

Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Análises Clínicas
Serviço de Diagnóstico Laboratorial
Unidade de Microbiologia

Avaliação clínica e microbiológica de isolados do Complexo *Burkholderia cepacia* de pacientes atendidos em hospital universitário terciário no contexto da pandemia do COVID-19

Helena de Ávila Peixoto e Silva

Porto Alegre, 2021

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Análises Clínicas

Serviço de Diagnóstico Laboratorial

Unidade de Microbiologia

Avaliação clínica e microbiológica de isolados do Complexo *Burkholderia cepacia* de pacientes atendidos em hospital universitário terciário no contexto da pandemia do COVID-19

Trabalho de conclusão de residência
apresentado ao Programa de
Residência em Análises Clínicas.

Orientadora: Dra. Larissa Lutz

Co-orientador: Dr. Afonso Luís Barth

Porto Alegre, 2021

CIP - Catalogação na Publicação

Silva, Helena de Ávila Peixoto e
Avaliação clínica e microbiológica de isolados do
Complexo Burkholderia cepacia de pacientes atendidos
em hospital universitário terciário no contexto da
pandemia do COVID-19 / Helena de Ávila Peixoto e
Silva. -- 2021.

28 f.

Orientador: Larissa Lutz.

Coorientador: Afonso Luís Barth.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Farmácia, Programa de residência em análises
clínicas - HCPA, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Burkholderia cepacia complex. 2.
Farmacocinética/farmacodinâmica. 3. concentração
inibitória mínima. 4. teste de suscetibilidade aos
antimicrobianos. I. Lutz, Larissa, orient. II. Barth,
Afonso Luís, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Complexo Burkholderia cepacia (CBc)	5
2.2 Fibrose cística.....	6
2.3 Resistência antimicrobiana.....	7
2.4 Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para CBc.....	8
3. OBJETIVOS.....	10
3.1 Objetivo geral.....	10
3.2 Objetivos específicos.....	10
4. ASPECTOS ÉTICOS E POSSÍVEIS RISCOS.....	10
5. RESULTADOS.....	11
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	11
7. REFERÊNCIAS.....	12
8. ANEXO.....	15

1. INTRODUÇÃO

O Complexo *Burkholderia cepacia* (CBc) é um grupo de bactérias Gram-negativas não fermentadoras da glicose que compõem pelo menos 21 espécies (DE SMET et al., 2015) incluindo *B. cepacia*, *B. cenocepacia*, *B. multivorans* e *B. vietnamiensis*, que são patógenos oportunistas. Esses organismos são particularmente problemáticos em pacientes portadores de Fibrose Cística (FC), e são responsáveis por elevada mortalidade (DREVINEK, MAHENTHIRALINGAM, 2010). Além disso, CBc pode colonizar e causar infecções sanguíneas, no trato respiratório e urinário de pacientes imunocomprometidos. Estudos recentes relatam infecções por bactérias do CBc em pacientes de Unidade de Tratamento Intensivo (UTI), sendo considerados patógenos oportunistas do trato respiratório, incluindo em pacientes com COVID-19. (Tüfekci et al., 2021)

Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva que acomete vários órgãos. A doença pulmonar apresenta o pior prognóstico, com obstrução das vias aéreas por muco, infecções agudas e crônicas e inflamação, que levam a danos progressivos e insuficiência respiratória (CAVERLY & LIPUMA, 2018)

Opções de tratamento para infecções por CBc são restritas à ceftazidima ou outras cefalosporinas de amplo espectro e meropenem, pois a resistência intrínseca impede a ação de muitas outras classes de antimicrobianos (ZHOU et al., 2007). Os principais fatores que contribuem para a resistência intrínseca estão relacionados à permeabilidade da membrana externa, sendo os lipopolissacarídeos (LPS) e as porinas os principais responsáveis pela resistência a antimicrobianos catiônicos como as polimixinas e aminoglicosídeos (RHODES & SCHWEIZER, 2016). A produção de beta-lactamases também pode conferir resistência a muitos ou todos os antibióticos beta-lactâmicos. Além disso, as espécies do CBc formam biofilmes que podem proteger a célula bacteriana tanto das defesas do hospedeiro quanto da ação dos antibióticos. (VINION-DUBIEL et al., 2004)

Normalmente, os antibióticos são administrados por 10 a 21 dias e as diretrizes de tratamento dos pacientes com FC recomendam a associação de pelo menos dois antibióticos diferentes. (CYSTIC FIBROSIS TRUST, 2009; FLUME et al., 2009). O uso de antibióticos inalatórios como a tobramicina, colistimetato e aztreonam como

terapia supressiva crônica é um dos pilares do controle da infecção respiratória em pacientes fibrocísticos (FLUME et al., 2009).

