

# *Acinetobacter baumannii* multirresistentes: emergência de resistência à polimixina no Rio de Janeiro

## Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii*: the occurrence of polymyxin resistance in Rio de Janeiro

### RESUMO

Daniela Betzler Cardoso Gomes<sup>#</sup>

Gabrielle Limeira Genteluci<sup>#</sup>

Karyne Rangel Carvalho<sup>1</sup>

Luciane Martins Medeiros<sup>II</sup>

Valéria Câmara Almeida<sup>III</sup>

Eduardo de Almeida Ribeiro de Castro<sup>III</sup>

Maria Helena Simões Villas Bôas<sup>1,\*</sup>

A alta prevalência de infecções causadas por *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos levou ao retorno da utilização de antimicrobianos antigos, como as polimixinas, consideradas como “último recurso” na terapia clínica. Esse estudo teve como objetivo determinar o perfil de suscetibilidade de 60 amostras de *A. baumannii* provenientes de um hospital do município do Rio de Janeiro, sendo 27 amostras obtidas de pacientes de um surto ocorrido em 2011, e um total de 33 amostras obtidas tanto de pacientes quanto do ambiente, coletadas no período de 2014 a 2015, no mesmo hospital. As amostras apresentaram elevados ( $\geq 80\%$ ) níveis de resistência para piperacilina/tazobactam, cefotaxima, ciprofloxacino, cefepime, imipenem e meropenem. O maior percentual de resistência apresentado pelas amostras de 2011 foi para o ciprofloxacino (96%). Para as amostras ambientais, a maior percentagem de resistência encontrada foi para cefotaxima (94%). Dentre as 60 amostras testadas, 19 (32%) foram sensíveis à polimixina B (CIM  $\leq 2$   $\mu\text{g/mL}$ ) e 41 (68%) foram resistentes (CIM  $\geq 4$   $\mu\text{g/mL}$ ), sendo 27 obtidas de pacientes (20 do período de 2011 e 7 de 2014-2015) e 14 ambientais. A resistência às polimixinas ainda é rara, porém, o uso extensivo das polimixinas tem levado ao surgimento de amostras de *A. baumannii* resistentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Acinetobacter baumannii*; Resistência; Polimixina B; Infecção Hospitalar; Vigilância Sanitária

### ABSTRACT

Higher prevalence of carbapenem-resistant *A. baumannii* infections has led to the return of old antimicrobials, such as polymyxins, “last-resort” drugs for the clinical therapy. This study aimed to determine the susceptibility profile of 60 *A. baumannii* isolates from a hospital in the city of Rio de Janeiro, 27 isolates obtained from patients in an outbreak in 2011, and a total of 33 isolates from both patients and the hospital environment collected in the 2014-15 period, in the same hospital. Isolates showed high levels ( $\geq 80\%$ ) of resistance to the antimicrobials tested: piperacillin/tazobactam, cefotaxime, ciprofloxacin, cefepime, imipenem and meropenem. The highest resistance percentage presented in isolates from the 2011 period was to ciprofloxacin (96%). Regarding the environmental isolates, the highest resistance percentage was found to cefotaxime (94%). Among the 60 isolates tested, 19 (32%) were sensible to polymyxin B (MIC  $\leq 2$  mg/mL) and 41 (68%) were resistant (MIC  $\geq 4$  mg/mL), 27 were obtained from patients (20 from the 2011 period and 7 from the 2014-2015 period) and 14 from the hospital environment. The resistance to polymyxins is still rare; however, the extensive use of polymyxins has led to the emergence of resistant strains of *A. baumannii*.

**KEYWORDS:** *Acinetobacter baumannii*; Resistance; Polymyxin B; Hospital Infections; Sanitary Surveillance

<sup>I</sup> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>II</sup> Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz (Bio-Manguinhos/Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>III</sup> Hospital Municipal da Piedade, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

# Autores contribuíram igualmente neste artigo

\* E-mail: maria.villas@incqs.fiocruz.br



## INTRODUÇÃO

*Acinetobacter baumannii* tem se destacado como um importante patógeno oportunista responsável por Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS). Sua significância clínica tem sido justificada por fatores como: sua alta prevalência em epidemias e situações endêmicas, capacidade de adquirir resistência aos antibióticos, capacidade de formar biofilmes em dispositivos médicos e resistência à dessecação<sup>1,2,3</sup>.

