital Regional Walter Alberto Pecoits

IPCS - Infecção Primária de Corrente Sanguínea

IRAS - Infecção Relacionada à Assistência à Saúde

LACEN-PR - Laboratório Central do Estado do Paraná

LOS – Lipooligossacarídeos

LPS – Lipopolissacarídeos

MIC - Concentração Mínima Inibitória

OMS - Organização Mundial de Saúde

OXA – Oxacilinases

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PFGE - Pulsed Field Gel Electrophoresis

PME - Proteína de Membrana Externa

SESA - Secretaria de Estado de Saúde do Paraná

SONIH - Sistema “Online” de Notificação de Controle de Infecção Hospitalar

SUS - Sistema Único de Saúde

THM - Teste de Hodge Modificado

TSA - Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos

TSB - Caldo Soja Tripcaseína

UNISEP – União de Ensino do Sudoeste do Paraná

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

ESTUDO DE CASO-CONTROLE PARA AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO RELACIONADO AO *Acinetobacter baumannii* OXA-23 RESISTÊNTES AOS CARBAPENÊMICOS E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA FRENTE À POLIMIXINA DE PACIENTES HOSPITALIZADOS NO PARANÁ, BRASIL

Resumo

O aumento crescente de cepas bacterianas multirresistentes, está sendo cada vez mais notório em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento, trazendo uma preocupação global para o sistema de saúde. Dentre as linhagens microbianas, *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) é classificado como uma das bactérias de nível crítico para a saúde pública, devido a sua alta taxa de resistência, principalmente no âmbito hospitalar. O objetivo do trabalho foi caracterizar fenotipicamente e molecularmente as amostras bacterianas de um hospital do Paraná, correlacionando com os fatores de risco associados aos pacientes, bem como sua resistência frente à polimixina e sua epidemiologia nas infecções hospitalares. Foi realizado um estudo caso controle com 99 pacientes internados no período de janeiro de 2017 a junho de 2019 no Hospital Regional do Sudoeste do Paraná, Brasil. Foram coletadas variáveis demográficas, procedência para internamento, setor de internação, uso de dispositivo invasivo, uso de antimicrobianos, procedimento cirúrgico e desfecho do paciente (alta hospitalar/óbito); para os dados microbiológicos – microrganismo isolado, perfil de resistência aos antimicrobianos, sítio de isolamento, genes de resistência e testes fenotípicos. As amostras dos casos foram selecionadas com base nos resultados positivos para o desenvolvimento de *A. baumannii*, os quais foram recrutados após testes de identificação manual e confirmado pelo método Vitek 2 (bioMérieux®, Marcy-L'Étoile, France). A presença do gene bla_{oxa-23}, foi realizado através do PCR, no LACEN-PR. Os controles selecionados eram todos os pacientes que não desenvolveram este microrganismo. Para critério de pareamento foi utilizado: idade (a mesma idade, ou cinco anos para mais ou para menos que a idade do caso), mesmo ano de internamento, mesmo sexo e internamento no mesmo setor. A análise de regressão logística foi usada para identificar fatores de risco para cultura positiva com *A. baumannii*. A incidência desta bactéria foi de 0,21%, 0,15% e

0,17% em 2017, 2018 e 2019, respectivamente. Os casos apresentaram fatores associados ao tempo de internamento até a realização da cultura ($p < 0,001$), quando o paciente é admitido oriundo de outra unidade de saúde ($p = 0,038$) e o uso de ventilação mecânica ($p < 0,001$). Observou-se ainda maior número relativo de óbitos ($p = 0,024$) nos casos em comparação aos controles e uma taxa de mortalidade crescente nos três anos observados. Verificou-se ainda que todas as cepas apresentaram resistência aos carbapenêmicos e sensibilidade à polimixina B pelo método de microdiluição. Os resultados apontam para a necessidade da vigilância e do monitoramento dos pacientes com maior permanência no hospital, principalmente no setor da unidade de terapia intensiva (UTI) e com uso de ventilação mecânica, indicado assim a adoção de práticas de medidas de prevenção para impedir a disseminação de *A. baumannii* e diminuir a taxa de mortalidade, bem como a utilização de testes confiáveis para averiguação da resistência desta bactéria frente à polimixina B.

Palavras-chave: Fatores de risco, *Acinetobacter baumannii*, Epidemiologia, Infecção hospitalar, Multirresistência.

EVALUATION OF RISK FACTORS RELATED TO *Acinetobacter baumannii* OXA-23 RESISTANCE TO CARBAPENEMICS AND EVALUATION OF RESISTANCE FRONT TO THE POLYMYXIN OF HOSPITALIZED PATIENTS IN PARANÁ, BRAZIL: A CASE CONTROL STUDY

Abstract

The increase in multidrug-resistant bacterial strains has been notorious in both developed and developing countries, causing global concerns to health systems. Among the strains of microorganisms, *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is classified as critical for public health policies due to its high resistance rate, especially in hospitals. The objective of this study was to characterize - molecularly and phenotypically - the bacterial samples taken from patients in a hospital in Paraná, correlating them with the patients' risk factors and analyzing their epidemiology withing hospital infections and its resistance to Polymyxin. A case-control study was performed with 99 individuals who were hospitalized between 2017 to 2019 at the Regional Hospital (located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil). Demographic variables, origin of hospitalization and sector of hospitalization, use of invasive device and antimicrobials, surgical procedure, and patient outcome (hospital discharge/death) were analyzed. Also, microbiological data – including isolated microorganisms, the antimicrobial resistance profile, resistance genes and phenotypic tests - were collected. Cases samples were taken out of positive culture tests results for *A. baumannii*, which were recruited after manual testing followed by confirmation using Vitek 2 (bioMérieux®, Marcy-L'Étoile, France). The gene $bla_{\text{Oxa-23}}$ presence was analyzed using PCR at the LACEN-PR. Controls were those who did not developed colonization by *A. baumannii*. Cases and controls were matched by age (same age or ± 5 years), gender, and hospitalization sector. A logistic regression analysis was used to identify *A. baumannii* associated risk factors. *A. baumannii* incidence was 0,21%, 0,15% and 0,17% in 2017, 2018 and 2019, respectively. Cases had higher length of hospitalization until the positive culture results ($p < 0,001$), were mostly admitted from other institutions ($p = 0,038$) and needed mechanical ventilation ($p < 0,001$). Moreover, higher relative cases of death ($p = 0,024$) were found in cases in comparison to controls, with deaths increasing over the years. It was also observed

that all strains presented resistance to carbapenems and sensitivity to Polymyxin B when the microdilution method was used. Results show a clear need for activities involving surveillance and monitoring of patients with longer hospitalizations (especially in the ICU sector) and those using mechanical ventilation, thus indicating the importance of adopting prevention measures practices to avoid *A. baumannii* dissemination. This could decrease mortality rates. Also, the investigation emphasizes the use of reliable tests to investigate the resistance of *A. baumannii* to Polymyxin B.

Keywords: Risk factors; *Acinetobacter baumannii*; Epidemiology; Hospital Infection; Multi-bacterial pharmaco-resistance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. OBJETIVOS	30
2.1 Geral.....	30
2.2 Específicos.....	30
3. METODOLOGIA	31
3.1 Delineamento do estudo	31
3.2 Procedimentos éticos	31
3.3 Local de estudo	31
3.4 População e amostra	32
3.5 Coleta de dados	33
3.5.1 Instrumento de coleta de dados.....	34
3.6 Isolamento e identificação	34
3.7 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	35
3.8 Teste de Microdiluição.....	35
3.9 Análise Estatística.....	36
4. REFERÊNCIAS	37
5. ARTIGO CIENTÍFICO	48
6. APÊNDICE	69
7. ANEXOS	70
7.1 Termo de ciência do responsável pelo Campo de Estudo - HRS	70
7.2 Termo de ciência do responsável pelo Campo de Estudo - Unisep.....	71
7.3 Instrumento de Coleta de Dados	72
7.4 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	73
7.5 Normas da revista.....	75
7.6 E-mail da submissão para a revista científica.....	88

1. INTRODUÇÃO GERAL

A. baumannii se destaca como uma das bactérias mais frequentes em surtos hospitalares devido à alta capacidade de adesão e persistência em equipamentos, teclados, cortinas, camas e telefones celulares e sua resistência frente a muitos desinfetantes, aumentando ainda mais sua capacidade de disseminação entre profissionais e pacientes (VANEGAS-MÚNERA; RONCANCIO-VILLAMIL; JIMÉNEZ-QUICENO, 2014).

Por ser um patógeno oportunista, é responsável por diversos surtos de infecção nosocomial, sobretudo em doentes com quadro clínico de imunossupressão. Pode causar desde uma infecção do trato urinário e infecções cirúrgicas, até pneumonia, principalmente as associadas à ventilador mecânico, endocardite, bacteremias e mais raramente meningite (SIMÕES, 2016).

Mas esse não é um problema atual, pois as infecções relacionadas com *A. baumannii* começaram a ter relevância a partir da década de 1970, desde então, essa bactéria tem se tornando um grande problema não só para infecções hospitalares como também infecções comunitárias, visto que as taxas de mortalidade atribuíveis a esse microrganismo variam de 8% a 35%, de acordo com a cepa e o tipo de infecção (ANTUNES; VISCA; TOWNER, 2014).

Devido a isso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu *A. baumannii* resistentes à múltiplas drogas no grupo crítico na lista de bactérias que apresentam uma ameaça para a saúde humana, priorizando as pesquisas e novas formulações para novos tratamentos antimicrobianos (OMS¹, 2017).

As infecções causadas por *A. baumannii* são responsáveis por aproximadamente 2% de todas as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) nos Estados Unidos e na Europa, enquanto esses valores são o dobro quando avaliados os dados da Ásia e Oriente Médio. Apesar das taxas de infecções serem baixas, quando comparadas com outros patógenos Gram-negativos, a taxa de isolados multirresistentes chega a 70% na América Latina e Oriente Médio (GIAMMANCO et al., 2017; LOB et al., 2016).

Na Colômbia, segundo boletim informativo do Ministério de Saúde e Proteção Social, em 2014 *A. baumannii* apresentava-se com 19,3% entre todas as bactérias resistente a mais de 3 (três) classes de antimicrobianos em unidade de cuidados intensivos, sendo o microrganismos mais frequente, dentre das bactérias

resistentes as múltiplas drogas, com resistência principalmente contra os carbapenêmicos (BUENAHORA et al., 2016).

Classicamente, os carbapenêmicos são os antimicrobianos de escolha para o tratamento de bactérias multirresistente, porém esse cenário vem mudando ao longo da última década devido aos crescentes isolados de cepas produtoras de carbapenemases, aumento de fatores de virulência e consequentemente resistência aos fármacos testados (NEVES et al., 2016).

Os fármacos meropenem e imipenem chegaram aos pacientes em 1985 e por anos foram os antibacterianos mais importantes para as infecções causadas por cepas resistentes a várias classes de drogas, porém sua suscetibilidade está diminuindo de forma considerável (CHAGAS, 2015).

Para Scarcella et al. (2017), *A. baumannii* está emergindo como uma das causas de numerosos surtos globais, sendo relatado diversos surtos desses microrganismos com resistência a diversas classes de antimicrobianos em hospitais da Europa, América do Norte, Argentina, Brasil, China, Taiwan, Hong Kong, Japão e Coreia do Norte.

O Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 16 do ano de 2016, apresentou dados que em todo o Brasil, 86% do gênero *Acinetobacter* spp. são resistentes aos carbapenêmicos em amostras de infecção primária de corrente sanguíneo (IPCS) de pacientes de UTI, sendo que estes microrganismos vêm se destacando entre as resistências desde o ano de 2012 (ANVISA¹, 2017) (Figura 1).

No estado do Paraná a porcentagem de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos no primeiro semestre de 2018, também é a maior dentre todas as bactérias notificadas nas IRAS e seu percentual se assemelha a de todo o Brasil, conforme demonstrado na Tabela 1 (SESA, 2018).

No Brasil, os maiores índices de IRAS estão no setor da UTI, em clínicas cirúrgicas e setores de ortopedia, devido ao grande contato do paciente e prestador da assistência, sendo ainda que os sítios de maior prevalência dessas infecções são: trato urinário e trato respiratório inferior, aumentando este número quando há procedimentos invasivos (cateter, intubação e uso de próteses) (ANVISA², 2016).

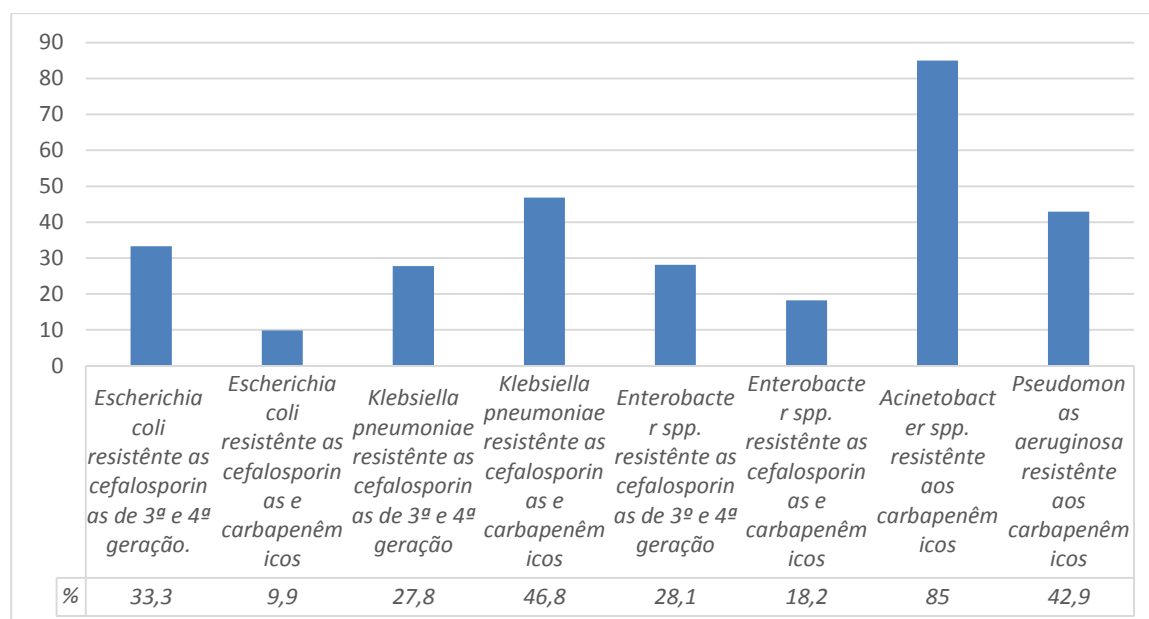


Figura 1 - Porcentagens dos fenótipos de resistência entre os bacilos Gram-negativos mais frequentemente notificados como agentes etiológicos de IPCS associadas a cateter venoso central em pacientes hospitalizados em UTI adulto (Brasil, 2016).

Fonte: Adaptação de ANVISA¹, 2017.

Tabela 1- Perfil de sensibilidade/resistência do Complexo *Acinetobacter baumannii* reportado em IRAS, no período de janeiro a julho de 2018, no Paraná, Brasil.

Microrganismo/Resistência	Ocorrência	%
<i>A. baumannii</i> complex R MPN/IPN	406	78,99
<i>A. baumannii</i> complex S MPN/IPN	103	20,04
<i>A. baumannii</i> complex R Polimixina B/Colistina	5	0,97
Total	514	100%

Fonte: SESA, 2018.

*MPN: Meropenem; IPN: Imipenem; S: Sensível; R: Resistente

Em 2014, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) brasileira demonstrou por meio de dados de UTI de 1.692 hospitais, o quão vulneráveis estão os pacientes neste setor às IRAS. No estudo evidenciaram a densidade de incidência de 5,1 infecções a cada 1.000 cateteres venosos centrais (CVC)-dia em casos de infecção primária de corrente sanguínea em UTI adulto (ANVISA³, 2017).

Segundo um estudo realizado pela Secretaria de Estado de Saúde do Paraná (SESA, 2018), juntamente com seus colaboradores, no primeiro semestre

de 2018 foram notificados 16.002 IRAS no Sistema “Online” de Notificação de Controle de Infecção Hospitalar (SONIH), sendo que o total de óbitos foi de 1.797. Ainda sobre este informativo, entre todos os 6.357 microrganismos notificados relacionados as IRAS, 22% pertencem ao grupo dos Gram-negativos não fermentadores (BGNNF). Estes números são muito relevantes, visto que essa classe de bactérias é muitas vezes multirresistente e com isso suas opções terapêuticas são mais limitadas, prejudicando ainda mais a evolução de um prognóstico ao paciente (AGARWAL et al., 2017).

Os BGNNF podem apresentar-se apenas como colonizantes, porém as infecções causadas por essa classe de bactérias aumentaram muito, principalmente em pacientes imunocomprometidos, o que leva a um aumento das infecções nosocomiais, devido ao uso de materiais inanimados contaminados com tais microrganismos na assistência ao paciente (SANDER; JONES, 2005).