Para a determinação da suscetibilidade in vitro, são utilizados os pontos de corte conforme a farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) da ceftazidima e do meropenem, já que não há pontos de corte clínicos específicos para as espécies do Complexo propostas pelo European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), órgão europeu que padroniza os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos. No Brasil, o Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) padroniza os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos e estabelece os critérios de interpretação dos mesmos, seguindo as recomendações do EUCAST, o qual deve ser adotado por todos os laboratórios brasileiros de microbiologia segundo portaria número 64 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2018.

Atualmente, os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para CBc são limitados pela escassez de evidências entre a suscetibilidade in vitro e o desfecho clínico. Contudo, um recente estudo concluiu que o conhecimento da suscetibilidade in vitro pode orientar os médicos no tratamento de CBc. (HORSLEY, JONES, LORD, 2016). Com isso, justifica-se a importância de avaliar o perfil de suscetibilidade de CBc isolados de amostras clínicas dos pacientes atendidos no HCPA, estabelecer uma distribuição das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e comparar a interpretação segundo o EUCAST com a proposta pelo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), órgão americano que padroniza os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos e os critérios de interpretação dos mesmos. Além disso, considerando que o Hospital de Clínicas de Porto Alegre é um Centro de Referência para o atendimento de pacientes com FC, bem como para o atendimento de pacientes graves com COVID-19, o estudo torna-se ainda mais relevante para ampliar o entendimento do perfil de resistência dos patógenos do CBc nestas populações.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Complexo *Burkholderia cepacia*

Entre as diversas espécies do gênero *Burkholderia*, foi identificado um grupo de organismos fenotipicamente semelhantes denominado complexo *Burkholderia cepacia*. Inicialmente, estavam descritas dez espécies pertencentes a este grupo, denominadas de genomovares (números de I a X), (Lutz, 2011) porém, atualmente, já estão identificadas pelo menos 21 espécies. Em pacientes com FC, organismos do CBc podem causar “síndrome cepacia”, caracterizada por pneumonia necrotizante, sepse e prognóstico muito negativo. Foi observado que estes organismos são capazes de se aderir às células epiteliais e mucinas e também são capazes de invadir e sobreviver dentro de células epiteliais das vias aéreas e de macrófagos (SAJJAN, 1995).

Demonstrou-se que várias espécies de CBc são transmissíveis de um paciente com FC a outro e que são capazes de causar surtos epidêmicos. *B. cenocepacia* e *B. multivorans* predominam na FC e são encontradas em maior porcentagem nas amostras respiratórias, representando aproximadamente 85 - 97% de todas as infecções por CBc na FC. (DREVINEK, MAHENTHIRALINGAM, 2010)

Estudos epidemiológicos do final dos anos 1990 demonstraram que *B. cenocepacia* (anteriormente CBc genomovar III) era o patógeno do Complexo mais prevalente na maioria das populações de FC estudadas no mundo. Através de análise da sequência gênica *recA*, a espécie foi dividida em quatro grupos filogenéticos (IIIA a IIID), mas quase todos os isolados clinicamente relevantes pertencem aos grupos IIIA e IIIB. (DREVINEK, MAHENTHIRALINGAM, 2010)

A taxa de mortalidade associada ao CBc foi avaliada no centro de FC adulto de Manchester o qual observou que apenas 66,6% dos pacientes sobreviviam por mais de 5 anos após a aquisição de *B. cenocepacia*. Essa taxa de sobrevivência de 5 anos foi relativamente menor quando comparada com a taxa em pacientes infectados por *P. aeruginosa* (sobrevivência em 5 anos= 85,3%). (JONES et al, 2004).