Nas últimas décadas, *A. baumannii* tem apresentado altos índices de resistência aos antimicrobianos comumente utilizados, seja por mecanismos intrínsecos ou adquiridos<sup>4</sup>. Com o passar dos anos, o tratamento com antimicrobianos mais potentes como os carbapenêmicos se tornou essencial, entretanto, junto ao emprego desses antibióticos, tem sido observado índices crescentes de cepas resistentes a essas drogas, devido à emergência das  $\beta$ -lactamases<sup>2</sup>. Por conta disso o uso dos lipopeptídeos (polimixina B e polimixina E), considerados como “último recurso”, vem sendo cada vez mais necessário.

Na década de 1960, os lipopolipeptídeos foram amplamente utilizados no tratamento de infecções por *A. baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, no entanto, foram substituídos por drogas eficazes e menos tóxicas, como as cefalosporinas e os aminoglicosídeos<sup>5,6</sup>. Na década de 1990, com a emergência de cepas de *A. baumannii* e *P. aeruginosa* resistentes a múltiplas drogas (MDR), seu uso foi restabelecido, especialmente no caso de amostras resistentes aos carbapenêmicos. O uso intensivo das polimixinas nos últimos anos tem levado ao surgimento de amostras de *A. baumannii* resistentes, já tendo sido relatadas taxas de resistência de 40,7% na Espanha e 30,6% na Coreia<sup>7,8</sup>. Atualmente, em alguns países, as polimixinas têm sido consideradas a única opção para o tratamento de infecções graves causadas por *A. baumannii* MDR<sup>9</sup>.

O presente estudo teve como objetivo avaliar amostras de *A. baumannii* de origem clínica e ambiental provenientes de um hospital da rede pública do município do Rio de Janeiro, por meio da identificação por provas bioquímicas e métodos genotípicos e da determinação do perfil de suscetibilidade frente aos antimicrobianos por disco difusão e à polimixina B por microdiluição em caldo. A coleta foi realizada em dois momentos diferentes, no período de março a junho de 2011, referente ao primeiro surto de *A. baumannii* ocorrido no hospital e posteriormente no período de 2014 a 2015, quando foi observada a endemidade do microrganismo.

## METODOLOGIA

### Amostras bacterianas

Foram estudadas 60 amostras de *Acinetobacter baumannii* coletadas em um hospital da rede pública do município do Rio de Janeiro. Entre essas, 27 amostras obtidas de pacientes foram envolvidas em um surto ocorrido no período de março a junho de 2011, e o restante foi coletada no período de 2014 a 2015, sendo 15 amostras obtidas de pacientes e 18 amostras ambientais (oriundas de grades de leito, cabeceiras de leito e mesas de

cabeceira) coletadas na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do mesmo hospital. Os surtos foram identificados e caracterizados pela própria equipe da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do hospital e reportados aos autores desse trabalho com o objetivo de auxiliar no controle dos surtos.

### Identificação bacteriana

As amostras obtidas de pacientes foram inicialmente identificadas no hospital pelo sistema automatizado VITEK 2 (Bio Mérieux Inc., Hazwood, Mo). Para realizar a pesquisa da presença de *A. baumannii* de origem ambiental, foram amostradas as seguintes superfícies da UTI: cabeceiras de leitos, mesas de cabeceira, grades de leitos, bancada central do setor, estetoscópios, pias e maçanetas. Para tal, duas coletas foram feitas (com intervalo de um mês) através de esfregaço em superfície com *swab* estéril umedecido em solução salina a 0,85%. O setor possui uma bancada central, quatro pias e 10 *boxes*, cada um com um leito e uma mesa de cabeceira, além de outros equipamentos. Ao todo foram coletados 77 *swabs* das superfícies.