Existem mais de 120 espécies de BGNNF que podem ser classificados como potencialmente patogênicos, contudo, as espécies mais presentes no âmbito hospitalar são: *Pseudomonas aeruginosa*, *A. baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia* (OLIVEIRA; ARAUJO; OLIVEIRA, 2017). Segundo a pesquisa da SESA (2018), *A. baumannii* apresentou-se como o segundo microrganismos mais incidente dentre as IRAS, no primeiro semestre de 2018, no estado do Paraná (Tabela 2) e com 78,9% de suas cepas resistentes aos carbapenêmicos, enquanto *Pseudomonas aeruginosa* obteve apenas 27,6% de resistência a mesma classe antimicrobiana.

Tabela 2- Distribuição do subgrupo de Gram-negativos não fermentadores como causadores de IRAS, no período de janeiro a junho de 2018, no Paraná, Brasil.

Gram-negativos não fermentadores	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	837	61,19
<i>Complexo Acinetobacter baumannii</i>	514	33,05
<i>Stenotrophomonas maltophllia</i>	49	3,97
<i>Burkholderia cepacia</i>	20	1,79
Total Geral	1.420	100%

Fonte: SESA, 2018

O gênero *Acinetobacter* compreende até 31 espécies, porém entre todas elas, *A. baumannii* é o mais conhecido devido os numerosos surtos hospitalares que têm sido relatados. Esta espécie bacteriana é um bacilo, durante a fase exponencial e coco na fase estacionária, não fermentador de glicose, Gram-negativo, oxidase-negativa, catalase positiva, estritamente aeróbio e sem motilidade, o qual pode ser encontrado no ambiente e também na microbiota da pele humana (SCARCELLA; SCARCELLA; BARETTA, 2017; NEVES et al., 2016).

Através de análises bioquímicas identificou-se que a parede dos *A. baumannii* não são iguais as demais Gram-negativas, pois este gênero não produz lipopolissacarídeos (LPS) e sim lipooligossacarídeos (LOS), sendo que nestas paredes não há antígeno-O, devido à falta da enzima ligase *waaL* (KENYON et al., 2013). Essa estirpe bacteriana possui fácil crescimento em meios sólidos, como o Ágar Sangue, desenvolvendo colônias branco-acinzentadas, muitas vezes mucoides, medindo cerca de 1,5 a 3mm, podendo crescer em diferentes condições de pH e disponibilidade de nutrientes e em seu DNA possui cerca de 39% - 47% de guanina e citosina (BUENAHORA et al., 2016; HOWARD et al., 2012).

Este gênero é encontrado amplamente distribuído na natureza, sendo que diferentes espécies de *Acinetobacter* podem ser encontradas em superfícies úmidas ou secas, como solo, esgoto, água, frutos e vegetais, como também colonizantes do organismo humano (COELHO, 2012). Até no início da década de 1990 *A. baumannii* era descrito em casos mais raros de infecções, encontrado principalmente em infecções oportunistas, porém devido sua alta capacidade de se disseminar e sobreviver no ambiente hospitalar e desenvolver resistência aos antimicrobianos, aumentaram os registros de surtos em hospitais por todo o mundo (GONG et al., 2016).

Entretanto, a identificação das espécies do gênero *A. baumannii* não é uma tarefa muito simples e muitas vezes o laboratório clínico tem dificuldade de identificá-los, devido à proximidade das características entre as espécies (LEE et al., 2017). Sua identificação normalmente é realizada por laboratórios responsáveis pelo monitoramento da epidemiologia bacteriana, visto que necessita-se da realização da fenotipagem e genotipagem, cuja complexidade e morosidade, em alguns casos, os tornam impraticáveis na rotina destes laboratórios. Com o aumento da dificuldade da sua identificação, muitos laboratórios usam apenas os métodos de suscetibilidade antimicrobiana para o tratamento clínico e a

identificação do gênero *Acinetobacter*, com testes mais simples, porém menos fidedignos (MOREIRA, 2017).

Para os testes de suscetibilidade do *Acinetobacter spp.*, o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018) orienta que a concentração mínima inibitória (MIC) dos antimicrobianos usados para este gênero bacteriano sejam determinados por meio da leitura de disco difusão em Ágar Muller Hinton, macrodiluição e microdiluição em caldo, excetuando-se do teste de polimixina e colistina que não recomenda-se testar por disco difusão.

Devido ao aumento da resistência à diversas classes de antimicrobianos, a identificação das espécies bacterianas pertencente ao gênero *Acinetobacter*, tem sido melhorada para diminuir as falhas na caracterização deste grupo de bactérias e para isto técnicas e métodos envolvendo biologia molecular tem sido a busca diária por diversos pesquisadores, uma vez que estas técnicas conseguem em poucas horas fornecer resultados de alta sensibilidade e especificidade (NEMEC et al., 2011).

A reação em cadeia da polimerase (PCR), por ser uma técnica que possui uma alta capacidade de replicação do DNA em minutos, é a mais utilizada para o diagnóstico molecular, pois mesmo com quantidades pequenas do material genético e coleta de materiais de forma não adequada, ainda assim é possível um reprodução satisfatória (NARAYANAN, 2004).

Outro método de diagnóstico molecular é a tipagem molecular, a qual fornece informações a respeito das linhagens de microrganismos. Conforme o gene de interesse pesquisados, linhagens com 100% de similaridade são consideradas indistinguíveis, entretanto aquelas com mais de 80% de similaridade genética são consideradas relacionadas e as com menos de 80% são consideradas distintas (MOREIRA, 2017).

A *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE), desenvolvida por Schwartz e Cantor (1984), consiste em uma macrorestrição genômica através da utilização de enzimas de restrição de baixa frequência de corte, como a *SmaI*, *AsclI* e *ApaI*, seguida de eletroforese em gel de agarose, a qual tem orientação do campo elétrico do gel modificada periodicamente.

A análise das bandas geradas na eletroforese por PFGE são comparadas com perfis obtidos em “softwares” especializados, os quais avaliam os dados através de dendogramas devido grande número de amostras bacterianas

armazenadas (REMENTERIA et al., 2001). Com esta técnica é possível monitorar os surtos por *A. baumannii*, auxiliando na investigação epidemiológica, a fim de conhecer a relação genética entre as amostras proveniente de pacientes de diferentes regiões e suas consequências devido a presença de fatores que levem a uma diminuição na sensibilidade frente aos antimicrobianos (MOREIRA, 2017).

Em geral, os diversos surtos de *A. baumannii* podem ser atribuídos a alguns fatores, como: capacidade de formar biofilmes e resistir à falta de água em ambientes inanimados, capacidade de colonizar e invadir células epiteliais, sua alta capacidade de realizar a transferência e recebimento transversal de genes (transformação, transdução e conjugação) e seus vastos mecanismos de resistência que auxiliam no seu escape contra os antimicrobianos (CERQUEIRA; PELEG, 2011).

A adaptação aos ambientes hospitalares para *A. baumannii*, se deve a sua habilidade em captar ferro em ambientes pobres deste metal, resistência à secagem, produção de cápsula polissacarídica em algumas espécies e aderência às células do epitélio através da presença de *pili* (LEE et al., 2006).

O *pili* é uma das estruturas mais comuns, presentes na superfície externa do patógeno, sendo que o mais conhecido é o *pili* Tipo I, o qual tem a função da fixação e aderências nas superfícies dos hospedeiros. Para *A. baumannii* há quatro genes que são utilizados para codificar esta estrutura e todas incluem o cluster *csu* e estão presente em quase que 100% de todas as linhagens virulentas, segundo o estudo de Eijkelkamp et al. (2014).

A formação de biofilmes está inter-relacionada às vias de *quorum-sensing*, ou seja, quando há uma mudança no meio extracelular com o aumento de sinais autoindutores (AIs), elas são internalizadas e induzem a expressão de genes, resultando na alteração do metabolismo. Isso resulta na melhor adaptação e sobrevivência deste microrganismo (CONWAY; VENU; SPEERT, 2002).

Nas cepas de *A. baumannii* o biofilme é ativado através da rede *quorum-sensing* LuxI/LuxR que envolve uma abal sintase e um receptor aba, sendo que a lactona-3-hidroxi-dodecanoil-L-hemoserina (3-OH-C12-HSL) é a principal molécula sinalizadora e estudos usando análogos desta molécula estão sendo feitos para avaliar estratégias para diminuir sua capacidade de formar biofilmes (CHOW et al., 2014).

Proteínas de membrana externa (PME) tem funções essenciais para muitas bactérias, pois auxilia na invasão, aderência, manutenção da estrutura bacteriana e ligação a uma grande variedade de substâncias. Para *A. baumannii* as principais PME são denominadas de OmpA, as quais interagem com as células epiteliais do hospedeiro induzindo a citotoxicidade, disfunção mitocondrial, o qual resultará em apoptose celular (SUGAWARA; NIKAIDO, 2012). Sendo também importante salientar que estas proteínas estão envolvidas na resistência do sistema complemento, na formação de biofilmes e na resistência contra os carbapenêmicos (SRINIVASAN; VAIDYANATHAN; RAJAMOHAN, 2015).

Muitas bactérias Gram-negativas possuem a capacidade de secretar vesículas da membrana externa, as quais abrigam toxinas, LPS, lipídeos e outros fatores de virulência. Estudos de Lee et al. (2001), demonstraram que cepas de *A. baumannii* secretam essas vesículas com proteína de membrana externa, as quais induzem a apoptose de células do hospedeiro através de alvos mitocondriais e nucleares, aumentando sua virulência e resistência junto a sua renitência frente aos antimicrobianos.

O novo conceito *One Health Approach* (Saúde Única), vem ampliando os olhares em relação as resistências aos antimicrobianos, pois as bactérias resistentes aos antimicrobianos circulam entre animais e humanos através dos alimentos, da água e entre os próprios homens. Devido a isso, ocorre a necessidade de envolvimento multissetorial, com o objetivo de assegurar o tratamento da questão sob perspectivas conjuntas de saúde da área veterinária, agrícola e humana (OMS², 2015).

A resistência aos antimicrobianos é a capacidade de uma bactéria sobreviver e se replicar mesmo na presença de drogas que atuam para diminuir sua replicação ou lisar suas células, matando-as. O uso desenfreado e inadequado de antimicrobianos em ambientes de saúde, aceleraram o processo de seleção natural, contribuindo para o surgimento de bactérias resistentes as múltiplas drogas, diminuindo assim as opções para tratamento (PONTES et al., 2018).

Os mecanismos de resistência realizados por *A. baumannii* incluem alteração da membrana externa das Gram-negativas, produção de enzimas degradadoras de antimicrobianos, bombas de efluxo, modificação do alvo e diminuição de tamanho, quantidade e expressão de porinas. Porém, o que é mais alarmante frente a essas cepas é sua capacidade infinita de adquirir esses diversos

mecanismos de resistência em uma mesma célula, resultando em cepas multirresistentes (KIM et al., 2014; PELEG et al., 2008).

Uma das características que auxilia na sobrevivência desta bactéria e sua disseminação em ambientes de saúde, além da sua eficiência em carrear diferentes genes de resistência na mesma célula, é sua grande capacidade de regular resistências intrínsecas a antimicrobianos e, também, uma enorme facilidade de ter resistências adquiridas de forma horizontal (FRANÇA, 2015).

A membrana externa é uma das características encontradas apenas nas bactérias Gram-negativas, a qual é formada por uma bicamada lipídica, bombas de efluxo e por porinas, as quais as tornam intrinsecamente mais impermeáveis que as Gram-positivas (DIAS, 2015).

Alterações nessas porinas, podem prejudicar e até mesmo evitar o reconhecimento do medicamento. Dados recentes mostraram que a diminuição na expressão de porinas aumenta a resistência para carbapenêmicos e cefalosporinas, concomitantemente mediada pela degradação enzimática em *A. baumannii* (LAVIGNE et al., 2013; POULOU et al., 2013; BAROUD et al., 2013).

As bombas de efluxo apresentam diferentes famílias em uma grande variedade de bactérias, porém para *A. baumannii*, a principal bomba de efluxo é a AdeABC, que confere resistência aos aminoglicosídeos, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, beta-lactâmicos, fluoroquinolonas, trimetopim e brometo de etídio, sendo ainda que uma super expressão de AdeABC pode conferir um alto nível de resistência aos carbapenêmicos (DIAS, 2015).

Já para os antimicrobianos beta-lactâmicos, o principal mecanismo de resistência consiste na síntese de enzimas beta-lactamases, sendo que essa cepa bacteriana possui intrinsecamente beta-lactamases da classe C, reconhecidas como cefalosporinases derivadas do *Acinetobacter* (SILVA, 2009).

A enzima beta-lactamase produzida por esses microrganismos, hidrolisam a ligação amida do anel beta-lactâmico, inativando assim a ação do antimicrobiano classificado como beta-lactâmicos, os quais são amplamente utilizados em tratamentos de infecções graves (MEYER; PICOLI, 2011).

A classificação das beta-lactamases, segundo Ambler (1980), se baseia em suas estruturas moleculares, as quais estão divididas em quatro classes, que são nomeadas de A a D, sendo a A as serino-beta-lactamases; a B que englobam as

metalo-beta-lactamases, a C que tem as beta-lactamases cromossômicas do tipo AmpC e, por fim, a classe D que englobam as oxacilinases.

Como a classe dos antimicrobianos mais usada são os beta-lactâmicos, esses tornaram-se os maiores alvos para que os microrganismos desenvolvam resistência. A produção de beta-lactamases de espectro alargado (ESBL do Inglês extended-spectrum beta-lactamases), pertencente à Classe A, foi um dos primeiros casos de resistência frente a essa classe de fármacos. Essa enzima foi identificada pela primeira vez em 1983, na Alemanha, em *Escherichia coli* (OTEO; PÉREZ-VÁZQUEZ; CAMPOS, 2010).

A produção desta enzima ESBL faz com que a bactéria seja imune contra as cefalosporinas de terceira e quarta geração, pois hidrolisam o anel beta-lactâmico desses fármacos e causam co-resistência ao cotrimoxazol, aminoglicosídeos, fluorquinolonas e monobactâmicos. Sua detecção é simples e fácil, pois pode ser realizada com testes fenotípicos através do uso de disco em aproximação com a presença da zona fantasma (ghost-zone) (RODRIGUES; MESQUITA, 2016; JUNIOR; FERREIRA; CONCEIÇÃO, 2004).

Tal facilidade de diagnóstico não é encontrada na beta-lactamase da Classe C, a AmpC, a qual é codificada cromossomicamente, pois para que o gene *bla_{ampC}* desenvolva a resistência às cefalosporinas, é necessário a presença do elemento de inserção *IS_{bla1}*, que regula positivamente o gene *bla_{ampC}* e, então, torna a cepa resistente as cefalosporinas e, também, ao inibidor ácido clavulânico, diferentemente dos ESBL que não são resistentes (HERITIER; POIREL; NORDMANN, 2006).

As carbapenemases são pertencentes a Classe A de Ambler e ao subgrupo 2f de Bush, Jacoby e Medeiros e sua principal enzima é *Klebsiella pneumoniae* carbapenamase (KPC). Esta enzima possui capacidade de hidrolisar os antimicrobianos da classe das penicilinas, monobactâmicos, cefalosporinas e carbapenêmicos (QUEENAN; BUSH, 2007).

Por ser uma enzima presente em DNA extracromossomal, KPC apresenta-se com grande preocupação em sua alta capacidade de disseminação, sendo ainda que além dessa capacidade de transferir seus genes de resistência ainda tem habilidade de associar outros genes de resistência dificultando o controle de epidemias e tratamentos disponíveis para essas infecções, aumentando as taxas de mortalidade (VERDI et al., 2016).

Segundo Walsh (2010), em um estudo realizado em Porto Rico com 274 cepas de *A. baumannii* isoladas em 2009, foi verificado a presença de 10 amostras com o gene KPC. No Brasil, há poucos estudos publicados que trazem dados quantitativos de casos de *A. baumannii* que apresentam o gene KPC, sendo que Cavalcanti (2017) relatou em seu trabalho que na pesquisa com 37 isolados de *A. baumannii* multirresistente nenhuma cepa apresentou resistência devido à presença desta enzima.

Para avaliar estudos a respeito de *A. baumannii* produtora de beta-lactamases do tipo D no Brasil, realizou-se uma pesquisa de revisão sistemática dos últimos cinco (5) anos, nas línguas inglesas, espanhola e portuguesa. A busca foi realizada nas bases de dados: Lilacs, Scielo e PubMed, usando os seguintes descritores: “*Acinetobacter baumannii*” and “Brazil” and “Oxa 23”, conforme demonstrado na tabela 3.