Além de causar infecções em pacientes com CF, a patogenicidade do CBc não é limitada a esse grupo de pacientes. Essas bactérias são também relatadas como colonizantes e infectantes do trato respiratório, urinário e até mesmo em hemocultura,

principalmente em pacientes imunodeprimidos. CBc tem sido reportado em UTI's, mas apresenta baixa morbidade e mortalidade, apesar de ter resistência intrínseca a vários antimicrobianos. (Tüfekci et al., 2021)

Burkholderia cepacia selective agar (BCSA), oxidation-fermentation polymyxin bacitracin lactose agar (OFPBL) e *Pseudomonas cepacia* agar (PCA) são os principais meios de cultura para isolamento de CBc. CBc pode levar de 48 - 72 horas para crescer nesses meios e geralmente apresentam odor fétido. (HENRY et al., 1999) Os laboratórios de microbiologia clínica contam com os testes moleculares, incluindo a avaliação do polimorfismo do gene *recA* em ensaios baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR), para a identificação das espécies do Complexo, conforme já mencionado. Mais recentemente é possível utilizar a metodologia de espectrometria de massas por Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF MS) para identificação de espécies de CBc (FEHLBERG et al., 2016, PAYNE et al., 2005, VAN PELT et al., 1999).

2.2 Fibrose cística

Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva na qual ocorrem mutações no gene que codifica a proteína transmembrana reguladora de condutância (CFTR) o que acarreta em transporte anormal de íons. A anormalidade no transporte de íons resulta em diminuição de água no lúmen que recobre os tecidos e conseqüentemente no acúmulo de muco – por isso a FC é também conhecida como mucoviscidose. O acúmulo de muco afeta a funcionalidade de diversos órgãos, sendo o pulmão um dos órgãos mais afetados com obstrução das vias aéreas pelo muco, o que acarreta em infecções respiratórias agudas e crônicas e conseqüente inflamação. (CAVERLY & LIPUMA, 2018) De fato, é o comprometimento da função do trato respiratório que mais contribui para a alta morbimortalidade dos pacientes com FC. Os pulmões desses pacientes invariavelmente tornam-se colonizados cronicamente por bactérias que, na maioria dos casos, não podem ser erradicadas. Isso invariavelmente leva à insuficiência respiratória e à morte prematura de muitos pacientes (BARTH, PITT, 1998)

Embora uma variedade relativamente grande de espécies microbianas possa ser recuperada do escarro de pacientes fibrocísticos é aceito que apenas alguns desempenham um papel importante na colonização/infecção das vias aéreas. S.

aureus, *H. influenzae*, *P. aeruginosa* e CBc (geralmente nesta sequência) são os "patógenos clássicos" implicados na infecção pulmonar na FC (SALSGIVER et al., 2016; CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2016). Assim, a avaliação da presença destas e outras bactérias no trato respiratório dos pacientes com FC é um fator importante para o tratamento e acompanhamento dos pacientes. Além da identificação das bactérias na via respiratória, a determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos tem papel fundamental na escolha dos antibióticos para o tratamento da infecção respiratória em FC. As principais amostras clínicas do trato respiratório de FC para cultura bacteriana incluem o swab de orofaringe ou nasofaringe, escarro por expectoração e, menos comumente, lavado broncoalveolar (LBA).

Embora os pacientes com FC sejam vulneráveis ao longo da vida a várias infecções respiratórias bacterianas, que são causadas na maioria das vezes por patógenos oportunistas, um dos patógenos que mais se destaca é a *Burkholderia cenocepacia*, membro do CBc.

2.3 Resistência antimicrobiana

Opções de tratamento para infecções por CBc são restritas à ceftazidima ou outras cefalosporinas de amplo espectro e meropenem, pois a resistência intrínseca impede a ação de muitas outras classes de antimicrobianos (ZHOU et al., 2007).

A diminuída permeabilidade da membrana externa é um importante contribuinte para a resistência aos antimicrobianos em CBc. A resistência intrínseca do CBc se deve principalmente a duas moléculas de superfície da célula das espécies do complexo: o Lipopolissacarídeo (LPS) e as porinas. Na maioria das espécies de CBc, o LPS desempenha papel importante na resistência a antibióticos peptídicos catiônicos. A modificação do lipídio A pela amino-arabinose e alterações no núcleo do LPS são os principais determinantes para resistência intrínseca às polimixinas. Isolados de *B. cenocepacia* de FC resistente a beta-lactâmicos mostraram ter um conteúdo de porinas diminuído (ARONOFF, 1988) especialmente se estiverem em combinação com o mecanismo de efluxo. A resistência devido à mutação no alvo dos antibióticos tem sido associada a fluoroquinolonas, mas também tem sido implicada em outros antibióticos. (RHODES & SCHWEIZER, 2016).