No laboratório de pesquisa, após verificação da pureza, foram realizados os seguintes testes para confirmação de identificação do gênero: observação das características morfotintoriais após coloração pelo método de Gram, teste da produção da citocromo oxidase, teste de oxidação-fermentação da glicose em meio de Hugh-Leifson, utilização do Citrato (Simmons), crescimento a 42 °C, teste de Motilidade e produção de Indol, segundo Murray et al.<sup>10</sup>. Para a identificação em nível de espécie das amostras obtidas de pacientes foram realizados os seguintes métodos: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o gene *rpoB*<sup>11</sup>, posterior sequenciamento e análise do gene, e também PCR para o gene *bla*<sub>OXA-51</sub><sup>12</sup>. A confirmação da identificação das amostras ambientais foi realizada através da PCR do gene *bla*<sub>OXA-51</sub><sup>12</sup>, além da técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF MS (VITEK®). Todas as amostras foram estocadas em caldo Caldo Triptona de Soja (TSB) (Difco®), contendo 20% de glicerol (v/v) e mantidos em *freezer* a -20 °C e -70 °C.

### Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos

#### Técnica de disco difusão

As amostras foram submetidas ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos pela técnica de disco difusão, conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*<sup>13,14</sup>. Os antibióticos utilizados foram: amicacina (30 µg), gentamicina (10 µg), ampicilina-sulbactam (10 µg/10 µg), piperacilina-tazobactam (100 µg/10 µg), cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefepima (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), imipenem (10 µg) e meropenem (10 µg) (SENSIFAR®).

Determinação da concentração inibitória mínima para polimixina B por microdiluição em caldo

As amostras foram avaliadas com relação à suscetibilidade à polimixina B pelo método de microdiluição em caldo. A metodologia e os valores de corte utilizados foram os preconizados pelo CLSI<sup>14,15</sup>.



Foram selecionadas para serem testadas as seguintes concentrações antimicrobianas: 64 µg/mL, 32 µg/mL, 16 µg/mL, 8 µg/mL, 4 µg/mL, 2 µg/mL, 1 µg/mL, 0,5 µg/mL, 0,25 µg/mL e 0,125 µg/mL. A leitura foi realizada através de inspeção visual, por meio da qual a primeira concentração que não apresentou crescimento bacteriano (turvação do meio) foi considerada a concentração inibitória mínima. Os ensaios foram realizados em triplicata e a cepa *Escherichia coli* ATCC 25.922 foi utilizada como controle dos testes.

## RESULTADOS

### Identificação bacteriana e distribuição das amostras

Através das provas bioquímicas convencionais, o gênero *Acinetobacter* foi determinado nas amostras. Além disso, por meio da técnica de PCR, foi observada a presença do gene *bla*<sub>OXA-51</sub> em todas as amostras. A confirmação da identificação de *A. baumannii* nas amostras obtidas de pacientes foi feita através do sequenciamento do gene *rpoB* e análise por comparação com as sequências depositadas no GenBank, utilizando-se a ferramenta BLAST, onde todas as amostras apresentaram um nível de similaridade ≥ 98%. Já a identificação das amostras ambientais foi confirmada através de MALDI-TOF MS, utilizando o valor de identificação ≥ 75%<sup>16</sup>. Assim, a identificação de todas as 27 amostras obtidas de pacientes pertencentes ao surto em 2011 foi confirmada, além de 15 amostras coletadas de pacientes no período de 2014 e 2015. Em relação às amostras ambientais, 18 amostras de *A. baumannii* foram obtidas da UTI do hospital estudado, sendo 13 (72%) amostras de cabeceiras de leito, quatro (22%) de mesas de cabeceira e uma (6%) de grade de leito.

### Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos através de Disco-difusão

A avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos mostrou que as amostras pertencentes ao surto de 2011 apresentaram taxas elevadas de resistência para todos os antimicrobianos testados, com percentagens iguais ou maiores que cerca de 80% para oito dos dez antimicrobianos testados (Figura 1). O maior percentual de resistência encontrado foi para o ciprofloxacino (96%, n = 26), seguida por cefotaxima, cefepime e piperacilina-tazobactam (93%, cada), meropenem e imipenem (85% e 81%, respectivamente), ampicilina/sulbactam e ceftazidima (78%, cada). Amicacina foi o antimicrobiano que apresentou a maior taxa de suscetibilidade (44%), seguida da gentamicina (41%).