Foram utilizados apenas estudos analíticos, portanto resumos e revisões não foram incluídos e foi avaliado somente infecções em seres humanos, descartando os trabalhos que avaliavam a presença destes microrganismos com amostras não humanas. Foram encontradas doze publicações, em que podemos verificar que de todos os estudos selecionados, apenas 5 (cinco) foram realizados no sul do Brasil e 2 (dois) estudos foram realizados no estado do Paraná e desses somente 1 (um) foi realizado com pacientes de UTI adulto e o outro não relatou o setor do hospital e qual idade dos pacientes em que foram obtidas as amostras. Sendo ainda que, apenas o estudo de Viana et al (2016) pesquisou a clonagem dos *A. baumannii* na UTI.

O período de acompanhamento dos estudos identificados variou de 4 (quatro) meses a 6 (seis) anos. Em todas as pesquisas foi relatada a presença do gene bla_{OXA23}, o qual pertence à classe D das beta-lactamases, em quase a totalidade de suas amostras. Na descrição do método, os estudos apontaram o uso da PCR para a pesquisa deste gene. Na pesquisa da clonagem presente em 63,63% dos estudos, foram utilizadas duas metodologias: PEPG/PFGE e ERIC-PCR.

Tabela 3- Estudos de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos carreadores do gene OXA-23 no Brasil, no período de 2014-2018.

<i>Autor, ano, estado</i>	<i>Tipo de estudo</i>	<i>Quantidade de hospitais</i>	<i>Pesquisa em UTI</i>	<i>Faixa etária</i>	<i>Número de amostras</i>	<i>Período de estudo</i>	<i>Genes prevalentes no estudo</i>	<i>Resistência aos carbapenêmicos</i>	<i>Metodologia para detectar genes OXA-23</i>	<i>Metodologia para pesquisa de clones</i>
<i>Chagas et al. 2015 Rio de Janeiro</i>	Descritivo	11	-	-	155	3 anos	OXA-23	100%	PCR	MLST
<i>Cortivo et al. 2015 Santa Catarina</i>	Descritivo	1	sim	Adulto	118	2 anos	OXA-23 e OXA-51	100%	PCR	-
<i>Pagano et al. 2015 Rio Grande do Sul</i>	Descritivo	3	-	-	122	1 ano	OXA-23 e OXA-51	73%	PCR multiplex	Macrorestrição com Apal * PEPG/PFGE
<i>Royer et al. 2015 Minas Gerais</i>	Coorte	1	sim	Adulto	29	1 ano	OXA-23	58,62%	PCR multiplex	Macrorestrição com Apal * PEPG/ PFGE
<i>Viana et al. 2016 Paraná</i>	Transversal	1	sim	Adulto	68	5 anos	OXA-23 e OXA-51	85%	PCR	ERIC-PCR**
<i>Kobs et al. 2016 Santa Catarina</i>	Descritivo	1	-	-	78	6 anos	OXA-51	88,5%	PCR multiplex	-
<i>Leite et al. 2016 São Paulo</i>	Descritivo	1	-	-	20	-	OXA-51 e OXA-23	100%	PCR	Macrorestrição com Apal * PEPG/ PFGE
<i>Neves et al. 2016 Minas Gerais</i>	Descritivo	1	Sim	Adulto	43	1 ano	OXA- 51 e OXA-23	100%	PCR	ERIC-PCR**
<i>Castilho et al. 2017 Goias</i>	Coorte	1	Sim	Adulto	84	6 meses	OXA-23 e OXA-51	76,8%	PCR	Macrorestrição com Apal * PEPG/ PFGE
<i>Rocha et al. 2017 Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Paraná e São Paulo</i>	Coorte	4	-	-	92	4 meses	OXA-51 e OXA-23	-	PCR	-
<i>França et al. 2018, Minas Gerais</i>	Coorte	1	-	-	-	-	OXA-23 e OXA-51	98,4%	PCR	-

Fonte: autor, 2019

* - não foi relato no artigo pesquisado

Nas cepas de *A. baumannii* as oxacilinases (Classe D) são divididas em 6 principais grupos: OXA-23(OXA-23, OXA-27 e OXA-49), OXA-24/40-like (OXA-24, OXA-25 , OXA-26, OXA-40, OXA-72 e OXA-160), OXA-58-like (OXA-96 e OXA-97), OXA-51-like e OXA -182 (restrito a Coreia do Sul) e OXA-143 (FIGUEIREDO, 2011; TIAN et al., 2011). Esta classe D das beta-lactamases se difere das demais devido ao fato de conter o composto serina no seu sítio ativo, as quais hidrolisam oxacilina, penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, tornando seu arsenal terapêutico bem restrito (POIREL; NAAS; NORDMANN, 2010).

De todos os grupos da oxacilinases, apenas a OXA-51 é composto por um gene intrínseco, enquanto os demais são compostas por genes adquiridos, o que torna a condição da presença deste gene de resistência muito utilizada para a caracterização taxonômica desta espécie (DIAS, 2015).

Mesmo que todas as cepas de *Acinetobacter* contenham o gene bla_{OXA-51} , nem todas são resistentes aos carbapenêmicos, isso ocorre devido ao fato que sua resistência aos carbapenêmicos só acontecer quando o elemento de inserção *ISAb1* estiver junto ao gene codificador desta enzima, ocasionando a super expressão e aumentando a resistência dessa cepa (CHAGAS et al., 2012).

De acordo com Bush e Jacoby (2010), oxacilinases são as beta-lactamases mais encontradas em *A. baumannii*, corroborando com a revisão acima em que todos os resultados que apresentaram alguma resistência continham o gene bla_{OXA-23} e/ou bla_{OXA-51} .

Frente a este cenário de resistência, o uso de carbapenêmicos está sendo substituída pelo uso de polimixina B e, principalmente, polimixina E (colistina). Entretanto, isolados de *A. baumannii* resistente a esses antimicrobianos também já foram relatados, preocupando os clínicos devido à alta limitação aos tratamentos (VIEIRA; PICOLI, 2015).

Produzida pela bactéria *Bacillus polimyxa*, a polimixina tem ação contra uma diversidade de bactérias Gram-negativas, a qual atua na membrana externa e membrana citoplasmática, devido ao seu carácter anfipático. Atuam ligando-se aos fosfolipídios e LPS, deslocando de forma competitiva os íons Ca^{++} e Mg^{++} que auxiliam na estabilidade da membrana, levando à lise celular e, conseqüentemente, à perda dos conteúdos intracelulares da bactéria, levando à morte (MENDES; BURDMANN, 2009; STORM; ROSENTHAL; SWANSON, 1977).

O uso das polimixinas iniciou no final da década de 50, porém rapidamente, em 1970, foi interrompido seu uso devido aos seus efeitos tóxicos, principalmente a nefrotoxicidade, dando espaço ao uso de novas drogas mais seguras. Porém, ao final no século XX, com o aumento de bactérias multirresistentes e a ausência de novos antimicrobianos, as duas polimixinas (A e E), voltaram em cena para atuar principalmente contra *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias (ROBERTS et al., 2015; POGUE et al., 2016).

A resistência das bactérias frente à polimixina tem sido muito relatada em isolados clínicos de enterobactérias, porém este gene de resistência estava geralmente relacionado com mutações cromossômicas, porém recentemente foi associado a um gene localizado em um plasmídio, o gene *mcr-1* (LIU et al., 2016).

Devido ao aumento da resistência bacteriana, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento proibiu o uso da colistina em dezembro de 2016, para o uso como promotor de crescimento animal, sendo permitido apenas para fins terapêuticos (BRASIL, 2016). Entretanto, a disseminação deste gene *mcr-1* no Brasil já ocorre desde 2016, sendo que primeiro caso foi em frangos e suínos, em abril e em outubro, em isolados de amostras clínicas, sendo que em ambos os casos foram encontradas em *E. coli* (FERNANDES et al., 2016).

No Paraná, Pilonetto et al. (2019), avaliaram amostras de bactérias Gram-negativas fermentadoras de glicose de várias cidades deste estado e encontraram entre os anos de 2016 e 2017, 26 isolados de *E. coli* que apresentaram o gene *mcr-1* e nenhum apresentou o gene para presença de KPC e New Delhi metalobetalactamase.

Mesmo que ainda não tenham sido relatados casos de *mcr-1* em *A. baumannii* no Brasil, já foi relatado por Hameed et al. (2019), um caso de *mcr-1* nesta espécie bacteriana em amostra de sangue no Paquistão. Já Bitar et al. (2019) encontraram o gene *mcr-4* em plasmídeo de *A. baumannii*, presentes em alimentos crus, sendo o primeiro caso desta resistência na Europa.

A facilidade de transmissão horizontal, através dos plasmídeo, é um fator preocupante, pois mesmo que a principal resistência usada por enterobactérias não fermentadoras ainda seja as carbapenemases, a associação de resistência tem aumentado muito e com isso facilita a disseminação de genes de resistência contra a polimixina e, sendo portanto fundamental a vigilância epidemiológica frente a todas as resistências (ANVISA⁴, 2016).

Tendo em vista a importância da resistência microbiana e o aumento do seu risco para a saúde pública, bem como a grande incidência em IRAS de cepas de *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos no Paraná, principalmente no âmbito hospitalar e à crescente resistência à polimixina, certifica-se a necessidade da identificação desses patógenos para a eficácia do tratamento e redução das taxas de morbimortalidade. Bem como avaliação dos fatores de risco relacionados ao paciente, justificando a realização deste trabalho para a pesquisa de resistência em *A. baumannii* em pacientes atendidos de um hospital do sudoeste do Paraná.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar fenotipicamente e molecularmente as amostras bacterianas identificadas como *A. baumannii* de um hospital do Paraná, correlacionando os fatores de virulência dos microrganismos e sua epidemiologia nas infecções hospitalares.

2.2 Específicos

Identificar a incidência de casos de *A. baumannii* resistente à múltiplas drogas em um hospital do sudoeste do Paraná;

Verificar o perfil de sensibilidade do *A. baumannii* aos antimicrobianos;

Avaliar a epidemiologia de *A. baumannii* em relação aos fatores de risco para infecção;

Averiguar a taxa de mortalidade total dos pacientes infectados por cepas de *A. baumannii* multirresistentes após a infecção;

Detectar a presença do gene bla_{OXA23};

Sondas a concentração de Sulfato de Polimixina B pelo método de microdiluição em caldo;

3. METODOLOGIA

3.1 – Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo de caso controle para identificar fatores associados à infecção e colonização por cepas de *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos em pacientes de um hospital do sudoeste do Paraná no período de janeiro de 2017 a junho de 2019.

3.2 – Procedimentos Éticos

O trabalho foi aceito pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do hospital pesquisado e do laboratório escola da União de Ensino do Sudoeste do Paraná (UNISEP), com os devidos esclarecimentos sobre a tese e assinatura do parecer de comprometimento do uso dos dados para apenas este fim, conforme anexo.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sob o número do parecer 3.441.114 CAAE: 15201619.1.0000.0107, conforme anexo.

3.3 – Local do Estudo

O estudo foi realizado no Hospital Regional Walter Alberto Pecóits (HRS), sendo este um hospital exclusivamente credenciado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o qual comporta nove (9) alas de internação (Emergência, UTI Neonatal, UTI adulto, Unidade de Cuidados Intermediários, Maternidade, Pediatria, Clínica Cirúrgica 1, Clínica Cirúrgica 2 e Clínica Médica), totalizando 130 leitos.

No local pesquisado segue-se protocolos desenvolvidos pelo próprio HRS para todos os procedimentos invasivos e para a desinfecção de leitos e equipamentos, bem como a capacitação periódica dos profissionais da assistência. Também é feito o controle do uso de antimicrobianos pela CCIH e isolamento dos pacientes detectados com bactérias multirresistentes. Ainda ocorre controle e notificação de todos os casos de *A. baumannii* resistente à múltiplas drogas pela CCIH conforme as exigências da Vigilância Sanitária, segundo a Resolução SESA nº 0674/2017.

O Laboratório de Microbiologia utilizado para o trabalho é um setor terceirizado do hospital, sendo que todas as culturas dos pacientes internados ou atendidos pelo setor ambulatorial são realizadas pela mesma. Para pesquisa a genética (presença do gene bla_{OXA23}) as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR), conforme a Resolução SESA nº0674/2010 e Resolução SESA nº096/2018.

3.4 – População e Amostra

A população da amostra foi todas as culturas que obtiveram positividade para *A. baumannii* resistente a mais de três (3) classes de antimicrobianos, obtidas de amostras de pacientes internados no HRS.

O valor total de pacientes internados de Janeiro de 2017 a Junho de 2019, foi de 19.301 e o número de culturas realizadas e analisadas foi de 13.876 amostras, sendo que foram selecionados apenas os pacientes que apresentaram resultados positivos para *A. baumannii* multirresistente, resultando em 33 pacientes, os quais estavam internados na UTI adulta, clínica cirúrgica 1 e clínica cirúrgica 2. Essas amostras então foram submetidas ao estudo transversal para análises descritivas, fenotípicas e genotípicas e o estudo caso-controle, para realizar os estudos de correlação. Esses pacientes foram então marcados como o grupo caso, composto de homens e mulheres que foram internados no hospital pesquisado, com idade superior aos 13 anos.

Os indivíduos selecionados como controle foram homens e mulheres, internados no mesmo hospital da pesquisa dos casos, que não apresentam resultados de culturas positivas para *A. baumannii*. Para cada caso foi selecionado dois controles pareados, sendo 33 casos e 66 controles, totalizando em 99 pacientes.

Os critérios utilizados para o pareamento foram: idade (a mesma idade, ou cinco anos para mais ou para menos que a idade do caso), mesmo ano de internamento, mesmo sexo e internamento no mesmo setor, conforme o fluxograma representado na figura 2.

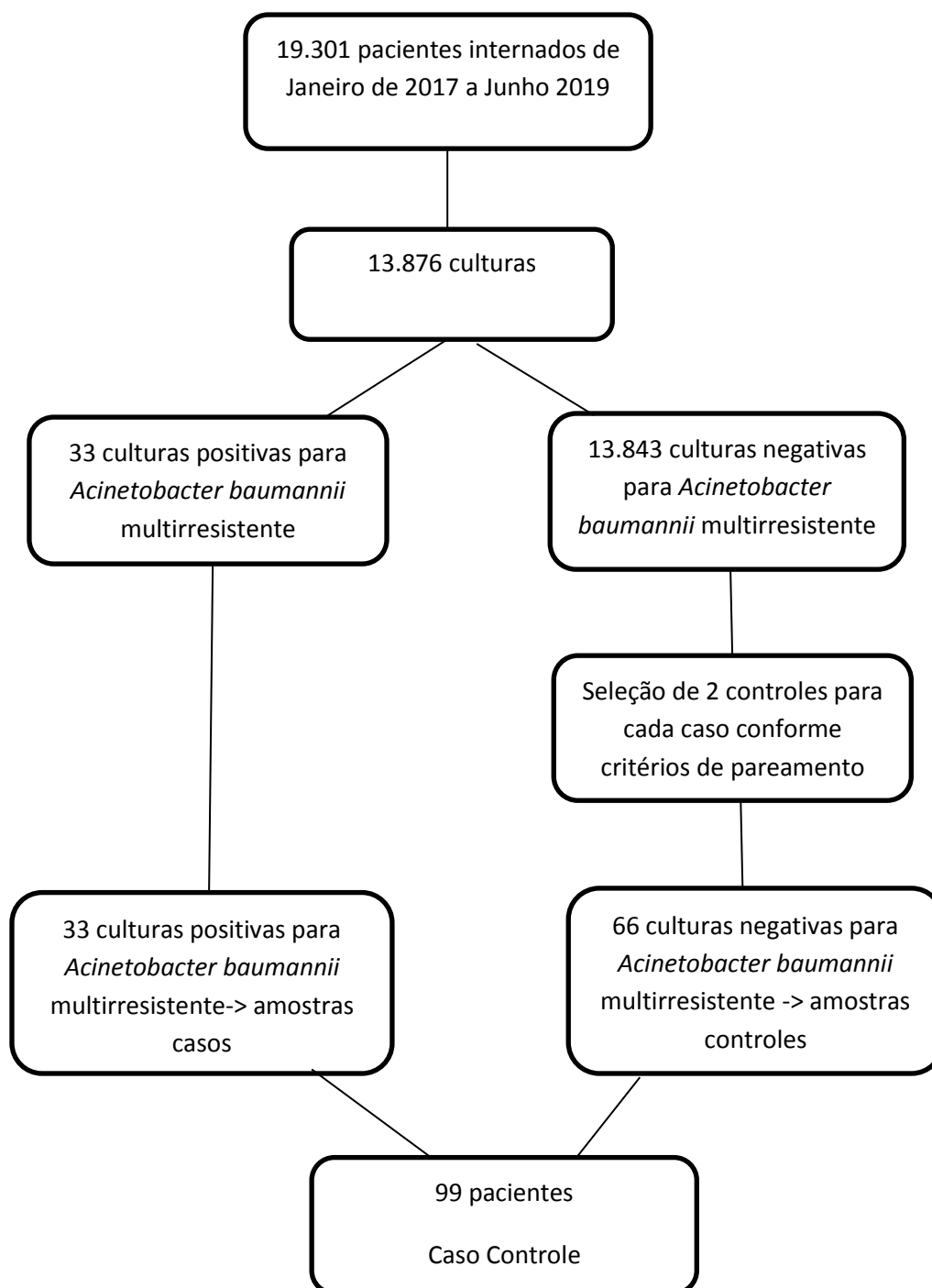


Figura 2 - Fluxograma do recrutamento do estudo e processo de triagem dos casos e controles.