2.4 Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para CBc

Existem diferentes comitês de padronização das técnicas e das interpretações dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) sendo os principais o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) – comitê Norte Americano e o European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) - comitê Europeu. No Brasil foi estabelecido em 2013 o Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST), o qual segue as normativas do EUCAST com adaptações para a realidade brasileira. Em 11 de dezembro de 2018 a Portaria No 64 do Ministério da Saúde determinou a utilização das normas de interpretação para os TSA tendo como base os documentos do BrCAST, em laboratórios da rede pública e privada do Brasil (Diário Oficial da União, Edição 240, Seção 1, Página 59; 2018).

Embora os pontos de corte padronizados pelos CLSI e EUCAST para o TSA tenham sido determinados para muitas combinações antibiótico-patógeno relevantes para a FC (*P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *S. aureus*), existem vários organismos para os quais a orientação é mais limitada com menos opções de antibióticos com pontos de corte clínicos (PCC), como a *Stenotrophomonas maltophilia*, com PCC somente para a sulfametoxazol-trimetoprim (SXT), ou até mesmo apenas com pontos de corte pK/pD (PC pK/pD) como no caso do CBc e ceftazidima e meropenem (CLSI, 2018; KIDD et al., 2018)

Para o teste de suscetibilidade de CBc aos antimicrobianos, o CLSI recomenda o método de disco-difusão, a leitura das zonas de inibição e reportar apenas quatro antibióticos: ceftazidima, meropenem, SXT e minociclina. Entretanto, a microdiluição em caldo, a diluição em ágar ou a CIM por gradiente de concentração podem ser realizados segundo o CLSI, que fornece padrões interpretativos para reportar ticarcilina-clavulanato e levofloxacino, além dos quatro primeiros antibióticos (CLSI, 2018).

O EUCAST não estabeleceu pontos de corte clínicos para a interpretação do teste de suscetibilidade aos antibióticos para CBc devido à ampla distribuição de CIM, sem uma distribuição gaussiana entre população selvagem e não-selvagem. Assim, devido a essa distribuição ampla não foi possível estabelecer o “Ponto de Corte Epidemiológicos” (ECOFF para os antibióticos mais relevantes com exceção ao meropenem (ECOFF = 0,25 µg/mL). De fato, devido à escassa evidência de uma

correlação entre CIM específica e resposta ao tratamento, não foi possível, consequentemente, estabelecer um ponto de corte clínico. (CLSI, 2014) Portanto, o EUCAST propõe um ponto de corte baseado em farmacocinética e farmacodinâmica (PK/PD), que é a maior CIM que se consegue atingir o alvo farmacodinâmico (PDT). O PDT é o valor do índice de PK/PD que garante uma alta probabilidade de sucesso do tratamento. O PDT pode ser tempo dependente ($PK/PD = fT > CIM$) como no caso dos antibióticos beta-lactâmicos, ou dependente da relação da área sob a curva dividida pela CIM para as demais classes de antibióticos ($PK/PD = fAUD/ CIM$).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar dados clínicos e microbiológicos de infecções causadas por bactérias do Complexo *Burkholderia cepacia* (CBc) de pacientes atendidos em hospital universitário terciário no contexto da pandemia de COVID-19.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a microdiluição em caldo da ceftazidima (CAZ) e meropenem (MEM) para isolados de CBc de amostras clínicas coletadas prospectivamente de pacientes atendidos no HCPA.
- Comparar a interpretação da CIM de CAZ e MEM através dos pontos de corte PK/PD do EUCAST e dos pontos de corte clínicos do CLSI.
- Estabelecer uma distribuição das CIM e comparar com a distribuição das CIM de cepas de CBc oferecidas pelo EUCAST para CAZ e MEM.