Em relação às amostras obtidas de pacientes e ambientais coletados em 2014 e 2015, foi observada a presença de perfis de suscetibilidade semelhantes entre os antimicrobianos testados e também foram encontrados altos percentuais de resistência a quase todas as classes testadas (Figura 1). As amostras obtidas de pacientes apresentaram os maiores percentuais de resistência aos antimicrobianos cefotaxima, cefepime, ciprofloxacino, imipenem e meropenem (93%, n = 14), seguida de piperacilina-tazobactam (86%). A menor percentagem de resistência encontrada foi aos antimicrobianos ampicilina-sulbactam e amicacina (40%). Já entre as amostras ambientais, o maior percentual de resistência encontrado foi a cefotaxima (94%, n = 17), seguido pelo ciprofloxacino (89%), cefepime, imipenem, meropenem e piperacilina-sulbactam (84%, cada). A menor percentagem de resistência encontrada foi aos antimicrobianos ampicilina-sulbactam e gentamicina (44%, cada).

De acordo com o perfil de resistência às diferentes classes de antimicrobianos testadas, algumas amostras foram classificadas como multirresistentes (MDR)<sup>17</sup>. Entre as amostras do surto de 2011, 63% foram resistentes a pelo menos um agente de três ou mais classes testadas, sendo consideradas multirresistentes, além de 33% que foram resistentes a todos os antimicrobianos testados. Em relação às amostras obtidas de pacientes e ambientais coletados em 2014 e 2015, 73% foram MDR e 15% foram resistentes a todos os antimicrobianos testados.

Todas as amostras que apresentaram resultados intermediários foram consideradas resistentes.

### Avaliação da concentração inibitória mínima à polimixina B

Dentre as 60 amostras avaliadas, 19 (32%) foram sensíveis à polimixina B (CIM ≤ 2 µg/mL) e 41 (68%) foram resistentes (CIM ≥ 4 µg/mL). Dentre as resistentes, a maioria apresentou CIM de 4 µg/mL e 8 µg/mL, respectivamente 28% e 27% (n = 60). Avaliando em paralelo as amostras do surto de 2011 com as obtidas de pacientes e ambientais coletadas em 2014 e 2015, foi observada uma diminuição na resistência à polimixina B de 74% para 64% (dados não mostrados). A maioria das amostras de 2011 apresentou CIM de 8 µg/mL (52%, n = 14), enquanto as amostras obtidas de pacientes de 2014 e 2015 apresentaram em sua maioria CIM de 2 µg/mL (40%, n = 6) e as amostras ambientais CIM de 8 µg/mL (56%, n = 10) (Figura 2).

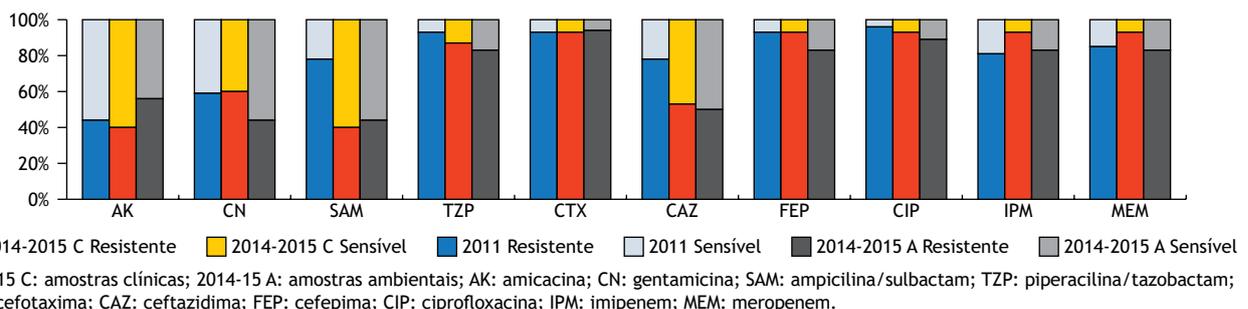
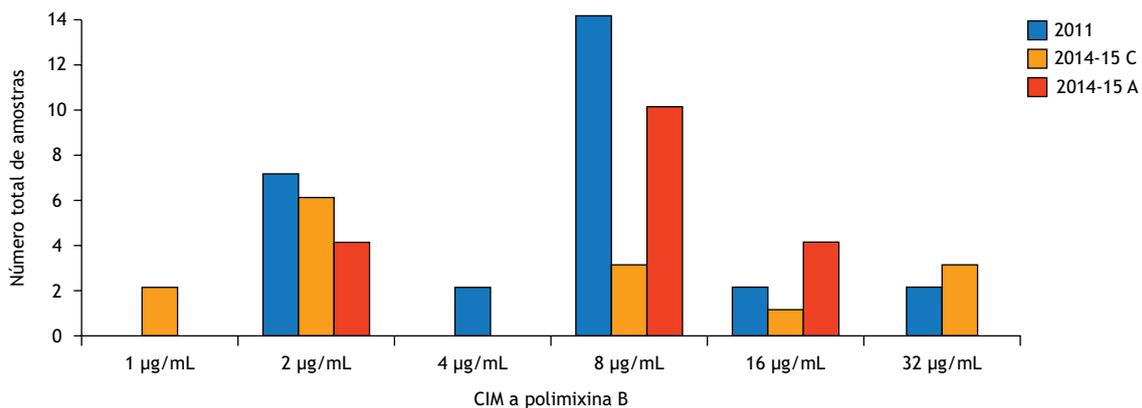