Fonte: autor, 2019.

3.5 – Coleta de Dados

A coleta dos dados dos anos de 2017 a 2019, foi realizada nos meses de Julho a Setembro de 2019, após a aprovação do CEP e assinatura pela chefe da

CCIH do hospital que fez parte desta pesquisa e o responsável pelo laboratório UNISEP, conforme em anexo.

3.5.1 – Instrumento de Coleta de Dados

Todos os dados dos pacientes foram obtidos através do formulário realizado especificamente para este fim (Anexo). Todas as informações clínicas dos pacientes foram obtidas pelas fichas de vigilância epidemiológica da CCIH e quando necessário foi realizado a pesquisa direta no prontuário de cada enfermo. As informações microbiológicas realizadas no laboratório da UNISEP foram acompanhadas de Janeiro de 2017 a Junho de 2019 e os informes referente a pesquisa genotípica foram realizadas através de dados fornecidos pelo LACEN-PR.

As informações de cada paciente foram agrupadas com: dados demográficos: idade, sexo, tempo de permanência internado no setor até a positividade da cultura, procedência de entrada no hospital (encaminhado de outro hospital ou direto da comunidade) e setor de internação (UTI e clínica cirúrgicas 1 e 2). Dados clínicos: diagnóstico de internação (morbidade), uso de dispositivo invasivo (tipo de sonda, cateter central e periférico, entubação), uso de antimicrobianos (qual o medicamento), procedimento cirúrgico e desfecho do paciente (alta hospitalar/óbito); para os dados microbiológicos: microrganismo isolado, perfil de resistência aos antimicrobianos, sitio de isolamento, pesquisa do gene *bla_{OXA23}*, testes fenotípicos e testes de microdiluição e macrodiluição para Polimixina das cepas de *A. baumannii* multirresistentes.

3.6 – Isolamento e Identificação

A coleta dos materiais foram realizadas conforme avaliação e critério médico através da equipe de enfermagem, técnicos de enfermagem, fisioterapeutas e técnicos de laboratório, os quais foram devidamente treinados para a realização da assistência ao paciente e por fim os mesmos foram encaminhados ao laboratório UNISEP.

As amostras foram semeadas em meios específicos para o desenvolvimento dos microrganismos (Ágar MacConkey e Agar Sangue) e

incubados por 24 horas a 35°C em estufa bacteriológica, no setor de microbiologia.

A identificação dos *A. baumannii* foi realizada por métodos manuais: reação de citocromo-oxidase, fermentação de glicose, motilidade, atividade de diidrólise de arginina, descarboxilação da lisina e coloração de Gram. A sua confirmação da identificação manual foi realizada através do Vitek 2 (bioMérieux®, Marcy-LÉtoile, France) e a presença do gene *bla_{OXA-23}*, foi realizado através do PCR, no LACEN-PR.

3.7 – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA)

O perfil de sensibilidade dos isolados de *A. baumannii* foi determinada pelo método de disco difusão. Para esta técnica utilizou-se uma diluição na escala de 0,5 McFarland, através da diluição de 3 a 5 colônias em 5 mL de caldo soja tripcaseína (TSB) da marca Laborclin®, incubou-se a 37°C até atingir a escala correspondente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Após a escala padronizada, com auxílio de um swab estéril, realizou-se a semeadura em Agar Mueller-Hinton e aplicou-se os discos de antimicrobianos: amicacina(30µg), ampicilina/sulbactan(10-10µg), cefepime(30µg), ciprofloxacino(5µg), gentamicina(10µg), imipenem(10µg), meropenem(10µg), doxiciclina(30µg), ceftriaxona(30µg), todos da marca Laborclin®, os quais foram incubados por 24 horas a 37°C e posteriormente foi realizada a leitura dos halos conforme Protocolos M100 do CLSI (CLSI, 2017; CLSI, 2018; CLSI, 2019) e BrCast (2019).

As amostras que obtiveram resistência a mais de 3 classes de drogas, incluindo os carbapenêmicos, foram encaminhadas ao LACEN para pesquisa do gene *bla_{OXA23}*, conforme a Resolução SESA nº0674/2010 e Resolução SESA nº096/2018.

3.8 – Teste de Microdiluição

Para o teste de microdiluição foi realizado através do método ISO 20776-1 (2006). O método utilizou o antimicrobiano Sulfato de Polimixina B, juntamente com 50 µL de CMHCA em todos os 96 poços (com exceção da primeira coluna) da placa de Elisa, com exceção da primeira coluna que foi adicionado 100 µL de CMHCA contendo 128 mg/L de Polimixina B. Diluições sucessivas de (50 µL) foi

efetuado utilizando pipeta multicanal, excetuando-se da última coluna. Seguidamente foi inoculado a diluição da suspensão bacteriana realizada em salina estéril com turbidez de 0,5 McFarland, a qual foi diluída em uma concentração final de $1,5 \times 10^6$ UFC/mL em CMHCA, utilizando 50 μ L em cada poço, obtendo a concentração final de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL de inoculado em cada poço. Incubou-se por 16-20 horas a 35°C em câmara úmida e posteriormente foi realizado a interpretação.

Como controle de qualidade foi realizado a mesma análise com as cepas de *E. coli* ATCC 25922 para averiguação dos resultados a cada 4 análises realizadas com as cepas de *A. baumannii*.

3.9 – Análise Estatística

Frequências absolutas (n) e relativas (%) foram utilizadas para a descrição das características amostrais dos pacientes e do perfil de resistência do *A. baumannii*. Para o detalhamento das variáveis foram utilizadas medidas de tendência central (média e mediana) e dispersão (desvio-padrão e amplitude interquartil). A normalidade da distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação das variáveis com distribuição normal foi realizada pelo teste t de Student para amostras independentes. Já o teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado quando a distribuição dos dados não atendeu o pressuposto da distribuição normal.

Para as variáveis categóricas, a comparação entre casos e controles foi realizada por meio do teste de Qui-quadrado, com correção de continuidade. As variáveis que apresentaram $p < 0,20$ nessa análise foram levadas ao modelo de regressão logística binária e inseridas no modelo do menor valor de p ao maior. A única exceção foi a variável “uso de dispositivos invasivo”, a qual não pode ir para a modelagem por não ter casos na categoria “não”. Das quatro variáveis levadas ao modelo de regressão, três compuseram o modelo final (ajustado). Odds ratio (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram utilizados como indicadores de efeito da regressão logística. Todas as análises foram realizadas no programa SPSS 25.0, considerando $p < 0,05$.

4. REFERÊNCIAS

¹ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boletim Segurança do Paciente e **Qualidade em Serviços de Saúde nº 16: Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência microbiana do ano de 2016. 2017.** Disponível em: <file:///D:/Documentos/Downloads/BOLETIM_IRAS_2016_16%20(2).pdf> . Acesso em: 05 fev. 2019.

²ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/3507912/Caderno+4+-+Medidas+de+Preven%C3%A7%C3%A3o+de+Infec%C3%A7%C3%A3o+Relacionada+%C3%A0+Assist%C3%A2ncia+%C3%A0+Sa%C3%BAde/a3f23dfb-2c54-4e64-881c-fccf9220c373>>. Acesso em 30 jan. 2019.

³ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa nacional de prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (2016-2020).** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/3074175/PNPCIRAS+2016-2020/f3eb5d51-616c-49fa-8003-0dcb8604e7d9>>. Acesso em 30 jan. 2019.

⁴ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **COMUNICADO DE RISCO Nº 01/2016 – GVIMS/GGTES/ANVISA. Detecção do gene responsável pela resistência à polimixina mediada por plasmídeos (mcr-1) no Brasil.** 2016.

⁵ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Interpretação de Dados Microbiológicos.** 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/metodos1.htm>. Acesso em: 25 abr. 2019.

AGARWAL, S. et al. Emergence of Carbapenem Resistant Non-Fermenting Gram-Negative Bacilli Isolated in an ICU of a Tertiary Care Hospital. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. V. 11 n. 1. 2017.

AMBLER, R. P. The Structure of β -lactamases. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. **Biological Sciences**, v. 289, p. 321-331, 1980.

ANTUNES, L. C. S.; VISCA, P.; TOWNER, K. J. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. Pathogens and Disease. V. 71, n.3. p. 292-301. 2014.

BAROUD, M. et al. Underlying mechanisms of carbapenem resistance in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates at a tertiary care centre in Lebanon: role of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases. **Int. J. Antimicrob. Agents**. v.41,n.1, p. 75–79. 2013.

BITAR, I. et al. Complete nucleotide sequences of mcr-4.3 -carrying plasmids in *Acinetobacter baumannii* ST345 of human and food origin from the Czech Republic; first case in Europe. **American Society for Microbiology**. 2019.

BRASIL. Instrução Normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016. **Proíbe, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 30 nov. 2016. Seção 1, p. 6.

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. BrCAST; 2019. Version 9.0.

BUENAHORA, R. D. R. et al. *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. **Méd.UIS**. v. 29. N. 2. P. 113-135. 2016.

BUSH, K.; JACOBY, G.A. Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrob. **Agents Chemother**. v.54, n.3, p. 969–976. 2010.

CASTILHO, S. R. A. et al. *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility Profiles. **Plos One**. 2017.

CAVALCANTI, C.L.B. **Tipagem molecular de genes de resistência e virulência associado à expressão gênica em isolados de *Acinetobacter baumannii* submetidos a antimicrobianos**. 2017. Tese (Mestrado em Medicina Tropical) - Pós-Graduação em Medicina Tropical. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

CERQUEIRA, G. M; PELEG, A. Y. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. **IUBMB Life**. v. 63. p. 1055-1060. 2011.

CHAGAS, T. P. G. **Caracterização de *Acinetobacter spp.* multirresistentes produtores de carbapenemases, dos tipos OXA e NDM, isolados de diferentes regiões do Brasil**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências) – Pós-Graduação em Medicina Tropical. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.

CHAGAS, T. P. G. et al. Molecular epidemiology of an outbreak of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the ISAba1-*bla*OXA-51-like genes in a Korean Hospital. **Japan Journal of Infectious Disease**. V. 65, p. 162-166. 2012.

CHOW, J.Y. et al. Disruption of biofilm formation by the human pathogen *Acinetobacter baumannii* using engineered quorum-quenching lactonases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.58, n. 3, p. 1802–1805. 2014.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 27th ed. USA. January. 2017.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 28th ed. USA. January. 2018.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 29th ed. USA. January. 2019.

COELHO, M. J. A. N. V. ***Acinetobacter baumannii* uma realidade hospitalar.** 2012. Dissertação (Mestrado de Gestão e Economia da Saúde) – Pós-Graduação de Economia de Coimbra. Universidade de Coimbra. Coimbra.

CONWAY, B. D.; VENU, V.; SPEERT, D. P. Biofilm formation and acyl homoserine lactone production in the Burkholderia cepacia complex. **J Bacteriol** v. 184 p.5678-5685. 2002.

CORTIVO, G. D. et al. Antimicrobial resistance profiles and oxacillinase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** V. 48, n. 6, p. 699-705. 2015.

DIAS, V. C. **Resistência aos Carbapenêmicos e Virulência de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* Isolados de um Serviço de Saúde Terciário.** 2015. Tese (Dourado em Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias) – Pós-Graduação em Ciência Biológicas. Instituto de Ciências Biológicas. Juiz de Fora.

EIJKELKAMP, B. A. et al. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of *Acinetobacter baumannii*. **BMC Genomics**, v.15, p. 1-12. 2014.

FERNANDES, M. R. et al. First report of the globally disseminated IncX4 plasmid carrying the mcr-1 gene in a colistin-resistant *Escherichia coli* sequence type 101 isolate from a human infection in Brazil, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 60, p. 6415-6417. 2016.

FIGUEIREDO, D. Q et al. Primeiro relato do gene bla (OXA-58) em um isolado clínico de *Acinetobacter baumannii* no Rio de Janeiro, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** , v.106, n. 3, p. 368-70, 2011.

FRANÇA, R.O. **FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA DE AMOSTRAS CLÍNICAS DE *Acinetobacter baumannii*: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA E ANÁLISE DA INTERFERÊNCIA DESTES FATORES NA EVOLUÇÃO E RESOLUÇÃO DOS PROCESSOS**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Pós-Graduação em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

FRANÇA, R. O. et al. Molecular association of pathogenicity and resistance to multiple antimicrobials in *Acinetobacter baumannii* strains recovered from patients with diverse infectious diseases. **J Bras Patol Med Lab**. V. 54, n. 5. P. 288-295. 2018.

GIAMMANCO, A. et al. Global assessment of the activity of tigecycline against multidrug-resistant Gram-negative pathogens between 2004 and 2014 as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. **mSphere**. V.2, n.1. 2017.

GONG, Y. et al. Epidemiology and resistance features of *Acinetobacter baumannii* isolates from the ward environment and patients in the burn ICU of a Chinese hospital. **Journal of Microbiology**. V. 54, N. 8, p. 551–558. 2016.

HAMEED, F. et al. Plasmid-mediated mcr-1 gene in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: first report from Pakistan. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. V. 52. 2019.

HERITIER, C.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAb₁ in *Acinetobacter baumannii*. **Clin Microbiol Infect**, v. 12, n. 2, p. 123-30. 2006.

Howard A. et al. *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. **Virulence**. V. 3. N. 3. P. 243-250. 2012.

JUNIOR, M. A. S.; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de espectro ampliado (ESBL): Um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. **Rev NewsLab**. V. 63. P. 152-174. 2004.

KENYON, J. J., HALL, R. M. Variation in the complex carbohydrate biosynthesis loci of *Acinetobacter baumannii* genomes. **PLoS One**, v. 8, n. 4. 2013.

Kim, U. J. et al. Update on the epidemiology, treatment, and outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter* infections. **Chonnam Med J.** v. 50. N. 2. P. 37-44. 2014.

KOBS, V.C. et al. The role of the genetic elements *bla_{oxa}* and IS *Aba 1* in the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex in carbapenem resistance in the hospital setting. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** V. 49. N. 4. 2016.

LAVIGNE, J. P. et al. An adaptive response of *Enterobacter aerogenes* to imipenem: regulation of porin balance in clinical isolates. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 41, n.2, p.130–136. 2013.

LEE, J. C. et al. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. **Res Microbiol**; v. 6. P.157-360. 2006.

LEE, C. et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. **Frontier in Cellular and Infection Microbiology**. V.7. 2017.

LEE, J. C. et al. Apoptotic cell death induced by *Acinetobacter baumannii* in epithelial cells through caspase-3 activation. **APMIS**, v. 109, n. 10, p. 679-684. 2001.

LEITE, G. C. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human being in China: a microbiological and molecular biological study, **The Lancet Infectious Diseases**. v. 16, p. 161- 168. 2016

LIU, Y. Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human being in China: a microbiological and molecular

biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 16, p. 161- 168, 2016.

LOB, S. H. et al. Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. **Int. J. Antimicrob.** V.47, n.4. p.317–323. 2016.

MENDES, C.A.C; BURMANN, E.A. Polimixinas - revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade. **Rev Assoc Med Bras**, V. 55, N. 6, P. 752-759. 2009.

MEYER, G; PICOLI, S.U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** V. 47, n.1, 2011.

MOREIRA, M. G. **Avaliação de métodos moleculares para detecção de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes recuperados de pacientes com suspeita de pneumonia associada à ventilação mecânica.** 2017. Tese (Dourado em Microbiologia) – Pós-Graduação em Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

NARAYANAN, S. Molecular epidemiology of tuberculosis. **Indian J Med Res.** v. 120, p. 233-247, 2004.

Nemec, A. et al. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcaoceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. **Research in Microbiology.** V. 162, p. 393-404. 2011.

NEVES, F. C. et al. A. Clinical and microbiological characteristics of OXA-23- and OXA-143-producing *Acinetobacter baumannii* in ICU patients at a teaching hospital, Brazil. **BRAZ J INFECT DIS.** V. 20, n. 6. p. 556-563. 2016.

OLIVERIA, M. E. F.; ARAUJO, D. G.; OLIVEIRA, S. R. Resistance of non-fermenting Gram-negative bacilli isolated from blood cultures from an emergency hospital. **J Bras Patol Med Lab.** v. 53, n. 2, p. 87-91. 2017.

Organização Mundial de Saúde¹. (OMS). **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**. 2017.

Organização Mundial de Saúde². (OMS). **GLOBAL ACTION PLAN ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE**. 2015. WHO. Disponível em: <http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf> Acesso em: 05 mai. 2019.

OTEO J.; PÉREZ-VÁZQUEZ M.; CAMPOS J. Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. **Curr Opin Infect Dis**. V. 23. P. 320-326. 2010.