4. ASPECTOS ÉTICOS

Este trabalho foi submetido ao comitê de ética em pesquisa cujo número CAAE é 52727021.0.0000.5327. O presente trabalho envolveu riscos mínimos de quebra de confidencialidade dos dados obtidos, portanto os pesquisadores assinaram a Declaração de conhecimento e cumprimento da lei geral de proteção de dados para pesquisas avaliadas pelo CEP HCPA (Anexo).

5. RESULTADOS

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliando os resultados de CIM de CAZ e MEM, observamos uma variação de 0,5 µg/mL a 32,0 µg/mL e 0,125 µg/mL a 16,0 µg/mL, respectivamente. Concluímos que mais de dez por cento dos isolados de CBc são resistentes a esses agentes antimicrobianos, segundo a interpretação dos dois comitês de padronização para os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos. Com isso, é importante a determinação da CIM de CAZ e MEM, para que esse dado seja liberado para todos os pacientes, a fim de orientar o tratamento com o antibiótico mais adequado. A curva de distribuição de CIM dos antibióticos apresentou uma grande variação de resultados, tornando inviável a determinação de um ECOFF epidemiológico, da mesma forma que o EUCAST não propôs até o momento.

7. REFERÊNCIAS

Aronoff SC. Outer membrane permeability in *Pseudomonas cepacia*: diminished porin content in a beta-lactam-resistant mutant and in resistant cystic fibrosis isolates. **Antimicrobials Agents and Chemotherapy**. 1988 Nov; 32:1636–1639.

Barth, A. L.; PITT, T. L. Microbial pathogens associated with cystic fibrosis: special focus on *Pseudomonas aeruginosa*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**. , v.2, p.43 - 61, 1998

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 64, de 11 de dezembro de 2018. Brasília, 2018.

Caverly, L. J., & LiPuma, J. J. Cystic fibrosis respiratory microbiota: unraveling complexity to inform clinical practice. **Expert Review of Respiratory Medicine**. 2018 Oct;12(10):857-865.

Clinical Laboratory Standards Institute. M-100S: Performance standard for antimicrobial susceptibility testing 28th edition. ; 2018

Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry Annual Data Report 2016. Disponível em <https://www.cff.org/research/researcher-resources/patient-registry/2016-patient-registry-annual-data-report.pdf>. Acesso em 28/08/2020

De Smet B., et al. *Burkholderia stagnalis* sp. nov. and *Burkholderia territorii* sp. nov., two novel *Burkholderia cepacia* complex species from environmental and human sources. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2015 65:2265–2271.

Drevinek, P., & Mahenthiralingam, E. *Burkholderia cenocepacia* in cystic fibrosis: epidemiology and molecular mechanisms of virulence. **Clinical Microbiology and Infection**. 2010 16(7), 821–830.

EUCAST. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. Version 5.26. Disponível em: <https://mic.eucast.org/Eucast2/>. Acesso em 01/10/2020.

EUCAST. EUCAST guidance for antimicrobial susceptibility testing of *Burkholderia cepacia* complex (BCC) 2013 . **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**; 2013

Fehlberg LC., et al. In vitro susceptibility of *Burkholderia cepacia* complex isolates:

Comparison of disk diffusion, Etest®, agar dilution, and broth microdilution methods. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 2016 Dec;86(4):422-427.

Flume PA., et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: treatment of pulmonary exacerbations. **The American Journal of Respiratory and Critical Care in Medicine**. 2009 180:802–8.

Henry D., et al. Comparison of isolation media for recovery of Burkholderia cepacia complex from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis. **Journal of Clinical Microbiology**. 1999 Apr;37(4):1004-7.

Horsley A, Jones AM, Lord R. Antibiotic treatment for Burkholderia cepacia complex in people with cystic fibrosis experiencing a pulmonary exacerbation. **Cochrane Database Syst Rev**. 2016 Jan 20;2016(1):CD009529.

Jones AM., et al. Burkholderia cenocepacia and Burkholderia multivorans: influence on survival in cystic fibrosis. **Thorax**. 2004 Nov;59(11):948-51.

Kidd, T. J., et al. Defining antimicrobial resistance in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. 2018 Nov;17(6):696-704.