Figura 1. Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco difusão das amostras obtidas de pacientes e ambientais de *A. baumannii*, referentes ao surto de 2011 e ao período de 2014 a 2015.



2014-15 C: amostras clínicas; 2014-15 A: amostras ambientais

Figura 2. Número de amostras do surto de 2011 e do período de 2014 e 2015 que apresentou diferentes concentrações inibitórias mínimas.

## DISCUSSÃO

Os altos níveis de multirresistência ( $\geq 80\%$ ) às diferentes classes de antimicrobianos em *A. baumannii* encontrados no estudo, em casos de infecções e em amostras de ambiente hospitalar, no Rio de Janeiro, ressaltam o reflexo de achados globais relacionados a este patógeno oportunista. Diversos estudos de países da América Latina têm relatado altos níveis de multirresistência em *A. baumannii*<sup>18,19,20</sup>. No Brasil, Carvalho et al.<sup>21</sup>, no Rio de Janeiro, e outros estudos com amostras de diversas regiões brasileiras, relataram resultados semelhantes envolvendo os mesmos antimicrobianos. Esses estudos também revelaram maior e menor percentagens de resistência de *A. baumannii* aos antimicrobianos ciprofloxacino e amicacina, respectivamente<sup>22,23</sup>. Apesar desse resultado, a toxicidade da amicacina limita seu uso clínico<sup>24</sup>.

O uso indiscriminado dos antimicrobianos carbapenêmicos tem levado as amostras de *A. baumannii* a apresentarem elevados percentuais de resistência a essas drogas. Um estudo com amostras coletadas no Rio de Janeiro e Maranhão observou 100% de resistência ao meropenem, já em relação ao imipenem apenas 23% das amostras coletadas no Rio de Janeiro eram resistentes<sup>25</sup>. Outro estudo com amostras mais recentes, oriundas de diversas regiões brasileiras, relatou resistência superior a 90% a esses dois antimicrobianos<sup>23</sup>, resultado semelhante ao encontrado em nosso estudo.

Com o crescente aumento da resistência aos carbapenêmicos, as polimixinas se tornaram a última opção de tratamento de amostras de *A. baumannii* panresistentes. No entanto, a resistência a esses agentes também tem crescido e sido relatada em vários países<sup>26,27,28</sup>. Um estudo englobando dados de diversos trabalhos da América Latina com amostras de *A. baumannii* de 2002 a 2010 relatou uma alta suscetibilidade ( $\geq 98\%$ ) à colistina. Porém, foi observado um isolado resistente em um estudo em 2008 no Brasil, revelando a necessidade de estudos que correlacionem a possível resistência a esse agente mediante sua exposição<sup>29</sup>. Em outro estudo brasileiro, com amostras de *A. baumannii* MDR de 2008 a 2009, foi observada a resistência à polimixina B de 39% das amostras<sup>30</sup>. No