PAGANO, M. et al. High Endemic Rates of OXA-23-Producing Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates Caused by the Persistence of Major Clones in Hospitals in a Brazilian City 5 Years After an Outbreak. **Infection Control & Hospital Epidemiology**. 2015.

PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. **Clin Microbiol Rev**. v. 21. p. 538-582. 2008.

PILONETTO, M. et al. Low level of polymyxin resistance among nonclonal *mcr-1*-positive *Escherichia coli* from human sources in Brazil. **Diagn Microbiol Infect Dis**. V.93. n.2, p.140-142. 2019.

POGUE, J.M. et al. Are there any ways around the exposure-limiting nephrotoxicity of the polymyxins?. **International Journal of Antimicrobial Agents**. V. 48, p. 622-626. 2016.

POIREL, L.; NAAS, T.; NORDMANN, P. Diversity, epidemiology and genetics of class D beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. V. 49. P. 1708-1713. 2010.

PONTES, D. S. et al. Genetic Mechanisms of Antibiotic Resistance and the Role of Antibiotic Adjuvants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 42–74, 2018.

POULOU, A. et al. Outbreak caused by an ertapenem-resistant, CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 101 clone carrying an OmpK36 porin variant. **J. Clin. Microbiol.**v.51, n. 10, p.3176–3182. 2013.

QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clinical Microbiology Review**, v. 20, p. 440 – 458. 2007.

REMENTERIA, A. et al. Comparative evaluation of three commercial software packages for analysis of DNA polymorphism patterns. **Clin Microbiol Infect**, v. v. 7, n. 6, p. 331-6, jun. 2001.

ROBERTS, K. D. et al. Antimicrobial activity and toxicity of the major lipopeptide components of Polymyxin B and Colistin: Last-line antibiotics against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. **ACS Infect Dis**. V.1 n.1, p. 568-575. 2015.

ROCHA, C. K. D. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil: susceptibility profile and diversity of oxacillinases. **J Bras Patol Med Lab**, v. 53, n. 6, p. 358-361. 2017.

RODRIGUES, F. C. B.; MESQUITA, A. R. C. Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência. **RBAC**. V. 48, N. 2. P. 129 -132. 2016.

ROYER, S. et al. Spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* clones in patients with ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit at a university hospital. **Braz J Infect Dis**. V. 19, n. 4, p. 350-357. 2015.

SADER HS; JONES RN. Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric gram-negative bacilli. **Int J Antimicrob Agents**. V.25. p.95-109. 2005.

SCARCELLA, A. C. A.; SCARCELLA, A. S. A.; BERETTA, A. L. R. Zeni. Infecção relacionada à assistência à saúde associada a *Acinetobacter baumannii*: revisão de literatura. **RBAC**. V. 49, n.1, p. 18-21. 2017.

SCHWARTZ, D.C.; CANTOR, C. Ft. Separation of Yeast Chromosome-Sized DNAs by Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis. **Cell**, V. 37, p.67-75. 1984.

SESA/PR. **Boletim Informativo**. 2018. Disponível em: http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIMSONIH_JAN_JUL_2018.pdf. Acessado em: 11 mar. 2019.

SESA/PR. **RESOLUÇÃO SESA nº 096/2018**. Disponível em: http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/---_Resolucoes2018/96_18.pdf. Acessado em: 11 mar. 2019.

SESA/PR. **RESOLUÇÃO SESA Nº 0674/2010**. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/Resolucoes2011/Resolucao6742010.pdf>. Acessado em: 11 mar. 2019.

SILVA, R.N.P. **A Importância do *Acinetobacter baumannii* na Infecção Adquirida nos Cuidados de Saúde**. 2009. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Pós-Graduação em Ciências Biomédicas. Universidade do Porto. Porto.

SIMÕES, A. S. M. **Contribuição do efluxo para a aquisição de resistência aos antibióticos em isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii***. 2016. Dissertação (Mestrado de Microbiologia) – Unidade de Ensino e Investigação em Microbiologia Médica, Universidade Nova de Lisboa – Lisboa, Portugal.

SRINIVASAN, V. B; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN, G. AbuO, a tolC-like outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*, is involved in antimicrobial and oxidative stress resistance. **Antimicrob Agents Chemother**. V. 59. N. 2. P. 1236 – 1245. 2015.

STORM, D. R; ROSENTHAL, K. S; SWANSON, P. E. Polymyxin and related peptide antibiotics. *Ann. Rev Biochem*, v. 46, p. 723 -763. 1977.

SUGAWARA, E; NIKAIDO, H. OmpA Is the Principal Nonspecific Slow Porin of *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol*. V. 194. N. 15. P. 4089-1096. 2012.

TIAN, G. B. et al. Identificação de diversas carbapenemases do grupo OXA-40, incluindo uma nova variante, OXA-160, de *Acinetobacter baumannii*, na Pensilvânia. *Antimicrob Agents Chemother* , v. 55, n. 1, p. 429-32, 2011.

VANEGAS-MÚNERA, J. M.; RONCANCIO-VILLAMIL, G.; JIMÉNEZ-QUICENO, J. N. *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *Rev CES Med*. V. 28, n.2. p.233-246. 2014.

VERDI, C.M. et al. Detecção laboratorial dos mecanismos de resistência da *Klebsiella pneumoniae*: uma revisão. *Revista Saúde Integrada*, v. 9, n. 17, 2016.

VIANA, G. F. et al. ISAbal1/blaOXA-23: A serious obstacle to controlling the spread and treatment of *Acinetobacter baumannii* strains. *American Journal of Infection Control*. V. 44, n. 5. P. 593 – 595. 2016.

VIEIRA, P. B.; PICOLI, S. U. *Acinetobacter baumannii* Multirresistente: Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections. *Expert Opin Pharmacother*. V. 9. V. 4. P. 587-599. 2015.

WALSH, T.R. Emerging carbapenemases: a global perspective. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Associated factors of *Acinetobacter baumannii* isolated in hospitalized patients in the state of Paraná, Brazil: A case-control study

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii* is classified as a critical microorganism for drug resistance due to its high ability to acquire genes that allow its survival when exposed to antimicrobials and sterilization processes. This study aimed to analyze the factors associated with *A. baumannii* infection and colonization in hospitals.

Method: Case-control study (33 cases and 66 controls) carried out with hospitalized patients between January 2017 to June 2017 at an institution located in the State of Paraná southwest region, Brazil. Demographic, microbiological, and clinical variables were collected from each patient. The cases were from patients who obtained positive culture results for *A. baumannii* resistant to more than three antimicrobial classes. For selecting cases and controls, results from microbiological cultures were matched by age, gender, and hospitalization sector. A logistic regression analysis was used to identify associated risk factors.

Results: Death (OR = 3.25; 95%_{CI}: 1.06 – 9.91; p=0.039), tracheal aspirated material (OR= 4.48; 95%_{CI}:1.55 -13.00; p= 0.006) and the length of hospitalization until the realization of the culture (OR = 1.13; 95%_{CI}: 1.06 – 1.21; p<0.001) were the main risk factors associated with the presence of *A. baumannii*.

Conclusion: This study provides evidence that *A. baumannii* infection is linked with death, higher length of hospitalization until the conclusion of culture tests and use of mechanical ventilation due to tracheal aspiration. These evidences are essential for designing preventive programs related to hospital infection and for strategies in antimicrobial treatment.

Keywords: Risk factors; *Acinetobacter baumannii*; Epidemiology; Hospital Infection; Multi-bacterial pharmacoresistance.

Introduction

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) has contributed to an increase in health-related infections (HRI). HRI is considered a serious problem in the realm of

public health since it adds costs to institutions due to extended length of hospitalization, necessity of antimicrobials usage, and also because HRI increases morbidity and mortality in hospitals¹⁻². It has been estimated a cost of 651 US dollars per day associated with HRI, and up to 1780 US dollars in intensive care units; in Brazil, the cost might be up to threefold higher in patients with HRI when compared to those without infection³.

According to the World Health Organization (WHO), *A. baumannii* resistant to carbapenems - along with *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* – are classified with critical priority resistance. This is due to their high ability to acquire genes that allow survival when exposed to antimicrobials and sterilization processes⁴⁻⁵.

Being a colonizing microorganism, *A. baumannii* has greater chances of causing infections in intensive care unit (ICU) patients using both antimicrobial and invasive devices, making the treatment difficult⁶. In the early 1970s, these microorganisms were easily controlled by aminoglycosides, nalidixic acid, and ampicillin. However, this scenario has changed, and currently most strains have shown resistance to most antimicrobial classes, including carbapenem and 3rd and 4th cephalosporins generations, which have already been considered as great treatment options⁷.

Considering the importance of microbial resistance and its increased risk to public health, along with limited information on the resistance rates of *A. baumannii* in developing countries and in the various hospital sectors, studies that identify risk factors of this pathogen are needed. Hence, the aim of the investigation was to analyze the associated factors of *A. baumannii* infection/colonization in hospitalized patients.

Material and methods

The sample of this study comprised hospitalized patients at the Walter Alberts Pecoits Regional Hospital (HRS), located in the Brazilian municipality of Francisco Beltrão, Paraná. The institution is situated within the Paraná 8th health division, comprising 27 municipalities and around 357.296 inhabitants. This region has 0.741 as the Human Development Index and an Index of Educational Development of 6.5⁸.

Samples of each case were composed by cultures (biological material and vigilant culture), taken from all admitted patients between January 2017 to June 2019 with positive results for *A. baumannii* resistant to three antimicrobial classes. In total, 33 cases were obtained. The controls were selected from patients admitted to the hospital who did not present positive results for *A. baumannii*. Two controls were selected for each case (N=66), being all taken in the same year and same sector of hospitalization. Controls were also matched by sex and age (same age or ± 5 years) (Figure 1).

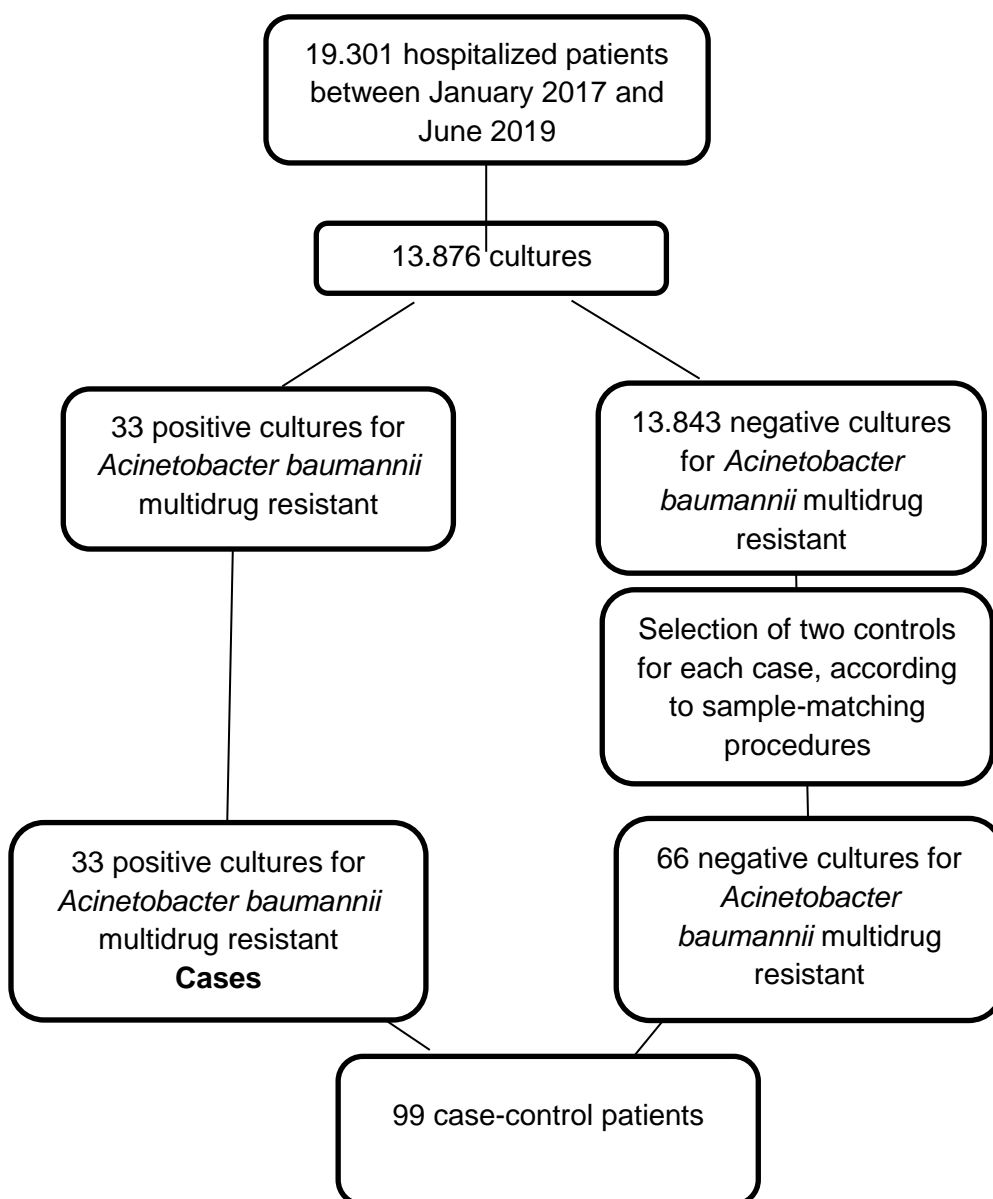


Figure 1 - Study's flowchart and screening procedures for cases and controls.

Data were extracted from both laboratory reports and results from the hospital's commission for infection control. In every sector of the hospital, a routine was established in which all patients who presented eligible criteria (as given by physicians) had their biological material collected in order to investigate the presence of infection/ colonization. These materials were sent to a laboratory certified by the institution. The samples were placed in specific conditions for micro-organisms development (MacConkey agar and blood agar), and incubated in a bacteriological greenhouse for 24 hours at 35°C.

A. baumannii identification was performed using the following methods: cytochrome oxidase reaction, glucose fermenting, motility, arginine dihydrolase, lysine decarboxylation, and Gram-staining. The confirmation of *A. baumannii* identification was carried out through Vitek 2 (bioMérieux®, Marcy-L'Étoile, France), and the presence of bla_{oxa-23} gene was carried out through PCR.

The sensitivity profile of *A. baumannii* isolated was determined by the disc diffusion method. A 0/5 McFarland dilution was used, diluting three to five colonies in 5 mL of tryptic soy broth (Laborclin®). These were incubated at 37°C until the 1,5x10⁸UFC/mL scale was reached. After this, cultivation was performed with the aid of a sterilized swab in Mueller-Hinton agar, and the following antimicrobial discs were applied: amikacin (30µg), ampicillin/sulbactam (10-10µg), cefepime (30µg), ciprofloxacin (5µg), gentamicin (10µg), imipenem (10µg), meropenem (10µg), doxycycline (30µg), ceftriaxone (30µg). All these discs were produced by Laborclin®, incubated at 37°C for 24 hours. Halos were read according to the guidelines from the Clinical Laboratory Standards Institute (2017⁹, 2018¹⁰, and 2019¹¹) and the BrCast 2019¹².

After selecting cases and controls, the following variables were tested: length of hospitalization until positive culture tests results, form of admission into the hospital (i.e., transferred from another hospital or from the community), sector of hospitalization (i.e., intensive care unit [ICU] and surgical center), diagnosis, use of invasive device (central and peripheral catheter, intubation, probe), antimicrobial usage, surgical procedure, and outcome (discharge or death). For microbiological data, the isolated microorganism, the antimicrobial resistance profile, the site of isolation, the resistant-gene, and phenotypic tests were inspected.

Relative (%) and absolute (n) frequencies were used to describe the characteristics of the sample. Moreover, measures of central trend (i.e., means)

and dispersion (standard deviations) were investigated. The Kolmogorov-Smirnov test was deployed to examine the normal distribution. Variables with a normal distribution were compared using Student's t test, while the Mann-Whitney test was used for non-parametric variables.

For categorical variables, comparisons between cases and controls were performed using the chi-square test with continuity correction. From these analyses, those with a p value below 0,20 were included in binary logistic regression models. Odds ratio (OR) and adjusted OR, along with a 95% confidence intervals (CI) were used as indicators of the effect of regression analyses. The SPSS, version 25.0, was used and a p value below 0,05 indicated significant results.

Results

Among those with positive culture results for *A. baumannii*, 9 cases were reported in 2017, 12 in 2018 and 12 in 2019. A higher number of cases was found in ICU and among males (Appendix 1). Table 1 presents patients clinical data, and indicates that samples taken from tracheal aspiration were more prevalent in respect to isolated *A. baumannii* (n=20), presenting also a higher number of discharges (n=18) than deaths (n=15). According to Table 1, trauma was the most common diagnosis (n=8). Only three samples that underwent TSA tests for doxycycline resulted in resistance for this antimicrobial, albeit all samples were sensitive to polymyxin B MIC values ($\leq 2,0$ mg/L). *A. baumannii* incidence was 0,21%, 0,15% and 0,17% in 2017, 2018 and 2019, respectively. All reported cases of *A. baumannii* were resistant to carbapenem and carried the gene *bla_{oxa-23}* (Table 1).