Lutz, L., et al. Bacteriologia da fibrose cística. *Rev. HCPA & Fac. Med. Univ. Fed. Rio Gd. do Sul ; 31(2): 168-184, 2011.*

Mahenthiralingam E, Vandamme P. Taxonomy and pathogenesis of the Burkholderia cepacia complex. **Chronic Respiratory Disease**. 2005; 2:209–217.

Mahenthiralingam E., et al. DNA-Based diagnostic approaches for identification of Burkholderia cepacia complex, Burkholderia vietnamiensis, Burkholderia multivorans, Burkholderia stabilis, and Burkholderia cepacia genomovars I and III. **Journal of Clinical Microbiology**. 2000 Sep;38(9):3165-73.

Mouton JW., et al. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. **Clinical Microbiology and Infection**. 2012 Mar;18(3):E37-45.

Payne GW., et al. Development of a recA gene-based identification approach for the entire Burkholderia genus. **Applied in Environmental Microbiology**. 2005 Jul;71(7):3917-27.

Report of the UK Cystic Fibrosis Trust Antibiotic Group. Antibiotic treatment for cystic fibrosis. UK Cystic Fibrosis Trust 2009.

Rhodes, K. A., & Schweizer, H. P.. Antibiotic resistance in Burkholderia species. **Drug Resistance Updates**. 2016 Sep;28:82-90.

Sajjan US., et al. Cable (cbl) type II pili of cystic fibrosis-associated Burkholderia (Pseudomonas) cepacia: nucleotide sequence of the cblA major subunit pilin gene and novel morphology of the assembled appendage fibers. **Journal of Bacteriology**. 1995 177(4):1030-8

Salsgiver EL., et al. Changing Epidemiology of the Respiratory Bacteriology of Patients with Cystic Fibrosis. **Chest** 2016;149:390–400

Tascini, C., et al. Reading and understanding an antibiogram. **Italian Journal of Medicine**. 2016 10(4), 289.

Tüfekci S et al (2021) Burkholderia cepacia complex bacteremia outbreaks among non-cystic fibrosis patients in the pediatric unit of a university hospital. **Turkish Journal of Pediatric Disease**. 2021 63(2):218-222. 2021.02.005.

Van Pelt C., et al. Identification of Burkholderia spp. in the clinical microbiology laboratory: comparison of conventional and molecular methods. **Journal of Clinical Microbiology**. 1999 37 (7):2158–64

Vinon-Dubiel AD., et al. Correlation of wbiI genotype, serotype, and isolate source within species of the Burkholderia cepacia complex. **Journal of Clinical Microbiology**. 2004 Sep;42(9):4121-6.

Zhou J., et al. Antimicrobial susceptibility and synergy studies of Burkholderia cepacia complex isolated from patients with cystic fibrosis. **Antimicrobials Agents and Chemotherapy**. 2007; 51:1085–1088.

8. ANEXO

 <p>UFRGS UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL</p>	 <p>HOSPITAL DE CLÍNICAS PORTO ALEGRE - RS</p> 
<p>HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO</p>	
<p>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HCPA</p>	
<p>DECLARAÇÃO DE CONHECIMENTO E CUMPRIMENTO DA LEI GERAL DE PROTEÇÃO DE DADOS PARA PESQUISAS AVALIADAS PELO CEP HCPA</p>	
<p>Titulo do projeto: Avaliação da concentração inibitória mínima de meropenem e ceftazidima em Complexo <i>Burkholderia cepacia</i> isolados de pacientes atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre</p>	
<p>Os pesquisadores declaram conhecer e cumprir os requisitos da Lei Geral de Proteção de Dados (Lei Nº 13.709, de 14 de agosto de 2018) quanto ao tratamento de dados pessoais e dados pessoais sensíveis que serão utilizados para a execução do presente projeto de pesquisa.</p>	
<p>Declaram estar cientes que o acesso e o tratamento dos dados deverão ocorrer de acordo com o descrito na versão do projeto aprovada pelo CEP HCPA.</p>	
Nome	Assinatura
<p>Larissa Lutz Helena de Ávila Peixoto e Silva Afonso Luis Barth</p>	
<p>Data <u>09/11/2021</u></p>	
<p>Fone (51) 3355.8000 Fax (51) 3359.8001 Rua Ramiro Barcelos, 2350 Porto Alegre - RS 91035-903 www.hcpa.edu.br</p>	