presente estudo, com amostras mais recentes, 68% foram resistentes à polimixina B. Um possível motivo para o aparecimento de cepas resistentes à polimixina B é a heterorresistência, que já foi descrita para polimixinas em *A. baumannii*<sup>27,28,31,32</sup>. Apesar dos mecanismos de resistência de *A. baumannii* à polimixina B ainda não terem sido esclarecidos, acredita-se que mutações no gene *pmrB* sejam responsáveis por esse perfil<sup>33,34,35</sup>. Esses genes não são geralmente transmissíveis entre as bactérias, já que na transmissão horizontal dificilmente poderá ocorrer uma ampla disseminação<sup>36</sup>. Porém, recentemente foi descrito pela primeira vez um plasmídeo mediando resistência a colistina<sup>37</sup>, presente em uma cepa comensal de *E. coli* isolada de porcos, sendo que esse plasmídeo foi prontamente compartilhado entre outras cepas de *E. coli*. Uma explicação para essa evidência poderia ser o amplo uso da colistina na agricultura desde 1950, sendo que em 2010 esse foi o quinto antibiótico mais vendido para o uso na agricultura na Europa<sup>38</sup>. Segundo Liu et al.<sup>37</sup>, dados obtidos na China mostram que cepas de *E. coli*, obtidas de porcos e outros animais, têm altas taxas de resistência à colistina mediada por plasmídeos. Esses achados sugerem uma relação muito direta entre o uso da colistina na agricultura e a detecção de cepas resistentes em animais, nos alimentos e em humanos. Outros relatos também já foram realizados, sendo a presença do gene plasmidial *mcr-1* também detectada em uma cepa de *E. coli* obtida de infecção do trato urinário de um paciente nos Estados Unidos<sup>39</sup>. Uma possibilidade para interromper essa relação, segundo Paterson e Harris<sup>36</sup>, seria a limitação ou mesmo a suspensão do uso da colistina na agricultura da China, porém, os autores discutem que o insucesso dessas medidas poderá criar um grande problema de saúde pública.

Desde o surgimento da resistência à polimixina B, ainda não surgiram outras opções terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por amostras de *Acinetobacter* spp. MDR<sup>40</sup>.

O aumento da resistência à polimixina B deve ser monitorado e relatado às autoridades sanitárias, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), já que providências devem ser tomadas no sentido que a unidade hospitalar possa ser acompanhada e medidas de orientação sejam aplicadas. Essa preocupação vem sendo externada desde 2001 em publicação de Gales et al.<sup>41</sup>,



quando foi realizada uma revisão dos critérios de interpretação disponíveis e das diretrizes preconizadas para o controle de qualidade dos métodos de avaliação da suscetibilidade antimicrobiana para a polimixina B e colistina. Nela, os autores recomendaram que os laboratórios clínicos devessem exclusivamente usar os métodos dilucionais de avaliação da suscetibilidade para auxiliar na aplicação terapêutica desses antimicrobianos. Em 2003, no Brasil, Reis et al.<sup>42</sup> descreveram o surgimento de cepas resistentes à polimixina B possivelmente devido à pressão seletiva e disseminação de cepas clonais, sugerindo que medidas deveriam ser adotadas para impedir a emergência das cepas resistentes.

Somente em 2013, a Anvisa publicou uma Nota Técnica contendo medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Entre os itens preconizados existe a orientação terapêutica em caso de terapia empírica para utilização de polimixina B ou colistina, sempre em associação com um ou mais antimicrobianos, já que a monoterapia pode levar ao rápido desenvolvimento de resistência. Além disso, deve ser providenciada imediatamente a comunicação a Comissão/Serviço de Controle de Infecção Hospitalar da unidade hospitalar. A participação do laboratório clínico é essencial, já que uma vez detectado um microrganismo multirresistente, a comunicação deverá ser realizada imediatamente aos responsáveis pela tomada de decisão no

âmbito do serviço de saúde, em geral ao profissional assistente e à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) que deverá adotar as medidas de prevenção e controle e às Coordenações de Controle de Infecção Hospitalar do Estado (CECIH), Município (CMCIH), Distrito Federal e, finalmente, à Anvisa<sup>43</sup>. Por conta disso, medidas de controle de infecção mais rigorosas devem ser adotadas para evitar o surgimento e a propagação de tais amostras.

## CONCLUSÃO

As amostras obtidas de pacientes e as ambientais de *A. baumannii* avaliadas nesse estudo apresentaram altas taxas de resistência à maioria das classes de antimicrobianos testados, inclusive aos carbapenêmicos. Com esse crescente aumento da resistência aos carbapenêmicos, as polimixinas se tornaram a última opção de tratamento de amostras de *A. baumannii* panresistentes. No entanto, encontramos 68% de resistência à polimixina B. Esse resultado é alarmante, visto que a última alternativa de tratamento dessas infecções também está se tornando ineficaz. Um monitoramento em outras unidades de saúde deve ser realizado visando à verificação dessa resistência em outras cepas de *A. baumannii* e os resultados devem ser relatados a autoridades sanitárias como a Anvisa.