Table 2 presents the general sample characteristics. When the matching criteria for cases and controls were compared, no significant differences were noted in age, year and sector of hospitalization. Nonetheless, cases had higher length of hospitalization until the positive culture results ($p < 0,001$) and were mostly admitted from other institutions ($p = 0,038$). All cases used invasive devices. Moreover, higher relative cases of death ($p = 0,024$) and higher frequencies of *A. baumannii* in the tracheal aspirated material ($p = 0,001$) were found in cases in comparison to controls. Mortality rates in patients with

Table 1 – Patients clinical data and genetic characteristics of isolated *A. baumannii* in 33 patients with positive culture results for *A. baumannii* (January 2017 to June 2019).

Nº	Gender and age	Length of hospitalization until the positive culture results	Length of hospitalization (days)	Diagnosis	Sensibility	Outcome	Sample	Polymyxin MIC values (mg/L)	Resistant-gene
1	M/49	21	31	Pancreatitis	-	Discharge	Rectal swab	<0,125	Oxa_23
2	F/26	45	89	Cholelithiasis	AMI, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
3	M/14	15	36	Pancreatitis	AMI, SUT, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	0,25	Oxa_23
4	F/18	44	85	Trauma	AMI, SUT	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
5	F/91	25	30	Incisional hernia	-	Death	Rectal swab	0,25	Oxa_23
6	M/58	2	27	Pneumonia	AMI, DOX, ASB	Discharge	Tracheal aspirated I	0,25	Oxa_23
7	F/76	7	41	Pneumonia	AMI, SUT	Death	Wound	0,125	Oxa_23
8	M/60	28	55	Renal failure	AMI, ASB, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
9	M/60	28	55	Renal failure	AMI, DOX	Discharge	Urine	0,125	Oxa_23
10	M/72	3	65	Trauma	AMI, ASB, DOX	Discharge	Urine	0,25	Oxa_23
11	M/87	60	95	Sepsis	AMI, ASB, DOX	Death	Urine	<0,125	Oxa_23
12	M/82	22	36	Renal failure	AMI, ASB, DOX	Death	Urine	0,25	Oxa_23
13	M/72	13	70	Ischemic cardiomyopathy	AMI, ASB, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	<0,125	Oxa_23
14	F/70	12	65	Pneumonia	-	Death	Rectal swab	0,125	Oxa_23
15	M/20	13	39	Trauma	AMI, LVX, ASB, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	<0,125	Oxa_23

16	F/56	18	41	Diabetes	-	Discharge	Rectal swab	0,25	Oxa_23
17	F/76	6	10	Pneumonia	AMI, SUT, DOX	Death	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
18	F/37	18	47	Diabetes	AMI, SUT, DOX	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
19	F/37	18	47	Diabetes	AMI, SUT, DOX	Discharge	Urine	0,125	Oxa_23
20	M/72	14	27	Trauma	AMI, ASB, DOX, LVX	Death	Tracheal aspirated	1,00	Oxa_23
21	M/38	9	22	Trauma	AMI, ASB	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
22	M/68	1	4	Pneumonia	LVX, ASB, DOX	Death	Tracheal aspirated	0,25	Oxa_23
23	M/57	6	13	Coronary Artery Disease	AMI, ASB, DOX	Death	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
24	F/31	27	48	Trauma	DOX, ASB	Discharge	Sputum	<0,125	Oxa_23
25	M/88	15	16	Urinary tract infection	DOX, ASB,	Discharge	Urine	0,25	Oxa_23
26	M/47	11	23	Stroke	DOX	Death	Tracheal aspirated	0,25	Oxa_23
27	F/82	11	17	Sepsis	DOX, ASB	Death	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
28	F/82	13	17	Sepsis	DOX, ASB	Death	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
29	M/52	20	50	Trauma	DOX	Discharge	Tracheal aspirated	0,125	Oxa_23
30	M/29	15	43	Trauma	DOX	Discharge	Tracheal aspirated	2,00	Oxa_23
31	M/58	31	31	Sepsis	DOX	Death	Tracheal aspirated	0,25	Oxa_23
32	M/58	23	31	Sepsis	DOX	Death	Wound	0,25	Oxa_23
33	F/67	10	10	Respiratory failure	DOX, ASB	Death	Tracheal aspirated	0,25	Oxa_23

Notes. F = Female; M = Male; For testing sensibility via rectal swab, there were no analyses for doxycycline (DOX), ampicillin/sulbactam (ASB), amikacin (AMI) and levofloxacin (LVX).

A. baumannii in the years of 2017, 2018 and 2019 were 222, 417 and 667 cases per 1000 inhabitants, respectively. No other statistically significant differences were observed in Table 2.

Table 2 – Demographic, clinical, risk factors and positive culture for *A. baumannii* in hospitalized patients from the Walter Alberts Pecoits Regional Hospital (January 2017 to June 2019).

	Cases (n = 33)		Controls (n = 66)		p value
	Mean	SD	Mean	SD	
Age	57,3	21,8	57,9	21,9	0,894
Length of hospitalization until the positive culture results	18,3	12,9	6,2	8,5	<0,001
	n	%	n	%	
Year					1,000
2017	9	27,3	18	27,3	
2018	12	36,4	24	36,4	
2019	12	36,4	24	36,4	
Sector of hospitalization					1,000
ICU	25	75,8	50	75,8	
CC1/CC2	8	24,2	16	24,2	
Type of admission					0,038
Transferred from another institution	24	72,7	32	48,5	
Community	9	27,3	34	51,5	
Diagnosis at admission					0,420
Digestive tract diseases	4	12,1	7	10,6	
Trauma	8	24,2	25	37,9	
Cardiovascular diseases	6	18,2	11	16,7	
Sepsis	5	15,2	6	9,1	
Respiratory disorders	6	18,2	10	15,2	
Genitourinary tract disease	4	12,1	7	10,6	
Use of invasive device					0,064*
Yes	33	100	57	86,4	
No	0	0,0	9	13,6	
Antimicrobial usage					0,933
Yes	26	78,8	50	75,8	
No	7	21,2	16	24,2	
Surgical procedure					1,000
Yes	7	21,2	14	21,2	
No	26	78,8	52	78,8	
Outcome					0,024
Death	15	45,5	14	21,2	
Discharge	18	54,5	52	78,8	
Isolated location					0,001
Tracheal aspirated	20	60,6	16	24,2	
Others	13	39,4	50	75,8	

Notes. SD = Standard deviation. ICU = Intensive Care Unit; CC1 = Clinical/surgical Center 1; CC2 = Clinical/surgical Center 2. * Not included in the regression analyses due to the absence of cases without invasive device usage.

Except for the use of invasive device, variables with a p value below 0,20 were included in logistic regression analysis. The final model (adjusted) comprises three variables. Each additional day in the hospital until the positive culture results increases in 13% the chances for *A. baumannii*. Death was 225% more frequent in those with *A. baumannii*. Finally, *A. baumannii* isolated from the tracheal aspiration was nearly five times higher in the cases in comparison to controls (Table 3).

Table 3 - Independent predictors for the presence of positive culture for *A. baumannii* in hospitalized patients from the Walter Alberts Pecoits Regional Hospital (January 2017 to June 2019).

	OR (95% CI)	p	OR _{adj} (95% CI)	p
Length of hospitalization until the positive culture results	1,12 (1,06 – 1,19)	<0,001	1,13 (1,06 – 1,21)	<0,001
Type of admission				
Transferred from another institution	2,83 (1,15 – 7,00)	0,024	--	--
Community	1			
Outcome				
Death	3,10 (1,25 – 7,65)	0,014	3,25 (1,06 – 9,91)	0,039
Discharge	1		1	
Isolated location				
Tracheal aspirated	4,81 (1,96 – 11,79)	0,001	4,48 (1,55 – 13,00)	0,006
Others	1		1	

Notes. OR = odds ratio (only one independent variable); OR_{adj} = adjusted odds ratio (adjusted model containing three variables with a p value below 0,05).

Discussion

Despite the increase in the reports and outbreaks of *A. baumannii* in Brazil, research on its risk factors in different hospital sectors is rare⁷. Investigations of epidemiological aspects of isolated samples of *A. baumannii* in hospitals are needed in order to implement prevention strategies, as well as to improve hospital infection programs (especially those focusing on antimicrobials).

A. baumannii is an etiological agent responsible for endemic diseases in hospital environments, being a microorganism that stands out as a cause of nosocomial infections, especially in ICU. It has the capacity to rapidly acquire resistant-genes, which results in a threat in the use of antibiotics¹³⁻¹⁴. In the present study, the prevalence of *A. baumannii* in ICU was 75.8%, which is well above the incidence noted in others sectors of hospitals. There are a few studies on the prevalence of this microorganism in distinct sectors, and most of the

research focuses on multidrug-resistant bacteria in ICU. Ciello and Araújo¹⁵ reported a 22,8% prevalence of this *A. baumannii* in ICU and a higher number of isolates in emergency rooms; this was not the case of our study as there were no positive cases of *A. baumannii* in the emergency sector. However, a study from a reference hospital in Spain reported that *A. baumannii* was the microorganism of higher incidence among the HRI investigated, also finding that most infections in ICU were linked to *A. baumannii*¹⁶. These results reinforce that longer permanence (i.e., length of hospitalization) and longer contact with healthcare professionals might be accompanied with higher chances of *A. baumannii* infection.

A. baumannii infection in ICU is not limited to the length of hospitalization, being also associated with higher patient density and higher healthcare professionals density. Moreover, there is a positive relationship between *A. baumannii* infection and invasive procedures, use of wide-spectrum antibiotics, immunosuppression, and the ICU environment, which itself contributes to the natural selection of microorganisms¹⁷. Due to these factors, the difficulties in containing hospital infections in the ICU are paramount. Therefore, it is important to emphasize the role played by professionals in preventing and controlling HRI through the adoption of appropriate techniques and by proper using protective equipment³.

We observed that patients transferred from other hospitals were more likely to develop *A. baumannii* infections/colonization than patients who came from the community, reinforcing a higher prevalence of this bacteria in health facilities. However, other studies reported the presence of *A. baumannii* containing the bla_{OXA23} gene in other environments, such as in animal, food and in slaughterhouses samples^{14,18,19,20}. The presence of this microorganism in the community poses a health hazard because it is an opportunistic pathogen. Therefore, its dissemination adds risks for both community and nosocomial infections, collaborating with increased antimicrobial resistance.

Numerous reports have already highlighted strains carrying the gene bla_{OXA23}, resistant to carbapenem^{21,22,23}. A study conducted in five Brazilian states showed a 94,2% prevalence of the carbapenem-resistant bla_{OXA23} gene, which is very similar to data here reported (present in 100% of the cases)²⁴. Oxacillinases (OXAs) are responsible for *A. baumannii* resistance to carbapenem, mainly OXA-23, OXA-24/40, OXA-58, OXA-143, and OXA-51²⁵. In addition to Brazil, these

OXAs have already been detected elsewhere, including European countries, Australia, Tahiti, Korea, USA, and Uzbekistan. This widespread distribution is due to the fact that the bla_{oxa23} gene is influenced by insertion sequences/transposons, increasing the potential of its dissemination^{26,27}.

The regularity in which samples of *A. baumannii* are reported corroborates the endemic feature of this bacteria in the hospital environment. In the present study, similarly to what has been reported by Souza et al.²⁸, *A. baumannii* proved to be more aggressive, hence increasing mortality indicators. A high mortality rate could be explained by an ability of the bacteria in developing resistance to multiple drugs, as well as its ability to resist the desiccation of abiotic surfaces and in forming biofilms (hence colonizing and invading human epithelial cells)^{29,30}. In this study, a mortality rate of 45.5% was found between January 2017 to June 2019, which is lower when compared to the rate of 59% reported by Neves et al.¹³ in patients in ICU. An important difference is that, in our study, all the strains contained the gene bla_{OXA23}. In Neves et al. investigation, only 51.2% of the strains had this same gene. However, all strains had the expression of the gene bla_{oxa-51} (an intrinsic enzyme related to nosocomial infections)²⁴.

The length of hospitalization is directly related to increased chances of developing multidrug-resistant *A. baumannii* infections. It is noteworthy that these infections generate extra costs for health systems, being even higher when observed in ICU; *A. baumannii* costs twice the amount in medications, consultations and tests when compared to other bacteria³¹. Dias et al.³² reported an average length of hospitalization until culture positivity for *A. baumannii* of 24.8 days; in our research, a similar result was observed (i.e., average length of 18.3 days). We also found that the chance of developing an infection by *A. baumannii* increases 13% in each extra day of hospitalization. This is line with previous work from Sinésio et al.², who also found a higher chance of developing multidrug-resistant bacterial infections in longer hospitalizations.

Furthermore, pneumonia is a very common condition in hospital admissions, being associated with longer stays and higher costs. It is also quite frequent among patients requiring mechanical ventilation³³. Not surprisingly, the results from our study indicated that the tracheal aspirated material was the most important source of isolated *A. baumannii* and comes from patients under mechanical ventilation.

In addition, the community-acquired pneumonia attributed to *A. baumannii* has been reported worldwide, but is more common in tropical and subtropical areas, including Brazil. However, most cases occur in hospitalized patients using mechanical ventilation^{34,35}. Nonetheless - even with all the research reporting the virulence potential of this bacterium - there is still a need for studies that fully clarify which mechanisms are involved in infections by this germ³⁶.

The ability to form biofilms, the presence of *pili* and the high degree of hydrophobicity are among the main contributing factors for this microorganism to adhere to plastics, including catheter surfaces, endotracheal tubes and various other biomaterials^{37,38}. Furthermore, it should also be noted that *A. baumannii* presents itself on the skin, digestive and respiratory tracts, being the oropharynx one of the predominant sites of colonization. This occurs since the mucins present in the oral cavity might act as adhesive receptors for *A. baumannii*³⁹.

The absolute number of patients with *A. baumannii* who used antimicrobials was higher than those who did not use ($p = 0.933$), although statistically significant level was not reached. Surveillance for a rational usage of antibiotics and constant monitoring programs are important strategies for controlling microorganisms resistance. Seligman et al.⁴⁰ reported that the use of antibiotics within 10 days prior to diagnosis was associated with a higher prevalence of patients colonized by multidrug-resistant bacteria. Neves et al.¹³ showed that 78.6% of the samples of *A. baumannii* resistant to carbapenem underwent antibiotic therapy before the development of infection by this bacterium. This is explained once antimicrobial use has potential to affect the selection of bacteria with some degree of potential to express resistance genes.

Interestingly, a high number of cases of *A. baumannii* infection was noted in males (60.6%) in comparison to females (39.4%). This could be explained by the number of hospitalizations itself, which is usually higher in males. Also, the hospital in which data collection took place is a reference in trauma (out of the total number of hospitalizations, 24.2% were related to trauma). It is well-known that trauma-related services have high prevalence in young adult males. This group commonly seeks hospital assistance due to risk conditions, such as traffic and occupational accidents as well as violence-related admissions⁴¹.

This study presents some limitations that shall be considered. First, the retrospective analysis adopted must be taken into perspective since data quality is

linked with the quality of records written in the hospital. Second, some comorbidities – in both cases and controls – could have interfered with the prognosis and outcomes. Indeed, our study did not investigate for comorbidities. Third, our samples were detected using diffusion disc tests and were submitted to genetic analyses to investigate the presence of the gene *bla_{OXA23}*; however, the diffusion disc test has some limitations, including possible alterations in inadequate concentration of drugs and also due to lability of tested discs.

Finally – apart from the aforementioned limitations – our investigation has also some important implications for research and practice. Indeed, there is a clear need for further studies, aiming a better understanding of the risk factors associated with *A. baumannii* in both hospital and community environments. This might improve the security of individuals and teams operating in health services since increased antimicrobial resistance (probably associated with indiscriminate antibiotic use) continues to represent a challenge for professionals.

To conclude, we noted that longer hospitalizations, admissions from other hospitals and the use of tracheal aspirated-material were considered risk factors for infection by *A. baumannii* resistant to carbapenems, showing that this germ is endemic in the studied institution. In light of the results, it is relevant to highlight the importance of implementing continued epidemiological surveillance activities and prevention programs due to the *A. baumannii* high capacity for transmission.

References

1. Leoncio JM, Almeida VF, Ferrari RAP, Capobiango JD, Kerbauy G, Tacla MTGM. Impact of healthcare-associated infections on the hospitalization costs of children. *Journal of School of Nursing*. [Internet]. 2019 [cited 2018 Aug 15]; 53: 1-7. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v53/en_1980-220X-reeusp-53-e03486.pdf. DOI 10.1590/s1980-220x2018016303486
2. Sinésio MCT, Magro MCS, Carneiro TA, Silva KGN. Fatores de risco às infecções relacionadas à assistência em unidades de terapia intensiva. *Cogitare Enferm*. [Internet]. 2018 [cited 2018 Aug 14]; 23(2): 1-10.

- Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/cogitare/article/view/53826/pdf>. DOI [10.5380/ce.v23i2.53826](https://doi.org/10.5380/ce.v23i2.53826)
3. Barros LM, Bento JNC, Caetano JÁ, Moreira RAN, Pereira FGF, Frota NM, et al. Prevalência de micro-organismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. Rev Ciênc Farm Básica Apl. [Internet]. 2012. [cited 2019 out 29]; 33(3): 429-435. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/2211/1267. ISSN 1808-4532
 4. Organização Mundial de Saúde. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. WHO. [Internet]. 2017. [cited 2019 Fev 20]. Disponível em: http://www.who.int/medicines/publications/WHOPPLShort_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
 5. Weber BS, Harding CN, Feldman MF. Pathogenic Acinetobacter: from the Cell Surface to Infinity and Beyond. J Bacteriol. [Internet]. 2016. [cited 2019 aug 20]; 198(6): 880–887. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4772598/>. DOI [10.1128/JB.00906-15](https://doi.org/10.1128/JB.00906-15)
 6. Huang H, Chen B, Liu G, Ran J, Lian X, Huang X, et al. A multi-center study on the risk factors of infection caused by multi-drug resistant Acinetobacter baumannii. BMC Infectious Diseases. [Internet]. 2018. [cited 2019 nov 5]; 18(11): 1-6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29304746>. DOI [10.1186/s12879-017-2932-5](https://doi.org/10.1186/s12879-017-2932-5).
 7. Scarcella ACA, Scarcella ASA, Beretta ALRZ. Infection related to health assistance associated to *Acinetobacter baumannii*: literature review. RBAC. [Internet]. 2017. [cited 2019 jun 6]; 49(1): 18-21. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/infeccao-relacionada-assistencia->

[saude-associada-acinetobacter-baumannii-revisao-de-literatura/](https://doi.org/10.21877/2448-3877.201600361). DOI
10.21877/2448-3877.201600361

8. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. IBGE Cidades@. [Internet]. 2020. [cited 2020 jan 22]. Disponível em: < <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/uf.php?lang=&coduf=41&search=parana>>.
9. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 27th ed. USA. January. 2017.
10. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 28th ed. USA. January. 2018.
11. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS. M100. 29th ed. USA. January. 2019.
12. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. BrCAST; 2019. Version 9.0.
13. Neves FC, Clemente WT, Lincopan N. Clinical and microbiological characteristics of OXA-23- and OXA-143-producing *Acinetobacter baumannii* in ICU patients at a teaching hospital, Brazil. Braz J Infect Dis. [Internet]. 2016. [cited 2019 jun 7]; 20(6): 556–563. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702016000600556. DOI 10.1016/j.bjid.2016.08.004
14. Anane Y, Apalata T, Vasaikar S, Okuthe GE, Songca S. Prevalence and molecular analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in the extra-hospital environment in Mthatha, South Africa. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. [Internet]. 2019. [cited 2020 jan 10]; 23(6): 371-380.

- Disponível em: <http://www.bjid.org.br/en-prevalence-molecular-analysis-multidrug-resistant-acinetobacter-articulo-S141386701930460X>. DOI 10.1016/j.bjid.2019.09.004
15. Ciello G, Araujo MC. Epidemiological profile of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a hospital in the countryside of Minas Gerais. *Refacs*. [Internet]. 2016. [cited 2019 nov 22]; 4(3): 201-207. Disponível em: <file:///D:/Documentos/Downloads/1772-8860-4-PB.pdf>. DOI 10.18554/refacs.v4i3.1772
16. Jover-Sáenz A, Gaité B, Illa B, González MG, Salcedo RL, Perello DC, Garrido-Cavalo S, et al. Infección nosocomial por gérmenes multirresistentes durante 1 año en un hospital de segundo nivel: análisis clínico y microbiológico. *An. Med. Interna (Madrid)*. [Internet]. 2005. [cited 2019 out 29]; 22(2): 13-20. Disponível em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992005000200003. ISSN 0212-7199
17. Park SY, Choo JW, Kwon SH, Yu SN, Lee EJ, Kim TH, et al. Risk Factors for Mortality in Patients with *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Infect Chemother*. [Internet]. 2013. [cited 2019 nov 17]; 45(3): 325-330. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3848511/>. DOI 10.3947/ic.2013.45.3.325
18. Poirel L, Bercot B, Millemann Y, Bonnin RA, Pannaux G, Nordmann P. Carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. in cattle, France. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2012. [cited 2019 nov 20]; 18:523–525. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3309584/>. DOI 10.3201/eid1803.111330
19. Pomba C, Endimiani A, Rossano A, Saial D, Couto N, Perreten V. First report of OXA-23-mediated carbapenem resistance in sequence type 2 multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* associated with urinary tract infection in a cat. *Antimicrob Agents Chemother*. [Internet]. 2014. [cited

- 2019 nov 15]; 58: 1267– 1278. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3910809/pdf/zac1267.pdf>. DOI [10.1128/AAC.02527-13](https://doi.org/10.1128/AAC.02527-13)
20. Wang Y, Wu C, Zhang Q, Qi J, Liu H, Wang Y, et al. Identification of New Delhi metallo-β-lactamase 1 in *Acinetobacter lwoffii* of food animal origin. PLoS One. [Internet]. 2012. [cited 2019 nov 13]; 7(5): 1-6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3356367/>. DOI [10.1371/journal.pone.0037152](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037152)
21. Royer S, Faria ALS, Seki LM, Chagas TPG, Campos PA, Batistão DWF, et al. Spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* clones in patients with ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit at a university hospital. Braz J Infect Dis. [Internet]. 2015. [cited 2019 nov 6]; 19(4): 350-357. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjid/v19n4/1413-8670-bjid-19-04-00350.pdf>. DOI [10.1016/j.bjid.2015.03.009](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.03.009)
22. Castilho SRA, Godoy CSM, Guilarde AO, Cardoso JL, André MCP, Junqueira-Kipnis Ap, et al. *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility Profiles. Plos One. [Internet]. 2017. [cited 2019 nov 6]; 12(5): 1-13. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5419545/pdf/pone.0176790.pdf>. DOI [10.1371/journal.pone.0176790](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176790)
23. França RO, Costa OS, Milanez GL, Bomfim MRQ, Gonçalves R, Farias LM, et al. Molecular association of pathogenicity and resistance to multiple antimicrobials in *Acinetobacter baumannii* strains recovered from patients with diverse infectious diseases. J Bras Patol Med Lab. [Internet]. 2018. [cited 2019 nov 6]; 54(5): 288-295. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v54n5/1676-2444-jbpml-54-05-0288.pdf>. DOI [10.5935/1676-2444.20180049](https://doi.org/10.5935/1676-2444.20180049).

24. Rocha L, Pagano M, Campos JC, Sampaio JLM, Martins AF, Barth AL. *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos no Brasil: perfil de suscetibilidade e diversidade de oxacilinases. J Bras Patol Med Lab. [Internet]. 2017. [cited 2019 nov 10]; 53(6): 358-361. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v53n6/1676-2444-jbpml-53-06-0358.pdf>. DOI 10.5935/1676-2444.20170057
25. Oliveira EA, Paula GR, Mondino PJJ, Chagas TPG, Mondino SSB, Mendonça-Vieira CRV. High rate of detection of OXA-23-producing *Acinetobacter* from two general hospitals in Brazil. [Internet]. 2019. [cited 2020 jan 5]; 52: 1-5. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v52/1678-9849-rsbmt-52-e20190243.pdf>. DOI 10.1590/0037-8682-0243-2019
26. Opazo A, Domínguez M, Bello H, Amyes SGB, González-Rocha G. OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. J Infect Dev Ctries. [Internet]. 2012. [cited 2019 nov 17]; 6: 311–316. Disponível em: <file:///D:/Documentos/Downloads/2310-Article%20Text-14587-4-10-20120506.pdf>. DOI 10.3855/jidc.2310
27. Peleg A, Seifert H, Paterson D. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. [Internet]. 2008. [cited 2019 out 29]; 21: 538-582. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2493088/>. DOI 10.1128/CMR.00058-07
28. Souza ES, Belei RA, Carrilho CMDM, Matsuo T, Yamada-Ogatta SF, Andrade G, et al. MORTALIDADE E RISCOS ASSOCIADOS A INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE. Contexto Enferm, Florianópolis. [Internet]. 2015. [cited 2020 jan 5]; 24(1): 220-8. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/tce/v24n1/pt_0104-0707-tce-24-01-00220.pdf. DOI: 10.1590/0104-07072015002940013.

29. Kettani AE, Maaloum F, Diawara I, Katfy K, Harrar N, Zerouali K, et al. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* bacteremia in intensive care units of Ibn Rochd University Hospital, Casablanca. [Internet]. 2017. [cited 2019 nov 13]; 9(6): 318 – 323. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5825931/pdf/IJM-9-318.pdf>. PMID: PMC5825931
30. Cerqueira GM, Peleg AY. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *IUBMB Life*. [Internet]. 2011. [cited 2019 nov 25]; 63(12): 1055-60. Disponível em: <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/iub.533> DOI 10.1002/iub.533
31. Asim P, Naik NA, Muralidhar V, Vandana KE, Varsha AP, . Clinical and economic outcomes of *Acinetobacter* vis a vis non-*Acinetobacter* infection in an Indian teaching hospital. *Perspect. Clin. Res. Karnataka*. [Internet]. 2017. [cited 2019 ago 20]; 7(1): 28–31. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4763514/>. DOI 10.4103/2229-3485.173778
32. Dias VC, Resende JA, Bastos NA, Bastos LQA, Bastos VQA, Bastos RV, et al. Epidemiological, Physiological, and Molecular Characteristics of a Brazilian Collection of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*. [Internet]. 2017. [cited 2019 ago 22]; 0: 1-12. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2016.0219> DOI 10.1089/mdr.2016.0219.
33. Araújo PL, Mendonça ALO, Medeiros RA, Neto VLS, Nobre TTX, Costa IKF. Prevalência de infecção relacionada à assistência à saúde em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. *Enfermeria Global*. [Internet]. 2018. [cited 2019 nov 20]; 52: 291–303. Disponível em:

- http://scielo.isciii.es/pdf/eg/v17n52/pt_1695-6141-eg-17-52-278.pdf. DOI 10.6018/eglobal.17.4.289311
34. Dexter C, Murray GL, Paulsen IT, Peleg AY. . Expert Rev Anti Infect Ther. [Internet]. 2015. [cited 2019 out 27]; 13: 567–73. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/274729255_Community-acquired_Acinetobacter_baumannii_Clinical_characteristics_epidemiology_and_pathogenesis. DOI 10.1586/14787210.2015.1025055.
35. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. [Internet]. 2017. [cited 2019 out 29]; 36: 1999–2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10096-016-2703-z>. DOI 10.1007/s10096-016-2703-z
36. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Ind. J. antimicrob agentes. [Internet]. 2010. [cited 2019 nov 25]; 35(3): 219-26. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00556384/document>. DOI 10.1016/j.ijantimicang.2009.10.024
37. Ahmed MU, Farooq R, Al-Hawashim N, Ahmed M, Yiannakou N, Sayeed F, et al. Sensitive, resistant and multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* at Saudi Arabia hospital eastern region. Pak J Pharm Sci. [Internet]. 2015. [cited 2019 nov 22]; 28(3):825-32. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/7c6f/df5b159c87a3bb054e05fe548734f6c32cc0.pdf?_ga=2.73461275.822892795.1580243985-652732079.1569287814. PMID: 26004714
38. Russo TA, Monohar A, Beanan JM, Olson R, MacDonald U, Umland TC, et al. The Response Regulator BfmR Is a Potential Drug Target for *Acinetobacter baumannii*. mSphere. [Internet]. 2016. [cited 2019 nov 20]; 11(3): 1-19. Disponível em:

<https://doaj.org/article/62602c2f45d64340bb5e3a1853e187d0>. DOI
[10.1128/mSphere.00082-16](https://doi.org/10.1128/mSphere.00082-16)

39. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. [Internet]. 2017. [cited 2019 nov 22]; 7(55): 1-35. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5346588/>. DOI [10.3389/fcimb.2017.00055](https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055)
40. Seligman R, Lima-Ramos LF, Oliveira VA, Sanvicente C, Sartori J, Pacheco EF. Risk factors for infection with multidrug-resistant bacteria in non-ventilated patients with hospital-acquired pneumonia. *J Bras Pneumol*. [Internet]. 2013. [cited 2019 nov 20];39(3):339-348. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132013000300339. DOI 10.1590/S1806-37132013000300011
41. Lentsck MH, Sato APS, Mathias TAF. Panorama epidemiológico de dezoito anos de internações por trauma em UTI no Brasil. *Rev. Saúde Pública*. [Internet]. 2019. [cited 2019 jan 25]; 53(83): 1-12. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rsp/v53/pt_1518-8787-rsp-53-83.pdf. DOI 10.11606/s1518-8787.2019053001178

6. APÊNDICE

Appendix 1 – Descriptive of matching variables for cases (N=33) and controls (N=66) according to age, year of hospitalization, gender and sector of hospitalization in the institution between January 2017 to June 2019.

Age (Cases)	Mean age \pm SD (Controls)	Year of cases and controls	Gender of cases and controls	Sector of hospitalization of cases and controls
49	50 \pm 5,65	2017	M	ICU
26	24,5 \pm 3,5	2017	F	CC2
14	18,5 \pm 0,5	2017	M	ICU
18	18 \pm 2	2017	F	CC2
91	85,5 \pm 0,5	2017	F	ICU
58	53 \pm 1	2017	M	CC2
76	74,5 \pm 3,5	2017	F	CC2
60	63,5 \pm 0,5	2017	M	ICU
60	61,5 \pm 2,5	2017	M	ICU
72	70 \pm 2,0	2018	M	ICU
87	89 \pm 2,0	2018	M	ICU
82	83 \pm 1	2018	M	ICU
72	71,5 \pm 2,5	2018	M	ICU
70	71 \pm 4,0	2018	F	ICU
20	20 \pm 3,0	2018	M	ICU
56	56 \pm 5,0	2018	F	ICU
76	81	2018	F	ICU
37	41,5 \pm 1,5	2018	F	ICU
37	34,5 \pm 2,5	2018	F	ICU
72	71 \pm 4,0	2018	M	CC2
38	29,5 \pm 2,5	2018	M	ICU
68	71 \pm 3,0	2019	M	CM
57	59,5 \pm 0,5	2019	M	ICU
31	28,5 \pm 0,5	2019	F	CC2
88	89 \pm 4,0	2019	M	CC1
47	47,5 \pm 1,5	2019	M	ICU
82	86 \pm 2,0	2019	F	ICU
82	83,5 \pm 3,5	2019	F	ICU
52	51,5 \pm 0,5	2019	M	ICU
29	29,5 \pm 4,5	2019	M	ICU
58	58 \pm 1,0	2019	M	ICU
58	60,5 \pm 0,5	2019	M	ICU
67	67,5 \pm 3,5	2019	F	ICU

Notes. M = Male; F = Female; ICU = Intensive Care Unit; CC1 = Clinical/Surgical Center 1; CC2 = Clinical/Surgical Center 2.

7. ANEXOS

7.1 Termo de Ciência do Responsável pelo Campo de Estudo – HRS



Aprovado na
CONEP em 04/08/2000

ANEXO IV

TERMO DE CIÊNCIA DO RESPONSÁVEL PELO CAMPO DE ESTUDO

Título do projeto: ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA MOLECULAR DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E VIRULÊNCIA EM ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLADOS EM HOSPITAL DO PARANÁ

Pesquisadore(s): Débora Fiorentin Vandresen e Lirane Elize Defante Ferreto de Almeida

Local da Pesquisa: Hospital Regional Walter Alberto Pecoits - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

Responsável pelo local de realização da pesquisa: Nathielli Vieira

O(s) pesquisador(es) acima identificado(s) está(estão) autorizado(s) a REALIZAR a pesquisa e a coleta dados, os quais serão utilizados exclusivamente PARA FINS científicos, assegurando sua confidencialidade e o anonimato dos sujeitos participantes da pesquisa segundo as normas da Resolução 510/2016 CNS/MS e suas complementares.

Francisco Beltrão, 07 de Maio de 2019.

 - Nathielli Vieira

(Nome(s) e assinatura(s) do(s) responsável pelo campo da pesquisa)

7.2 Termo de Ciência do Responsável pelo Campo de Estudo - Unisep



Aprovado na
CONEP em 04/08/2000

ANEXO IV

TERMO DE CIÊNCIA DO RESPONSÁVEL PELO CAMPO DE ESTUDO

Título do projeto: ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA MOLECULAR DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EVIRULÊNCIA EM ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLADOS EM HOSPITAL DO PARANÁ

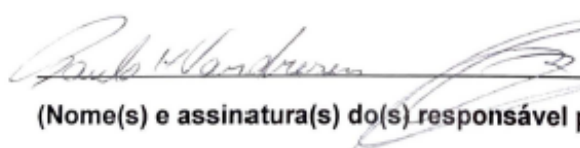
Pesquisador(s): Débora Fiorentin Vandresen e Lirane Elize Defante Ferreto de Almeida

Local da Pesquisa: Laboratório Escola Unisep

Responsável pelo local de realização da pesquisa: Paulo Henrique Vandresen

O(s) pesquisador(es) acima identificado(s) está(estão) autorizado(s) a realizar a pesquisa e a coleta dados, os quais serão utilizados exclusivamente para fins científicos, assegurando sua confidencialidade e o anonimato dos sujeitos participantes da pesquisa segundo as normas da Resolução 510/2016 CNS/MS e suas complementares

Francisco Beltrão, 03 de Maio de 2019.


 PAULO H. VANDRESEN
 FARM./BIOQUÍMICO
 CRF 17227

(Nome(s) e assinatura(s) do(s) responsável pelo campo da pesquisa)

7.3 Instrumento de Coleta de Dados



Pesquisadora: Débora Fiorentin Vandresen

Programa: Pós-Graduação em Ciência Aplicadas à Saúde

Título: ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E VIRULÊNCIA EM ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLADOS EM HOSPITAL DO PARANÁ

Formulário para coleta de dados para tese mestrado

Prontuário paciente: _____ Ano: _____

- Dados Demográficos

- ✓ Idade: _____
- ✓ Sexo: _____
- ✓ Setor de internamento: _____
- ✓ Tempo de permanência de internamento até positividade de cultura: _____
- ✓ Forma de admissão hospitalar: _____

- Dados Clínicos

- ✓ Diagnóstico de internação: _____
- ✓ Uso de dispositivo invasivo: _____
- ✓ Uso de antimicrobiano: _____
- ✓ Qual antimicrobiano: _____
- ✓ Procedimento cirúrgico: _____
- ✓ Desfecho do paciente: _____

- Dados Microbiológicos

- ✓ Bactéria isolada: _____
- ✓ Perfil de resistência aos antimicrobianos:
 - Carbapenêmicos: _____
 - Cefalosporinas: _____
 - Aminoglicosídeos: _____
 - Penicilinas: _____
 - Quinolonas; _____
 - Tetraciclina: _____
 - Penicilinas com beta-lactâmicos: _____
- ✓ Sítio de isolamento: _____
- ✓ Genes de resistência detectado: _____
- ✓ Resultado do teste de Hodge: _____
- ✓ Resultado MIC para casos de *A. baumannii* multirresistente: _____

7.4 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA DE AMOSTRAS CLÍNICAS DE

Acinetobacter baumannii: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA EM UM HOSPITAL DO PARANÁ

Pesquisador: Débora Fiorentin Vandresen

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 15201619.1.0000.0107

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.441.114

Apresentação do Projeto:

Despacho saneador de pendências

Objetivo da Pesquisa:

.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram acatadas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	01/07/2019		Aceito
Básicas do Projeto	ETO_1356707.pdf	15:51:47		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Plataforma.docx	01/07/2019 15:51:25	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	21/05/2019 08:16:14	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao.pdf	15/05/2019 15:26:21	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termolaboratorio.pdf	15/05/2019 15:25:10	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termohospital.pdf	15/05/2019 15:24:24	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoparausodedadosemarquivo.pdf	15/05/2019 15:24:06	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	fichadedados.docx	15/05/2019 15:22:46	Débora Fiorentin Vandresen	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CASCADEL, 05 de
Julho de 2019

**Assinado por:
Dartel Ferrari de Lima
(Coordenador(a))**

Endereço: RUA UNIVERSITARIA 2069

CEP: 85.819-110

UF: PR

Município: CASCADEL

E-mail: cep.prppg@unioeste.br

7.5 Normas da Revista



THE BRAZILIAN JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Official publication of the [Brazilian Society of Infectious Diseases](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.1
• Editorial Board	p.1
• Guide for Authors	p.3



DESCRIPTION

The Brazilian Journal of Infectious Diseases is the official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases (SBI). It aims to publish relevant articles in the broadest sense on all aspects of microbiology, infectious diseases and immune response to infectious agents.

The *BJID* is a bimonthly publication and one of the most influential journals in its field in Brazil and Latin America with a high impact factor, since its inception it has garnered a growing share of the publishing market.

AUDIENCE

Infectious Disease specialists

IMPACT FACTOR

2018: 2.223 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

ABSTRACTING AND INDEXING

Science Citation Index Expanded
 Scopus
 Directory of Open Access Journals (DOAJ)
 PubMed/Medline
 PubMed/Medline
 SciELO - Scientific Electronic Library Online

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Luciano Goldani, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Associate Editors

Ana Gales
Maria Cássia Mendes-Corrêa
Angelica E. Miranda
Helio Sader

Editorial Board

Adauto Castelo
Alberto Duarte
Alessandro Pasqualotto
Alexandre Zavascki
Aluisio Augusto Cotrim Segurado
Andre Lyra
Antonio Barone
Arnaldo Colombo
Beatriz Grinsztejn
Boris Renjifo
Carlos Graeff-Teixeira
Cristiana Carvalho
Edgard Carvalho
Edson Duarte Moreira Junior
Eduardo Gotuzzo
Eduardo Netto
Eduardo Sprinz
Erico Arruda
Esper Kallas
Evaldo Araujo
Felipe Tuon
Guido Levi
Jan Felix Drexler
Jeffrey Jon Shaw
Jorge Pinto
Julio Croda
Kleber Luz
Kleper Almeida
Marcelo Ferreira
Maria Cássia Mendes-Corrêa
Maria Yasuda
Maria Lima
Mauro Schechter
Mitermayer Galvão
Reinaldo Salomão
Renato Grinbaum
Ricardo Diaz
Richard Guerrant
Robert Schooley
Roberto Focaccia
Sergio Cimerman
Sylvia L Hinrichsen
Zilton Andrade

Introduction

The Brazilian Journal of Infectious Diseases is the official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases (SBI). It aims to publish relevant articles in the broadest sense on all aspects of microbiology, infectious diseases and immune response to infectious agents. The BJID is a bimonthly publication and one of the most influential journals in its field in Brazil and Latin America with a high impact factor, since its inception it has garnered a growing share of the publishing market.

The article publishing charge (APC) that authors, their institutions or funding bodies pay, covers all expenses needed to support the publication process.

For articles submitted from 16th July 2018, the APC to publish a paper in the Brazilian Journal of Infectious Diseases is USD 1,500 for original and review articles, and USD 600 for case reports, short communications and letters.

Once the manuscript has been approved, the corresponding author will receive the instructions for the payment of the publication fee.

Types of article

Manuscripts may be submitted within designated categories of communication, including:

- Original basic or clinical investigation (original papers);
- Brief reports of new methods or observations (brief communications);
- State-of-the-art presentations or reviews (review or mini review papers);
- Case presentation and discussion (case reports);
- Clinical infectious diseases images;
- Letters to the editor concerning previous publications;
- Editor's corner, containing ideas, hypotheses and comments (Editorial).

Original articles

It is the most important section of the Journal. Original articles present new data about researches, issues and matters in the field of infectious diseases. These articles should conform strictly to the rules of publication, containing the following sections: abstract, objective or hypothesis, experimental design and methods used (statistical data), essential features of any interventions, main outcome measures, main results of the study, discussion and conclusion. An Original Paper should contain:

- An abstract of no more than 300 words;
- No more than 7 keywords;
- The text should be divided into separate sections (Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, References);
- No more than 50 references;
- Number of authors should not exceed 10;
- Authors should state in the cover letter that the manuscript is intended to be an original paper.

Brief communications

A brief communication is focused in a single subject, which should be concise and a new point of view presentation of the subject. The scope of this section is intended to be wide and methods, results and discussion should be in the same text. A brief communication should contain:

- An abstract of no more than 200 words;
- No more than 4 keywords;
- Text should not exceed 12 double-spaced typed pages of 23 lines each;
- A maximum of 2 figures or tables (or one of each);
- No more than 20 references;
- The text should not be divided into separate sections;
- Authors should state in the cover letter that the manuscript is intended to be a brief communication;
- Number of authors should not exceed 5.

Review article

This section is for an updated presentation on a specific topic. This section should contain critical analysis and a new point of view of a relevant area and not a chronological description of the literature. This section aims to raise discussion among readers about controversial issues and the development

of concepts in Infectious Diseases. A review article **has to** bring the new point of view of the focus of the subject. A minireview is focused on a restricted part of a subject. A minireview and review article should contain:

- An abstract of no more than 300 words;
- No more than 7 keywords;
- No more than 80 references;
- The text may be divided into sections with appropriate titles and subtitles;
- Number of authors should not exceed 5;
- Authors should state in the cover letter that the manuscript is intended to be a review or mini review article.

Case reports

Reports of clinical cases must contain a brief introduction about the nature of the case diagnosis, whose focus is the importance of the subject. The case **has to** be described with data and reports of examinations, treatment and prognosis of the case, discussion about the importance of the findings and presentation of the case in relation to literature. A case report should have a special interest to the clinical research community or it **has to** be a rare case; or to present a new diagnostic method; or new or modified treatment. A case report article should contain:

- An abstract of no more than 150 words;
- No more than 4 keywords;
- No more than 20 references;
- The text may be divided into sections: brief introduction with a review of literature, case reports, and conclusion;
- Number of authors should not exceed 5;
- Authors should state in the cover letter that the manuscript is intended to be a case report article.

Clinical infectious diseases images

For submission to Clinical Infectious Diseases Images, which is not intended as a vehicle for case reports, all text should contain:

- A minimum of references (no more than 4);
- No abstract;
- The text should be uniform and contain no more than 300 words;
- Number of authors should not exceed 5.

Letters to the editor

Letters may be written in response to previous content published in The Brazilian Journal of Infectious Diseases (BJID) or on any topic of general interest or concern. In the first case, the letter must emphasize the main message of the author of the article, focusing the contribution of that scientific article in the medical practice, drawing attention to the reference and impact it had on the community. The Letter to the Editor should contain:

- Title and the text with no more than 23 line pages;
- No more than 5 references;
- Number of authors should not exceed 5.

Contact details for submission

To submit an article to the journal: <https://www.elsevier.com/profile/api/navigate/BJID> If you have problems with sending or reviewing manuscripts, please contact us by email (avuda-ees@elsevier.com) or by phone (+34 932 406 176) Monday through Friday, from 9:30 to 18:00 (GMT +1).

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print
Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)
Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing [interests](#) statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association \(Declaration of Helsinki\)](#) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see ['Multiple, redundant or concurrent publication'](#) for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in

English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Clinical trials registry

Clinical trials must be registered according to WHO recommendation at <http://www.who.int/ictrp/en>. The definition of clinical trial include preliminary trials (phase I): any study with prospective recruiting of subjects to undergo any health-related intervention (drugs, surgical procedures, equipment, behavioral therapies, food regimen, changes in health care) to evaluate the effects on clinical outcomes (any biomedical or health-related parameter, including pharmacokinetics measurements and adverse reactions).

The Journal has the right not to publish trials not complying with these and other legal and ethical standards determined by international guidelines.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' to assign to the society the copyright in the manuscript and any tables, illustrations or other material submitted for publication as part of the manuscript (the "Article") in all forms and media (whether now known or later developed), throughout the world, in all languages, for the full term of copyright, effective when the Article is accepted for publication.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information on author rights please see <https://www.elsevier.com/copyright>.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such [involvement](#) then this should be stated.

Role of the Funding Source

Authors: please indicate any financial support in the cover letter.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), ~~as long as~~ they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Language

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these).

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the [author](#) but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.eviser.com/profile/api/navigate/BJID>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide ~~whether or not~~ the suggested reviewers are used.

Additional information

Additional information

All papers must be submitted in English.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a [double-blind](#) review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review](#).

Double-blind review

This journal uses double-blind review, which means the identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. [More information](#) is available on our website. To facilitate this, please include the following separately:

Title page (with author details): This should include the title, authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address.

Blinded manuscript (no author details): The main body of the paper (including the references, figures, tables and any acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

- This section should be subdivided by short underscore headings referring to methods used;
- This section cannot contain figures or tables;
- The material and methods used must be carefully described to allow the study repetition and to determine if the results were possible and correct;
- Papers with statistical testing should state the name of the test, the name for each analysis, the comparisons of interest, a justification of that test, the alpha level for all tests, whether the tests were over two-tails, and the actual p-value for each test;
- Data sets should be summarized with descriptive statistics, which should include then for each data set, a clearly labeled measure of centre (such as the mean or median), and a clearly labeled measure of variability (such as the standard deviation or range).

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

The discussion presents the results comparing and evaluating them to literature and the existing knowledge. References to other studies should appear in the Discussion to compare the data obtained in the methods and results of the paper.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-

mail address of each author. Author affiliations should be presented in decreasing hierarchical order (e.g. Harvard University, Harvard Business School, Boston, USA) and should be written as established in its own language (e.g. Universit Paris-Sorbonne; Harvard University, Universidade de So Paulo).

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author **actually did** the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, references should be avoided. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide the keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations; only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Please consider the manuscript formats to verify the number of keywords.

Abbreviations

- Do not abbreviate institutions;
- Abbreviations must follow the format of the National Library of Medicine (USA) as in Index Medicus.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers ~~xxxx~~, ~~yyyy~~]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number ~~zzzz~~]; and the United States Institutes of Peace [grant number ~~aaaa~~].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that **have to** be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of ~~whether or not~~ these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Illustration services

[Elsevier's WebShop](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

- The data presented in this section ~~have to~~ be oriented by universal units;
- Tables should be clear enough to the readers do not need the text to understand them;
- Tables should be presented on separate pages, portrait orientation, and upright on the page;

- Tables should present a short one-line title in bold;
- Tables **have to** be numbered consecutively with Arabic numerals in the text;
- Symbols and abbreviations are defined immediately below the table;
- More information about the table should be below the symbols and abbreviations;
- If the table is from another source, the authors must indicate the source and send the permission to the Journal.

References

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: Van Der J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

If you manage your research with Mendeley Desktop, you can easily install the reference style for this journal by clicking the link below:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/brazilian-journal-of-infectious-diseases>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice. For more information about the Citation Style Language, visit <http://citationstyles.org>.

Reference style

Please quote all the authors in works with until six authors; after six authors, quote the first three followed by the expression et al. Reference Manager or Endnote programs are strongly recommended for use adopting the "Vancouver" style.

Examples for reference citation are presented below. Authors should consult NLM's Citing Medicine for additional information on the reference formats.

Article

Turner SW, Young S, Goldblatt J, Landau LI, Le Souef PN. Child hood asthma and increased airway responsiveness a relationship that begins in infancy. *Am J Respir Crit Care Med.* [2009;179:98-104](#).
Chang ML, Yang CW, Chen JC, et al. Disproportional exaggerated *aspartate* transaminase is a useful prognostic parameter in late leptospirosis. *World J Gastroenterol.* [2005;11:5553-6](#).

Book chapter

Taylor DM, *Personnet* J. Epidemiology and natural history of Helicobacter pylori infection. In: Blaser MJ, Smith PD, *Baydin* J eds. Infections of the gastrointestinal tract. New York: Raven Press, 1994.

Book

Polak JM, Van Noorden S. An introduction to immunochemistry: current techniques and problems. Oxford, UK: Oxford University Press, 1987.

Abstract

Blatt SP, *Butzin* CA, Lucey DR, Melcher GP, Hendrix CR. *Energy* status and CD4 CD29 memory T-cells predict progression to AIDS (abstract *BoB* 3480). In: Program and abstracts: VIII International Conference on AIDS (Amsterdam). Amsterdam: CONGREX Holland, 1992.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where [appropriate, and](#) enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are [a number of](#) ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with [a number of](#) repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking](#) page.

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: ~~xxxx~~ (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals](#) page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement](#) page.

AFTER ACCEPTANCE

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to [download the free Adobe Reader](#), version 9 (or higher). Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the [Adobe site](#).

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and scan the pages and return via e-mail. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

7.5 E-mail da Submissão para a Revista Científica

07/02/2020

De: "Brazilian Journal of Infectious Diseases" <em@editorialmanager.com>

Enviada: 2020/02/07 12:38:17

Para: debora_vandresen@hotmail.com

Assunto: Confirming submission to Brazilian Journal of Infectious Diseases

This is an automated message.

Associated factors of Acinetobacter baumannii isolated in hospitalized patients in the state of Paraná, Brazil: A case-control study

Dear Dra Vandresen,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Brazilian Journal of Infectious Diseases.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/bjid/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Brazilian Journal of Infectious Diseases

More information and support

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: <https://www.elsevier.com/authors>.

FAQ: How can I reset a forgotten password? https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/kw/editorial+manager/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/bjid/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.