## REFERÊNCIAS

1. Roberts SA, Findlay R, Lang SD. Investigation of an outbreak of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care burns unit. *J Hosp Infect.* 2001;48(3):228-32. doi:10.1053/jhin.2001.0985
2. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(3):538-82. doi:10.1128/CMR.00058-07
3. Breijl A, Dijkshoorn L, Lagendijk E, Meer J, Koster A, Bloemberg G et al. Do biofilm formation and interactions with human cells explain the clinical success of *Acinetobacter baumannii*? *PLoS One.* 2010;5(5):e10732. doi:10.1371/journal.pone.0010732
4. Lee JC, Koerten H, Broek P, Beekhuizen H, Wolterbeek R, Barselaar M et al. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. *Res Microbiol.* 2006;157(4):360-6. doi:10.1016/j.resmic.2005.09.011
5. Horton J, Pankey GA. Polymyxin B, colistin, and sodium colistimethate. *Med Clin North Am.* 1982;66(1):135-42. doi:10.1016/S0025-7125(16)31447-X
6. Drabick JJ, Bhattacharjee AK, Hoover DL, Siber GE, Morales VE, Young LD et al. Covalent polymyxin B conjugate with human immunoglobulin G as an antiendotoxin reagent. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(3):583-8.
7. Ko KS, Suh JY, Kwon KT, Jung SI, Park KH, Kang CI et al. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(5):1163-7. doi:10.1093/jac/dkm305
8. Arroyo LA, Mateos I, González V, Aznar J. *In vitro* activities of tigecycline, minocycline, and colistin-tigecycline combination against multi- and pandrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* group. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(3):1295-6. doi:10.1128/AAC.01097-08
9. Kassamali Z, Jain R, Danziger LH. An update on the arsenal for multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: polymyxin antibiotics. *Int J Infect Dis.* 2015;30:125-32. doi:10.1016/j.ijid.2014.10.014
10. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of clinical microbiology.* 9th ed. Washington, DC: ASM Press; 2007.
11. Gundi VA, Dijkshoorn L, Burignat S, Raoult D, La Scola B. Validation of partial rpoB gene sequence analysis for the identification of clinically important and emerging *Acinetobacter* species. *Microbiology.* 2009;155(Pt 7):2333-41. doi:10.1099/mic.0.026054-0
12. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27(4):351-3. doi:10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard. 10th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009. (CLSI document, M2-A10).
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty fifth informational supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. (CLSI document M100-S25).



15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 9th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. (CLSI document, M07-A9).
16. Pailhoriès H, Daure S, Eveillard M, Joly-Guillou ML, Kempf M. Using Vitek MALDI-TOF mass spectrometry to identify species belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex: a relevant alternative to molecular biology? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83(2):99-104. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.009
17. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-81. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
18. Leal AL, Buitrago G, Sanchez-Pedraza R, Castillo-Londoño JS, Cortes-Luna JA, Álvarez-Moreno CA et al. The emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Colombia: a time-series analysis, 2001-2007. *Rev Salud Pública*. 2011;13(4):691-702. doi:10.1590/S0124-00642011000400014
19. Bocanegra-Ibarias P, Pena-López C, Camacho-Ortiz A, Llaça-Díaz J, Silva-Sánchez J, Barrios H et al. Genetic characterisation of drug resistance and clonal dynamics of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting in Mexico. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(3):309-13. doi:10.1016/j.ijantimicag.2014.10.022
20. Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Guzmán-Blanco M. Gram-negative infections in adult intensive care units of latin america and the Caribbean. *Critical Care Res Pract*. 2014;2014:480463. doi:10.1155/2014/480463
21. Carvalho KR, Carvalho-Assef AP, Peirano G, Santos LC, Pereira MJ, Asensi MD. Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying bla (OXA-23) collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34(1):25-8. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.12.009
22. Martins N, Martins IS, Freitas WV, Matos JA, Girão VB, Coelho-Souza T et al. Imported and intensive care unit-born *Acinetobacter baumannii* clonal complexes: one-year prospective cohort study in intensive care patients. *Microb Drug Resist*. 2013;19(3):216-23. doi:10.1089/mdr.2012.0174
23. Chagas TPG, Carvalho KR, Santos ICO, Carvalho-Assef AP, Asensi MD. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil (2008-2011): countrywide spread of OXA-23-producing clones (CC15 and CC79). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;79(4):468-72. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.006
24. Fishbain J, Peleg AY. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Clin Infect Dis*. 2010;51(1):79-84. doi:10.1086/653120
25. Fonseca EL, Scheidegger E, Freitas FS, Cipriano R, Vicente ACP. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of carO alleles expression and blaOXA-23 gene. *BMC Microbiol*. 2013;13(1):245. doi:10.1186/1471-2180-13-245
26. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(1):351-2. doi:10.1128/AAC.00766-07
27. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(9):2946-50. doi:10.1128/AAC.00103-06
28. Yau W, Owen RJ, Poudyal A, Bell JM, Turnidge JD, Yu HH et al. Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect*. 2009;58(2):138-44. doi:10.1016/j.jinf.2008.11.002
29. Labarca JA, Salles MJC, Seas C, Guzmán-Blanco M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. *Crit Rev Microbiol*. 2016;42(2):276-92. doi:10.3109/1040841X.2014.940494
30. Martins HSI, Bomfim MRQ, França RO, Farias LM, Carvalho MAR, Serufo JC et al. Resistance markers and genetic diversity in *Acinetobacter baumannii* strains recovered from nosocomial bloodstream infections. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(2):1465-78. doi:10.3390/ijerph110201465
31. Rodríguez CH, Bombicino K, Granados G, Nastro M, Vay C, Famiglietti A. Selection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in postneurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65(2):188-91. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2009.05.019
32. Chang KC, Lin MF, Lin NT, Wu WJ, Kuo HY, Lin TY et al. Clonal spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in eastern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012;45(1):37-42. doi:10.1016/j.jmii.2011.09.019
33. Llewellyn AC, Zhao J, Song F, Parvathareddy J, Xu Q, Napier BA et al. NaxD is a deacetylase required for lipid A modification and *Francisella* pathogenesis. *Mol Microbiol*. 2012;86(3):611-27. doi:10.1111/mmi.12004
34. Chin CY, Gregg KA, Napier BA, Ernst RK, Weiss DS. A PmrB-regulated deacetylase required for lipid A modification and polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(12):7911-4. doi:10.1128/AAC.00515-15
35. Lim TP, Ong RT, Hon PY, Hawkey J, Holt KE, Koh TH et al. Multiple genetic mutations associated with polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(12):7899-902. doi:10.1128/AAC.01884-15
36. Paterson DL, Harris PNA. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):132-3. doi:10.1016/S1473-3099(15)00463-6
37. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161-8. doi:10.1016/S1473-3099(15)00424-7



38. European Medicines Agency. Use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. London: European Medicines Agency; 2013.
39. McGann P, Snedrud E, Maybank R, Corey B, Ong AC, Clifford R et al. *Escherichia coli* harboring mcr-1 and blaCTX-M on a novel IncF plasmid: first report of mcr-1 in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(7):4420-1. doi:10.1128/AAC.01103-16
40. Al-Sweih NA, Al-Hubail MA, Rotimi VO. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. *J Chemother*. 2011;23(1):13-6. doi:10.1179/joc.2011.23.1.13
41. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol*. 2001;39(1):183-90. doi:10.1128/JCM.39.1.183-190.2001
42. Reis AO, Luz DAM, Tognim MCB, Sader HS, Gales AC. Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next? *Emerg Infect Dis*. 2003;9(8):1025-7. doi:10.3201/eid0908.030052
43. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Nota técnica nº 01/2013. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2013.

#### Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Incqs), pelo apoio financeiro e estrutural. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro através da concessão das bolsas de mestrado de Daniela Betzler Cardoso Gomes e Gabrielle Limeira Genteluci. Ao Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do INCQS/Fiocruz. Karyne Rangel Carvalho é bolsista do PNPd da Capes.

#### Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.

Para ver uma cópia desta licença, visite [http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt\\_BR](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR).