



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE**

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM ENDOPRÓTESES  
("STENT") E INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR PEPTÍDEOS  
ANTIMICROBIANOS DE VENENOS DE ARTRÓPODES**

**ROGÉRIO COUTINHO DAS NEVES**

*Doctor Scientiae*

**GOIÂNIA  
GOIÁS - BRASIL  
2019**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR  
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES  
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico:     Dissertação     Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: **Rogério Coutinho das Neves**

Título do trabalho: **Estudo da formação de biofilmes bacterianos em endopróteses (“stent”) e inibição da formação de biofilme por peptídeos antimicrobianos de venenos de artrópodes.**

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do(a) autor(a)<sup>2</sup>

Ciente e de acordo:

  
Assinatura do(a) orientador(a)<sup>2</sup>

*Prof.ª. Dr.ª. Ana Paula Junqueira Kipnis*  
Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infecciosas  
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

Data: 29 / 11 / 2019

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

<sup>2</sup> A assinatura deve ser escaneada.

**ROGÉRIO COUTINHO DAS NEVES**

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM ENDOPRÓTESES  
("STENT") E INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR PEPTÍDEOS  
ANTIMICROBIANOS DE VENENOS DE ARTRÓPODES**

**Tese apresentada à Universidade Federal de  
Goiás como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia e Biodiversidade, para  
obtenção do título de *Doctor Scientiae*.**

Orientador: Ana Paula Junqueira Kipnis

Coorientador: André Kipnis

**GOIÂNIA  
GOIÁS - BRASIL  
2019**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

das Neves, Rogério Coutinho

Estudo da formação de biofilmes bacterianos em endopróteses ("stent") e inibição da formação de biofilme por peptídeos antimicrobianos de venenos de artrópodes. [manuscrito] / Rogério Coutinho das Neves. - 2019.

LXXVIII, 78 f.

Orientador: Prof. Ana Paula Junqueira Kipnis; co-orientador André Kipnis .

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós graduação em Biotecnologia e Biodiversidade, Goiânia, 2019.

1. Acinetobacter baumannii. 2. Staphylococcus. 3. stent. 4. stent vascular. 5. AMP. I. Junqueira Kipnis, Ana Paula, orient. II. Título.

CDU 60



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E  
BIODIVERSIDADE

Rua 235, S/N - Setor Universitário - Goiânia/GO CEP 74605-050

Fone (62) 3209.6362

email: [pgbb.goias@gmail.com](mailto:pgbb.goias@gmail.com)

**ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE ROGÉRIO COUTINHO DAS NEVES** - Aos quatro dias do mês de novembro do ano de 2019 (04/11/2019), às 14 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. André Kipnis, Fabrícia Paula de Faria, Carlos Alexandre Carollo, Luiz Artur Mendes Bataus e Simone Gonçalves da Fonseca para, sob a presidência do primeiro, e em sessão pública realizada no Auditório Núcleo de telemedicina e telessaúde, Faculdade de Medicina - UFG, procederem à avaliação da defesa de tese intitulada: **"Análise da formação de biofilmes bacterianos em biomateriais e do papel do revestimento com peptídeos antimicrobianos na prevenção da formação desses biofilmes"**, em nível de **DOUTORADO**, área de concentração em **BIOTECNOLOGIA**, de autoria de **ROGÉRIO COUTINHO DAS NEVES**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo coorientador do discente, Prof. Dr. ANDRÉ KIPNIS, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou o Candidato sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da tese que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o Candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1181/2013 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade a Banca, em sessão secreta, expressou seu julgamento, considerando o candidato **Aprovado** ou **Reprovado**:

**Banca Examinadora**

Profa. Dra. André Kipnis

Profa. Dra. Fabrícia Paula de Faria

Prof. Dr. Carlos Alexandre Carollo

Prof. Dr. Luiz Artur Mendes Bataus

Profa. Dra. Simone Gonçalves da Fonseca

**Aprovado / Reprovado**

Aprovado  
APROVADO  
Aprovado  
APROVADO  
APROVADO

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o candidato Habilitado (**Habilitado** ou **não Habilitado**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE**, na área de concentração em **BIOTECNOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 18 h 20 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, HELOÍSA DE SOUSA VIEIRA, secretária do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Tese:

Estudo da formação de biofilmes bacterianos em endopróteses ("stent") e inibição da formação de biofilme por peptídeos antimicrobianos de venenas de aranhas.

Prof. Dr. André Kipnis (IPTSP/UFG) André Kipnis

Profa. Dra. Fabrícia Paula de Faria (ICB/UFG) Fabrícia Paula de Faria

Prof. Dr. Carlos Alexandre Carollo (CCBS/UFMS) Carlos A. Carollo

Prof. Dr. Luiz Artur Mendes Bataus (ICB/UFG) Luiz Artur Mendes Bataus

Profa. Dra. Simone Gonçalves da Fonseca (IPTSP/UFG) Simone G. Fonseca

Secretária da Pós-Graduação: Helôisa de Sousa Vieira

## **DEDICATÓRIA**

Dedico ao meu grande amor Larissa Cristina e a minha família

## AGRADECIMENTO(S)

Primeiramente agradeço a Deus pelas graças alcançadas. A minha família e amigos, pelo apoio nas horas mais difíceis. Em especial quero agradecer ao amor da minha vida Larissa Cristina a qual a conheci no laboratório, namoramos e hoje somos casados e muito felizes.

Agradeço imensamente aos amigos que fiz nesses anos de aprendizagem, desde do início da iniciação científica até agora com o final do doutorado. Que ótimos momentos passamos aqui nos laboratórios e fora dele. Especialmente agradeço aos queridos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infecciosas aqueles grandes amigos: Adeliane Castro, Camila Oliveira, Danilo Pires, Lázaro Moreira, Neila Teixeira, Monalisa Martins e ao Victor Procopio.

Quero agradecer imensamente a minha orientadora Ana Paula Junqueira Kipnis que me direcionou cientificamente, se não fosse suas orientações e nossas discussões eu não teria chegado a esse ponto. Muito obrigado por tudo que me ensinou e que Deus a abençoe e a sua família.

Meus agradecimentos ao meu coorientador Prof. Dr. André Kipnis que acolheu no seu laboratório na minha iniciação científica, me dando oportunidade de crescer cada dia mais, aperfeiçoando minha carreira científica, a ele desejo que Deus sempre o abençoe e ilumine seu caminho.

Gostaria de agradecer o apoio financeiro recebido pelas agências de fomento à pesquisa, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior (CAPES) e a Fundação de amparo a pesquisa do estado de Goiás (FAPEG), pelo auxílio da bolsa e ao fomento da pesquisa, materiais e equipamentos.

Gostaria de agradecer aos participantes Rede *Inovatoxin - Inovação com Peçonhas de animais da biodiversidade da Região Centro-Oeste: aplicações terapêuticas, toxicologia e bioprospecção*. Aos professores participantes: Prof. Dr. Carlos Alexandre Carollo do Laboratório de Farmacognosia – UFMS; Profa. Dra Maria de Fátima Borin do Laboratório de Farmacologia Molecular – UNB; Profa. Dra. Elisabeth Nogueira F. Schwartz do Laboratório de Toxinologia – UnB; Profa. Dra. Márcia Renata Mortari do Laboratório de Neurobiologia e Venenos – UnB, Anamelia Lorenzetti Bocca do Laboratório de Imunologia Aplicada - UNB e a Prof Dra. Ildinete Silva-Pereira do Departamento de Biologia Celular – UnB. Agradeço a cooperação na pesquisa que desenvolvi, pelas discussões nas reuniões do grupo.

Agradeço também ao Prof Doutor Cirano Ulhoa coordenador do programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biodiversidade, pelas ajudas em questões do programa, como o financiamento das viagens para a realização de disciplinas e o auxílio ao financiamento do meu artigo de doutorado.

Quero agradecer a empresa SCITECH Produtos Médicos Ltda em especial ao Luciano Curado CTO - Chief Technology Officer, por ceder os stents que foram usados para a minha pesquisa de doutorado.

Agradeço também ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) – UFG e o Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação CRTI-UFG pelo auxílio nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Quero agradecer aos membros da banca de qualificação pelo auxílio na correção dessa tese e pelas sugestões para o seu melhoramento. Profa Doutora Fabrícia Paula de Faria; Prof. Doutor da PUC - Goiás Nelson Jorge da Silva Júnior e ao Prof Doutor Cirano José Ulhoa.

Quero agradecer aos membros da banca de defesa: Profa Doutora Fabrícia Paula de Faria ICB-UFB (memória); Prof Doutor Carlos Alexandre Carollo (CCBS-UFMS); Prof Doutor Luiz Artur Mendes Bataus (ICB-UFG); Prof Doutora Simone Gonçalves da Fonseca (IPTSP-UFG); Prof. Doutor Nelson Jorge da Silva Junior (PUC-GO).

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Nascido em Caldas Novas, veio para Goiânia no ano de 2009, para fazer o curso Ciências Biológicas Modalidade Licenciatura pela Universidade Federal Goiás. Título do TCC: Experimentando: a Teoria Celular a partir dos Estatutos do Conhecimento Biológicos como Estratégia. Orientadora: Simone Sendin Moreira Guimarães.

Ingressou no Laboratório de Bacteriologia molecular sob orientação do Professor Doutor André Kipnis onde participou como voluntário no trabalho: Análise da ação antimicrobiana de diferentes concentrações de moléculas/produtos obtidos da peçonha de animais em *Mycobacterium massiliense* isolados de pacientes submetidos à laparoscopia e artroscopia em hospitais privados do Estado de Goiás. Participação como bolsista de PIBIC com o projeto: Amplificação e clonagem de sequências gênicas dos epítomos das proteínas Ag85C, MPT-51 e HspX de *Mycobacterium tuberculosis*.

Mestrado realizado no Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infeciosas sob orientação da Professora Doutora Ana Paula Junqueira Kipnis e coorientação do Professor Doutor André Kipnis, pelo programa de Pós-graduação em Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás, conceito CAPES 5. Dissertação defendida com o tema: *Prospecção de peptídeos derivados das peçonhas de animais da Região Centro Oeste com atividade antimicrobiana*.

Desta dissertação foi retirado o artigo:

- Antimycobacterial Activity of a New Peptide Polydim-I Isolated from Neotropical Social Wasp *Polybia dimorpha*, PLoS One, v. 11, p. e0149729, 2016. Autores: Das Neves, Rogério Coutinho; Trentini, Monalisa Martins; De Castro E Silva, Juliana; Simon, Karina Smidt; Bocca, Anamelia Lorenzetti; Silva, Luciano Paulino; Mortari, Marcia Renata; Kipnis, André; Junqueira-Kipnis, Ana Paula.

Participou como coautor nos artigos:

- Non-disulfide-Bridge Peptide 5.5 from the Scorpion *Hadrurus gertschi* Inhibits the Growth of *Mycobacterium abscessus subsp. massiliense*. Frontiers in Microbiology (Online), v. 8, p. 1-11, 2017. Autores: Trentini, Monalisa M.; Das Neves, Rogério C.; Santos, Bruno De Paula Oliveira; Dasilva, Roosevelt A.; Souza, Adolfo C. Barros De; Mortari, Márcia R.; Schwartz, Elisabeth F.; Kipnis, André; Junqueira-Kipnis, Ana P.

- Evaluation of the antimicrobial activity of the mastoparan Polybia-MPII isolated from venom of the social wasp *Pseudopolybia vespiceps testacea* (Vespidae, Hymenoptera). International Journal Of Antimicrobial Agents, v. 49, p. 167-175, 2017. Autores: Silva, Juliana

C.; Neto, Lázaro M. ; Neves, Rogério C.; Gonçalves, Jaqueline C.; Trentini, Monalisa M.; Mucury-Filho, Ricardo; Smidt, Karina S.; Fensterseifer, Isabel C.; Silva, Osmar N.; Lima, Lilian D.; Clissa, Patricia B.; Vilela, Nathália; Guilhelmelli, Fernanda; Silva, Luciano P.; Rangel, Marisa; Kipnis, André; Silva-Pereira, Ildinete ; Franco, Octavio L.; Junqueira-Kipnis, Ana P. ; Bocca, Anamelia L.; Mortari, Márcia R.

- Antimicrobial and Chemotactic Activity of Scorpion-Derived Peptide, ToAP2, against *Mycobacterium massiliensis*. *Toxins*, v. 10, p. 219, 2018. Autores: Marques-Neto, Lázaro; Trentini, Monalisa; Das Neves, Rogério; Resende, Danilo; Procopio, Victor; Da Costa, Adeliane; Kipnis, André; Mortari, Márcia; Schwartz, Elisabeth; Junqueira-Kipnis, Ana Paula.

- Peptides Toap3 And Toap4 Decrease Release of Inflammatory Cytokines Through Tlr-4 Blocking. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, V. 118, P. 109152, 2019. Autores: Veloso Júnior, Paulo Henrique De Holanda; Simon, Karina Smidt; De Castro, Raffael Júnio Araújo; Coelho, Luísa Coutinho; Erazo, Fabián Andres Hurtado; De Souza, Adolfo Carlos Barros; Das Neves, Rogério Coutinho; Lozano, Viviane Furlan; Schwartz, Elisabeth Ferroni; Tavares, Aldo Henrique; Mortari, Márcia Renata; Junqueira-Kipnis, Ana Paula; Silva-Pereira, Ildinete; Bocca, Anamelia Lorenzetti.

- *Hyptis brevipes* and *Paullinia pinnata* extracts and their fractions presenting activity against *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*. Autores; Rogério Coutinho das Neves, Rayanny Gomes Andrade, Carlos Alexandre Carollo, Amanda Galdi Boaretto, André Kipnis e Ana Paula Junqueira-Kipnis.

Participa do projeto de pesquisa: Prospecção de biomoléculas com atividade microbicida para micobactérias e HIV e avaliação de sua atividade em ensaios pré-clínicos utilizando camundongos isogênicos.

Atualmente aluno de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade (PPGBB) Rede em Associação Ampla UnB, UCB, UFG, PUC Goiás, IFGoiano, UFMS, UFGD, UCDB, UFMT e UNEMAT.

Os resultados provenientes do doutorado concederam o artigo:

- Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Peptides from Venom of Social Wasp and Scorpion on Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Toxins*, v. 11, p. 216, 2019. Autores Das Neves, Rogério Coutinho; Mortari, Márcia Renata; Schwartz, Elisabeth Ferroni; Kipnis, André; Junqueira-Kipnis, Ana Paula.

## LISTA DE SIGLAS

- AMP - Peptídeos antimicrobianos (*Antimicrobial peptides*)
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância da Saúde
- CNS - Coagulase negativa
- CPS - Coagulase positiva
- DBP - Ponte de dissulfeto (*disulfide-bridged peptides*)
- DES - Endoprótese farmacológica (*drug-eluting stents*)
- EAP - Proteína de adesão extracelular (*Extracellular Adhesion Protein*)
- ECM - Matriz extracelular (*extracellular matrix*)
- EPS - Exopolissacarídeos
- EPS - Substância polimérica extracelular (*extracellular polymeric substance*)
- IRAS - Infecções relacionadas à assistência à saúde
- LDL - Lipoproteínas de baixa densidade (*low-density lipoprotein*)
- LPS - Lipopolissacarídeo
- MBEC - Concentração mínima para a erradicação do biofilme (*minimum biofilm eradication concentration*)
- MDR - Resistentes a multidroga (*multidrug-resistant*)
- MIC - Concentração inibitória mínima (*minimum inhibitory concentration*)
- MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (*methicillin-resistant S. aureus*)
- NDBP - Peptídeos sem pontes de dissulfeto (*non-disulfide-bridged peptides*)
- OMS - Organização Mundial da Saúde
- PBP - Proteínas de ligação à penicilina (*penicillin-binding proteins*)
- PCI - Intervenção coronária percutânea (*percutaneous coronary intervention*)
- PLA - Ácido polilático (*polylactic acid*)
- PLGA - Ácido láctico-co-ácido glicólico
- PTCA - Angioplastia coronária transluminal percutânea (*Percutaneous transluminal coronary angioplasty*)
- QS - *Quorum sensing*
- UFC - Unidades formadoras de colônia
- UTI - Unidades de Terapia Intensiva
- VSMC - Células musculares lisas vasculares (*vascular smooth muscle cells*)
- XDR - Extensivamente Resistente (*extensively drug-resistant*)

## LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

### Figuras:

Figura 1: Etapas da formação do biofilme bacteriano.....	6
Figura 2: Exemplo da aplicação da Endoprótese vascular.....	15
Figura 3: Grupo de microrganismos que foram mais prevalentes em infecções por estentes metálicos.....	21
Figura 4: Mortalidade por infecção em estente metálico relatada nos casos revisados. ....	23
Figura 5: Mecanismos de ação dos peptídeos antimicrobianos na membrana plasmática bacteriana. ....	29
Figura 6: Principais estratégias de ação dos AMPs (espirais vermelhas) no biofilme bacteriano.. ....	30

### Tabela:

Tabela 1. Comparação das principais diferenças entre a infecção causada por bactérias de livre flutuação/nadantes e as formadoras de biofilme.....	3
Tabela 2. Distribuição dos casos de infecção nos endopróteses implantadas.....	18
Tabela 3. Distribuição dos tipos de endoprótese.....	19
Tabela 4. Tempo de readmissão hospitalar após implantação da endoprótese.....	20
Tabela 5. Microrganismos identificados em infecções por endopróteses metálicas.....	22
Tabela 6. Tratamentos utilizados nos casos de infecção. ....	23

## RESUMO

DAS NEVES. Rogério Coutinho, Universidade Federal de Goiás, novembro de 2019. **Estudo da formação de biofilmes bacterianos em endopróteses (“stent”) e inibição da formação de biofilme por peptídeos antimicrobianos de venenos de artrópodes.** Orientadora: Ana Paula Junqueira Kipnis. Coorientador: André Kipnis.

O uso de materiais sintéticos de inserção temporária ou permanente no corpo pode ser acompanhado de infecções associadas à colonização bacteriana desses materiais, e por consequência levar a disseminação sistêmica. A colonização bacteriana pode levar a formação de biofilme bacteriano. As infecções por *Acinetobacter baumannii* são difíceis de tratar devido à resistência a múltiplas drogas e a formação de biofilme. As cepas de *Staphylococcus* são capazes de formar biofilme e resistir a antibióticos, além de estarem associadas a endocardites. Por esta razão, hipotetizou-se que estas bactérias, que estão associadas a infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) seriam capazes de aderir as endopróteses vasculares e formarem biofilme e que peptídeos antimicrobianos derivados de venenos e escorpiões seriam capazes de tratar estes biofilmes. Nesse trabalho avaliou-se a formação de biofilme em placa de cultura de poliestireno e em endoprótese metálica (estente expansível), de três isolados de *A. baumannii* resistentes a multidroga (MDR) AB 02, AB 53 e AB 72. A capacidade de formação de biofilme em endoprótese foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. Os peptídeos antimicrobianos de vespas (Agelaia-MPI, Polydia-MPII, Polydim-I) e de escorpião (Con10 e NDBP 5.8) foram usados para determinar a concentração inibitória mínima (MIC) e de erradicação do biofilme (MBEC) de *A. baumannii* em placa de poliestireno. Adicionalmente, *Staphylococcus* spp resistente a metilina também foi utilizado para avaliar a capacidade dos peptídeos em inibir a formação de biofilme. *A. baumannii* MDR em contato com a endoprótese vascular adere ao biomaterial e inicia a formação do biofilme bacteriano. O MIC dos peptídeos de vespa contra cepas de *A. baumannii* MDR variou de 3,12 a 6,25  $\mu\text{M}$  e os de escorpião de 6,25 a 25  $\mu\text{M}$ . O MBEC do Agelaia-MPI e Polybia-MPII foi de 6,25  $\mu\text{M}$ . Con10 apresentou um MBEC de 6,25  $\mu\text{M}$  para a cepa AB 72 e 12,5  $\mu\text{M}$  para as cepas AB 02 e AB 53 e o NBDP 5.8 inibiu na concentração 25  $\mu\text{M}$ . Agelaia-MPI inibiu a dispersão do biofilme formado por AB 02 e AB 53 na concentração 6,25  $\mu\text{M}$  e de 12,5  $\mu\text{M}$  para a AB 72. O Polybia-MPII inibiu na concentração 6,25  $\mu\text{M}$ , enquanto, Agelaia-MPI e Polybia-MPII inibiram o biofilme maduro na concentração de 6,25  $\mu\text{M}$ . Uma vez que o Agelaia-MPI e o Polybia-MPII apresentaram a melhor atividade bactericida, eles foram testados contra *Staphylococcus ssp*, e apresentaram MIC e MBEC de 12,5  $\mu\text{M}$ . Conclui-se que *A. baumannii* forma biofilme tanto em placa quanto

em endoprótese vascular. Os AMPs provenientes de venenos de vespa (Agelaia-MPI e Polydia-MPII) previnem a formação de biofilme tanto contra *A. baumannii* como *Staphylococcus epidermidis*. Esses peptídeos também foram capazes de reduzir a carga bacteriana dos biomateriais contendo biofilme, sugerindo que os peptídeos antimicrobianos Agelaia-MPI e Polydia-MPII podem ser utilizados para revestir biomateriais e evitar a formação de biofilme assim como para o tratamento de indivíduos acometidos por biomateriais contaminados.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; *Staphylococcus*; AMP; stent; stent vascular.

## ABSTRACT

DAS NEVES. Rogério Coutinho, Universidade Federal de Goiás, novembro de 2019. **Study of bacterial biofilm formation in stent and inhibition of biofilm formation by antimicrobial peptides from arthropod venoms.** Adviser: Ana Paula Junqueira Kipnis. Co-Adviser: André Kipnis

The use of synthetic materials as temporary or permanent insertion in the body can result in infections associated with the colonization of these materials. The colonization of these materials can result in bacterial biofilms formation. *Acinetobacter baumannii* infections are difficult to treat due to biofilm formation and resistance to multiple drugs. *Staphylococcus* strains are able to form biofilm and to resist against antibiotics, in addition of being associated with endocarditis. Thus, in this thesis we hypothesize that hospital acquired bacteria were able to form biofilm in vascular stent. In this study, the biofilm formation in polystyrene plates and on coronary stents of three isolates of multidrug-resistant *A. baumannii* (MDR) AB 02, AB 53 and AB 72 were evaluated. The biofilm formation in coronary stents were analyzed by scanning electron microscopy. The antimicrobial peptides from wasps (Agelaia-MPI, Polydia-MPII, Polydim-I) and scorpion (Con10 and NDBP 5.8) were used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and biofilm eradication (MBEC) of *A. baumannii* on polystyrene plates. Additionally, methicillin resistant *Staphylococcus spp* was also used to evaluate the ability of peptides to inhibit biofilm formation. *A. baumannii* MDR in contact with the vascular stent adhered to the biomaterial and initiated the formation of bacterial biofilm. The MIC of the wasp peptides against strains of *A. baumannii* MDR ranged from 3.12 to 6.25  $\mu\text{M}$  and those of scorpion from 6.25 to 25  $\mu\text{M}$ . The MBEC of Agelaia-MPI and Polybia-MPII was 6.25  $\mu\text{M}$ . Con10 presented a 6.25  $\mu\text{M}$  MBEC for the AB 72 strain and 12.5  $\mu\text{M}$  for the AB 02 and AB 53 strains and the NBDP 5.8 inhibited at the 25  $\mu\text{M}$  concentration. Agelaia-MPI inhibited the biofilm dispersion of AB 02 and AB 53 at 6.25  $\mu\text{M}$  concentration and of AB 72 at 12.5  $\mu\text{M}$ . Polybia-MPII inhibited at the concentration 6.25  $\mu\text{M}$ . Agelaia-MPI and Polybia-MPII inhibited mature biofilms at 6.25  $\mu\text{M}$ . Because Agelaia and Polybia peptides presented the best inhibitory performance they were tested against *Staphylococcus spp*. Polybia-MPII and Agelaia-MPI showed MIC and MBEC of 12.5  $\mu\text{M}$ . We conclude that *A. baumannii* forms biofilm in both plates and on vascular stents. The AMPs from wasp venoms (Agelaia-MPI and Polydia-MPII) prevent the biofilm formation of both *A. baumannii* and *Staphylococcus epidermidis*. These peptides were also able to reduce the bacterial load of biofilm-containing biomaterials. Therefore, we suggest that the Agelaia-MPI and Polybia-MPII antimicrobial

peptides may be modified to coat biomaterials and prevent biofilm formation as well as for the treatment of individuals afflicted with contaminated biomaterials.

Key words: *Acinetobacter baumannii*; *Staphylococcus*; AMP; stent; stent vascular.

## SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO.....	1
II - REVISÃO DA LITERATURA.....	3
1.1. Bactérias formadoras de biofilme possuem características únicas.....	3
1.2. Formação do biofilme bacteriano.....	5
1.2.1. Aderência – Reversível e irreversível.....	5
1.2.2. Maturação – Regulação gênica e síntese de EPS.....	7
1.2.3. Dispersão – Destacamento e mobilidade.....	8
1.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	9
1.3.1. <i>A. baumannii</i> – Características e Epidemiologia.....	9
1.3.2. <i>A. baumannii</i> – Resistência a multidrogas.....	10
1.4. <i>Staphylococcus ssp</i> .....	11
1.5. Cardiopatias.....	12
1.5.1. Tratamento.....	13
1.5.2. Endopróteses vasculares coronários.....	14
1.6. Infecções em endopróteses coronários.....	16
1.7. Revisão de casos dos últimos 5 anos de infecção de endopróteses.....	17
1.8. Características dos casos relatados.....	18
1.9. Resistência a antibiótico.....	24
1.10. Peptídeos antimicrobianos.....	25
1.10.1. AMP – Obtidos do veneno de artrópodes.....	26
1.10.2. AMP – Mecanismos de Ação.....	27
1.10.3. AMP – Ação contra biofilme.....	28
1.10.4. AMP – Revestimento de materiais.....	31
III – OBJETIVOS.....	33
IV – RESULTADOS Artigo: Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Peptides from Venom of Social Wasp and Scorpion on Multidrug-Resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	34
V – CONCLUSÃO GERAL.....	52
VI – REFERÊNCIAS.....	53
VII – APÊNDICE.....	70

## I - INTRODUÇÃO

As bactérias crescem e se proliferam em células individuais de livre flutuação ou nadantes (fenótipos planctônicos) ou como organismos sésseis (BJARNSHOLT et al., 2013). As bactérias que possuem uma organização sésbil formam agregados comumente chamados de biofilme, essa agregação está relacionada a diversas infecções crônicas, assim como com aquelas relacionadas à assistência à saúde (IRAS – sigla em substituição ao termo conhecido como infecção nosocomial) (BILLINGS et al., 2015). Segundos os autores Lindsay e Von Holy (2006) o biofilme é definido como: *‘comunidade de microrganismo que ligam a uma superfície irreversivelmente, produzindo polímeros extracelulares (EPS) e modificando seu fenótipo, comparado com as células planctônicas, interagindo entre si’* (LINDSAY; VON HOLY, 2006).

A literatura revela que os cientistas conhecem a formação do biofilme bacteriano a centenas de anos, sendo considerado importante para a formação da comunidade bacteriana. No ano de 1693 ocorreram as primeiras publicações referentes a observações microscópicas de microrganismo agregados na língua e nos dentes, segundo Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723) *“Eu vi um número inconcebível de pequenos animalcules de vários tipos”* (BJARNSHOLT et al., 2013; HØIBY, 2014). O termo biofilme como o conhecemos hoje, referente ao agregado bacteriano, foi introduzido em 1981 por McCoy e colaboradores quando desenvolveram e monitoraram a aderência bacteriana em tubos com fluidos contínuos (MCCOY et al., 1981).

Na medicina, a primeira observação da etiologia entre uma infecção crônica relacionada à formação de biofilme, ocorreu entre 1970-1972 em um paciente com fibrose cística com infecção pulmonar crônica por *Pseudomonas aeruginosa* (HOIBY et al., 1977). Atualmente a formação do biofilme bacteriano é reconhecida como umas das causas relevantes de infecções persistentes, e por isso é considerada um grande desafio para medicina, necessitando de estratégias terapêuticas diferenciadas (MACIA; ROJO-MOLINERO; OLIVER, 2014). As bactérias que fazem parte do biofilme podem passar de um estado sésbil para o planctônico dependendo do ambiente em que se encontram. A persistência do agente etiológico no biofilme consegue sobrepujar a reposta imune do hospedeiro e o tratamento antimicrobiano (MACIA; ROJO-MOLINERO; OLIVER, 2014).

As infecções associadas ao biofilme representam uma das principais preocupações da medicina moderna porque houve um aumento do uso de dispositivos médicos intravitalis, que contribuem diretamente para altos índices de morbidade e mortalidade de indivíduos

hospitalizados quando os dispositivos são contaminados. Dentre estes dispositivos, as endopróteses vasculares também podem se contaminar e contribuir para esse agravo em saúde (BOSMAN et al., 2014).

Uma das bactérias mais comumente isoladas em surtos relacionados à assistência saúde são as do gênero *Acinetobacter* (ANVISA, 2016). Essas bactérias são de grande relevância clínica devida à sua ocorrência nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Nesse caso, os isolados de *A. baumannii* derivados de infecções de indivíduos de diferentes Hospitais de Goiânia-GO apresentaram capacidade de formar biofilme e eram resistentes a diferentes antibióticos, inclusive os carbapenêmicos (CASTILHO et al., 2017), e poderiam constituir em um modelo para a avaliação da formação do biofilme em endopróteses vasculares e prospecção de novos peptídeos antimicrobianos (AMPs) contra a formação desse biofilme. As endopróteses vasculares são utilizadas em sua maioria em vasos coronários, por essa razão seria importante saber se os AMPs prospectados para *A. baumannii* também teriam ação contra cepas de *Staphylococcus ssp*, que possuem tropismo pela região cardíaca, e estão associados a casos de bacteremia e disseminação (FERNÁNDEZ GUERRERO et al., 2009).

Muitos AMPs possuem ação contra biofilme e também são eficazes contra bactérias multidroga resistentes, devido a sua capacidade de atuar na parede/membrana bacteriana, diferente da grande maioria dos antibióticos convencionais. Essas características são relevantes para combater bactérias formadoras de biofilme e aquelas que são resistente a diferentes drogas (BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016)

Análise recente destacou várias estratégias antibiofilme, e relataram o uso de AMPs como uma abordagem promissora principalmente para casos relacionados à contaminação de materiais médicos (BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016). O nosso grupo de pesquisa vem utilizando diferentes AMPs derivados do veneno de vespa e escorpião com ação contra diferentes bactérias e fungos patogênicos. O Polybia-MPII teve ação contra *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* e seu biofilme (SILVA et al., 2017; WANG et al., 2014b). O Polydim-I também teve ação contra o *M. abscessus* subsp. *massiliense* inclusive tratando camundongos infectados com essa bactéria (DAS NEVES et al., 2016). Dentre os AMPs de vespa, o Agelaia-MPI possui ação antimicrobiana contra diferentes espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mas inédita sua ação contra o biofilme bacteriano. Os AMPs de escorpião Con10 e NDBP-5.8 também tiveram ação contra micobactéria e esses fungos (GUILHELMELLI et al., 2016).

## II - REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1. Bactérias formadoras de biofilme possuem características únicas

A infecção por espécies de bactérias formadoras de biofilme possui características únicas listadas na Tabela 1 que revela as principais diferenças em relação às bactérias de livre flutuação/nadantes. As bactérias se reprogramam geneticamente devido à estrutura particular do biofilme e inicia a síntese de substâncias específicas como exopolissacarídeos (EPS), secreção de DNA e proteínas, que formam o arcabouço do biofilme. Na região interna da estrutura do biofilme os nutrientes não estão totalmente acessíveis e as condições são microaeróbia, por isso existe regulação negativa global da expressão gênica das bactérias em relação as bactérias que estão livre-nadantes. Essas características podem influenciar no processo patogênico, diagnóstico e tratamento das bactérias presente no biofilme (BRYERS, 2008).

Tabela 1. Comparação das principais diferenças entre a infecção causada por bactérias de livre flutuação/nadantes e as formadoras de biofilme.

<b>Bactérias de livre flutuação/nadantes</b>	<b>Bactérias relacionadas à infecção por biofilme</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecção aguda</li><li>• Tratamento com antibióticos e vacinas</li><li>• Mecanismos patogênicos definidos, sintomas severos.</li><li>• Agentes etiológicos altamente patogênicos</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecção crônica e recorrente</li><li>• Resistência a antibióticos e vacinas pouco eficientes</li><li>• Mecanismos patogênicos não definidos, sintomas geralmente moderados, mas altamente debilitantes.</li><li>• Envolvimento de microrganismos que podem fazer parte da microbiota normal</li><li>• Matriz extracelular revestindo a agregação bacteriana visível no tecido ou aparato médico no local da infecção</li></ul>

Determinar a diferença entre a infecção causada por esses dois grupos de microrganismos é importante para determinar o diagnóstico, a terapia, e o desfecho clínico da infecção (BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016). As infecções crônicas causadas por bactérias

formadoras de biofilme são de difícil tratamento, devido à reprogramação genética das bactérias que as levam a sintetizarem a matriz extracelular, que as protegem da ação de antibióticos, e também a diminuição do seu metabolismo, necessário para a ação efetiva de algumas drogas. As bactérias que formam biofilme após a ação de antibiótico podem adquirir resistência ao mesmo, por exemplo, isolados de *A. baumannii* quando expostos à tetraciclina, antibiótico ligante ao complexo ribossomal bacteriano, em concentração abaixo da usual (sub-MIC-Concentração inibitória mínima), passam a expressar o gene *tet* que disseminam o gene entre os indivíduos planctônicos, e que confere resistência a todos os indivíduos da colônia (MATOS et al., 2014).

As infecções crônicas dependem da espécie da bactéria e o local onde ocorre a formação do biofilme, fonte de disseminação e resistência ao tratamento. Biofilmes estão envolvidos em >60% das infecções de feridas crônicas por um ou vários microrganismos sendo os mais comuns: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (JAMES et al., 2007). O gênero das bactérias *Staphylococcus* produz biofilme, dentre eles, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* são as mais importantes. *S. epidermidis* é frequentemente citada associada às infecções por corpo estranho e *S. aureus* a infecções de tecidos do hospedeiro (BOLES; HORSWILL, 2011).

Contaminantes de biomateriais inseridos ou implantados nos pacientes também podem causar infecções crônicas. Alguns exemplos de biomateriais mais susceptíveis a contaminação são: cateteres, endopróteses vasculares e de ureteres, e materiais aloplásticos. As infecções podem ocorrer por falta de esterilidade do material usado; durante a cirurgia ou no pós-cirúrgico. Os fatores que contribuem para a contaminação podem ser: (1) o material do implante; (2) sala cirúrgica, equipamentos cirúrgicos e cirurgião; (3) o paciente (como fonte de bactérias da microbiota); (4) desinfetantes contaminados; (5) e de outras pessoas após a cirurgia ou do ambiente hospitalar (HOIBY et al., 2010). A rejeição de implantes depende de alguns fatores, como o agente infectante, local da inserção e tempo decorrido da cirurgia (ARCIOLA; CAMPOCCIA; MONTANARO, 2018). Nessas infecções associadas a implantes, ocorre uma resposta imune local com formação de granuloma e a uma encapsulação fibrosa do implante.

Os principais agentes bacterianos relacionados a implantes contaminados de maneira geral são dos gêneros: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococci*, e na família das *Enterobacteriaceae*, principalmente as espécies *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Serratia marcescens*. Algumas bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*; e os grupos: *Staphylococci*

coagulase-negativa (KHAN; AHMAD; MEHBOOB, 2015) também foram associados à contaminação de materiais de inserção permanentes e temporárias.

Alguns grupos de bactérias são mais comuns em determinados procedimentos cirúrgicos e implantes. Em infecções de próteses ortopédicas, as bactérias Gram-positivas são as mais prevalentes. *S. aureus* é prevalente em infecções na artroplastia de joelho e o *S. epidermidis* na artroplastia de quadril e possui tropismo para regiões cardíacas, maior causa de endocardites (ARCIOLA; CAMPOCCIA; MONTANARO, 2018). As infecções de implantes por *Acinetobacter* envolvem a inserção do material contaminado em órgãos que possuem mais fluidos, isso inclui, o trato urinário, respiratório e a cavidade peritoneal (ALMASAUDI, 2018).

Outros implantes, como marca-passos cardíacos, cateteres de diálise peritoneal e venosa central, prótese de silicone, lente de contato e implantes dentais, também podem desenvolver biofilme bacteriano que culminam com quadros de rejeição. Diferentes bactérias podem ser responsáveis pela contaminação desses materiais, como, por exemplo: *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Streptococci*, *Klebsiella*, *E. coli* dentre outras menos comuns (VEERACHAMY et al., 2014).

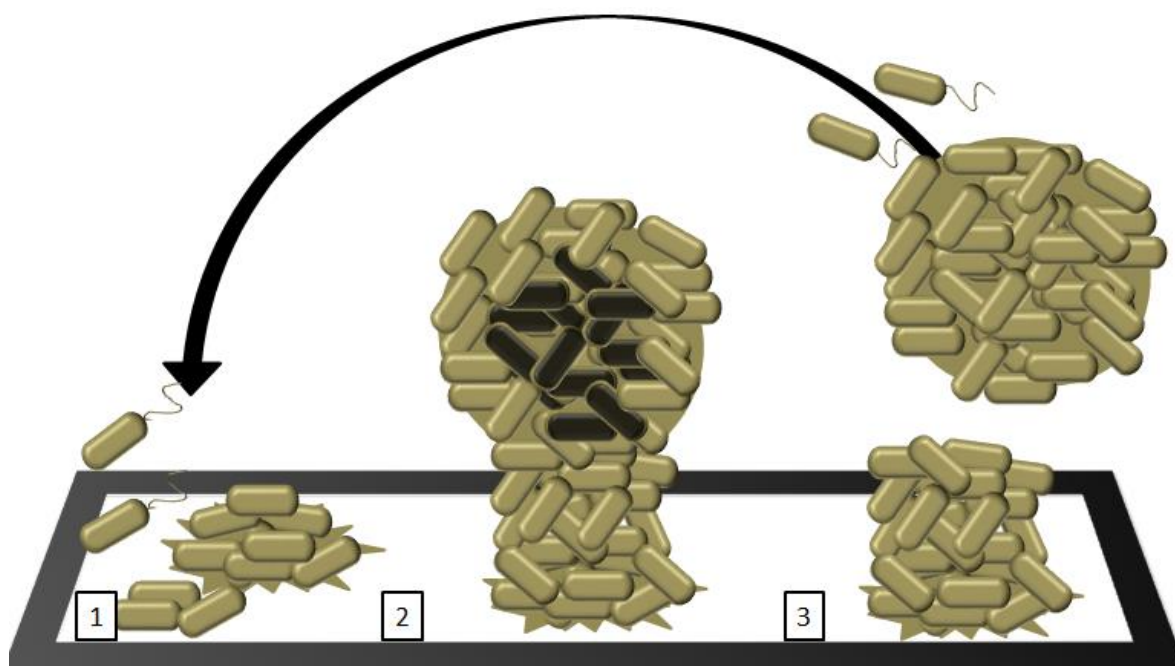
A formação do biofilme em dispositivos médicos internos pode afetar o prognóstico de diversos procedimentos cirúrgicos. Assim pesquisas são necessárias para aprofundar e aperfeiçoar a prevenção da sua formação e o seu tratamento.

## **1.2. Formação do biofilme bacteriano**

### **1.2.1. Aderência – Reversível e irreversível**

A formação do biofilme bacteriano pode ser separada em três momentos diferentes, com características próprias, sendo estas etapas a aderência, a maturação e a dispersão (Figura 1). Em cada momento as bactérias possuem regulações genéticas específicas e morfologias próprias e determinar e entender essas etapas, é importante para uma ação eficiente na detecção do biofilme e melhor tratamento do processo.

A formação do biofilme inicia com o transporte de massa bacteriana para uma superfície, esse transporte pode ocorrer através de aerossóis, sedimentação ou convecção ou difusão quando a suspensão é aquosa (VEERACHAMY et al., 2014). Com a chegada da bactéria na superfície ocorre interação físico-química que promove a aproximação das bactérias a um material exógeno abiótico ou biótico, nas bactérias gram-negativas essa interação inicial é mediada pelo flagelo e/ou pili, nas gram-positivas por proteínas presentes na parede bacteriana (CARNIELLO et al., 2018).



**Figura 1: Etapas da formação do biofilme bacteriano.** Etapas: [1] Aderência ou ataque; nessa etapa as bactérias aderem na superfície biótica ou abiótica por meio de uma variedade de moléculas de adesão na parede bacteriana. Ao estabelecerem a aderência às bactérias modificam sua expressão de genes “nadantes” para genes relacionados à vida “sésil”. [2] A maturação inicia na produção de exopolissacarídeos, secreção de proteínas e DNA, nessa etapa ocorre a maior resistência aos antibióticos, devido à formação de canais que impedem a entrada dessas moléculas. O ambiente interno do biofilme maduro também suporta bactérias que entram em estado de latência, devido à hipóxia e a falta de nutrientes circulantes (bactérias em destaque). [3] Dispersão; nessa última etapa ocorre de duas maneiras, a massa do biofilme pode se desprender da base aderida, ou podem ocorrer programações genéticas específicas que liberam bactérias livre nadantes, devido à produção de enzimas que degradam o próprio biofilme, como a dispersina B e a produção de flagelos. Com a saída da placa bacteriana se reinicia o ciclo de aderência em outra superfície e a estruturação do novo biofilme. Cada etapa dessa formação foi detalhada em tópicos separados (VEERACHAMY et al., 2014).

A aproximação da bactéria ao substrato ou filme condicionante ocorre de duas formas passivo-aleatória seguindo o movimento browniano e/ou gravitacional; ou ativamente via quimiotaxia e motilidade pela oscilação do flagelo e pili. Quando essa aproximação esta relacionada a uma superfície abiótica começa a atuar interações físico-químicas não específicas e interações moleculares mediadas por ligações específicas do tipo receptor-ligante. Essas forças físicas-químicas incluem interações eletrostáticas, forças hidrodinâmicas, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas (TRENTIN; GIORDANI; MACEDO, 2013).

Os apêndices bacterianos (flagelo, fimbrias e pili) ou polissacarídeos secretados contendo subunidades polares, como os ácidos lipoteicóicos nos *Streptococci* conseguem superar forças físicas repulsivas, em seguida os apêndices ligam a superfície ou filme

condicionante (COZENS; READ, 2012). O resultado dessas forças determina a adesão final, que dependerá da soma das forças de atração e repulsão gerada entre as superfícies e os microrganismos, até um momento crítico em que as células adsorvidas permanecem imobilizadas e não podem se desligar do material, consolidando a adesão bacteriana (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008; TRENTIN; GIORDANI; MACEDO, 2013).

Como conceito, o processo de ligação da bactéria a um substrato é denominado de adesão, e a ligação entre bactérias de coesão (RENNER; WEIBEL, 2011). Adesão e a coesão são determinadas por mecanismos específicos de cada espécie, resultando em biofilmes diferentes. A aderência inicia com a ligação reversível mantida por interações físico-químicas não específicas entre a bactéria e a superfície e na segunda etapa da adesão, a bactéria sintetiza e secreta substâncias que podem se ancorar a parede celular, que serão responsáveis pela manutenção dessa adesão. (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008).

Nos últimos anos o conceito “race to the surface” (corrida à superfície) foi introduzido para descrever a competição que existe entre as células do paciente e as bactérias contaminantes para ocupar a superfície do biomaterial implantado (GRISTINA; NAYLOR; MYRVIK, 1988; SUBBIAHDOSS et al., 2009). Quanto mais rápido a aderência do tecido do hospedeiro nos biomateriais melhor será o sucesso do implante, devido à proteção do tecido contra a aderência das bactérias. Se a adesão bacteriana ocorre antes que o reparo do tecido ocorra, o sistema de defesa do hospedeiro não consegue prevenir a colonização da superfície e formação do biofilme bacteriano (ARCIOLA et al., 2012; SUBBIAHDOSS et al., 2009). Hoje existe a possibilidade do tratamento ou revestimento dos materiais de implantes com fármacos imunossupressores, capazes de inibir a rejeição dos implantes, no entanto, este fato pode favorecer a colonização bacteriana e aumentar o número de infecções relacionadas à formação de biofilme nesses implantes (BOSMAN et al., 2014).

### **1.2.2. Maturação – Regulação gênica e síntese de EPS**

Após a aderência irreversível da bactéria, ocorrem processos altamente regulados e coordenados para a expressão de um programa genético específico para a estruturação do biofilme (SAUER, 2003). Algumas bactérias após a aderência ao substrato iniciam produção e secreção de matrizes compostas de substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substance* - EPS) compostas por polissacarídeos, proteínas, lipídios e DNA extracelular (PARRINO et al 2018). O biofilme pode crescer em espessura (até 50 µm) e em condições *in vitro* ocorre a formação de estruturas como cogumelos ou torres, que podem

chegar até 300 µm. Na formação de biofilme, por exemplo, de *P. aeruginosa*, ocorre o aumento da expressão de genes responsáveis pela síntese de EPS e também o gene *pel* responsáveis pela elaboração do pili tipo IV (FOLSOM et al., 2010). A estrutura do biofilme maduro é composta por um pedúnculo ou haste e uma capa (Figure 1-[2]) (KLAUSEN et al., 2003).

Nesse momento da maturação do biofilme a formação da estrutura bacteriana com o EPS ocorre a maior tolerância (resistência) a antibióticos e produtos químicos microbicidas, como, por exemplo, detergentes, podendo suportar 100 a 1000 vezes a concentração inibitória das bactérias planctônicas da mesma espécie (MACIA; ROJO-MOLINERO; OLIVER, 2014). Essa resistência é conferida pela formação de canais de circulação de água, nutrientes e oxigênio, que impede o fluxo e a difusão de antibióticos polares e carregados (BORRIELLO et al., 2004; WILLENBORG et al., 2014). Somado a essas características da estrutura madura do biofilme, as bactérias internas são metabolicamente menos ativas e intrinsecamente resistentes aos antibióticos convencionais que atuam sobre o metabolismo bacteriano (PARRINO et al 2018).

O biofilme bacteriano confere resistência à desinfecção e a diferentes classes de antibióticos. Essa característica é importante para as bactérias que crescem no biofilme que são diferentes das bactérias planctônicas e isso tem consequências significativas no diagnóstico e na terapia. Esse fator ocorre principalmente pelo decréscimo da penetração do antibiótico, bomba de efluxo e modificações genéticas e metabólicas. Os tratamentos atuais para o controle do biofilme são complicados, porque o estudo e desenvolvimento de novos antimicrobianos são na maioria das vezes, testados contra bactérias planctônicas e metabolicamente ativas (BUENO, 2011).

### **1.2.3. Dispersão – Destacamento e mobilidade**

Na fase final da formação do biofilme ocorre o destacamento de agregados de bactérias e a dispersão de indivíduos planctônicos. O destacamento de massa de bactéria ocorre de forma externa ou interna, no caso da externa essa biomassa é desprendida da superfície a qual está aderida por perturbações físicas do ambiente, como a mudança da pressão do fluido externo (WANG et al., 2014a).

O destacamento interno ocorre pela deterioração do biofilme por enzimas endógenas de degradação de matriz extracelular (KAPLAN et al., 2003; LEE; LI; BOWDEN, 1996). A dispersão de indivíduos que se separam da massa do biofilme pode acontecer por processos programados como a ativação da enzima dispersina B, capaz de hidrolisar exopolissacarídeos

como o N-acetilglucosamina presente no biofilme de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* e *Helicobacter pylori*, causando degradação do exopolissacarídeo e a liberação de células planctônicas a partir do agregado do biofilme (KAPLAN et al., 2003). A dispersão do biofilme causa severas implicações, permitindo que as bactérias possam se espalhar e colonizar outras regiões do corpo humano, causando uma infecção aguda (sepse) (ABRAHAM et al., 2004; BJARNSHOLT et al., 2013; CORMIO et al., 1996).

Infecções associadas à formação de biofilme em dispositivos médicos constituem um problema grave para saúde pública, correspondendo a 60 - 70% das infecções hospitalares, sobretudo naqueles pacientes em estado crítico (BRYERS, 2008). Todos os dispositivos médicos são susceptíveis a colonização microbiana e a infecção causada por formação de biofilme constitui uma das maiores causas de falhas na utilização de implantes de materiais (VEERACHAMY et al., 2014). Implantes colonizados levam a quadros de destruição tecidual, disseminação sistêmica do patógeno e perda da função do aparelho implantado, como consequência pode acarretar até a morte do indivíduo (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004).

### **1.3. *Acinetobacter baumannii***

Durante a última década o *Acinetobacter baumannii* surgiu como uma das causas centrais de infecções relacionadas à assistência a saúde (IRAS), com alto índice de morbidade e mortalidade, ocorrendo em surtos, muitas vezes com uma fonte de contaminação associados à colonização de instrumentos médicos (DEXTER et al., 2015; GULEN et al., 2015). Essa bactéria é comumente isolada no ambiente hospitalar em equipamentos e soluções, podendo sobreviver por até cinco meses nas superfícies (GULEN et al., 2015). A infecção por *A. baumannii* geralmente causa septicemia, pneumonia, meningite ou infecção do sítio cirúrgico (WIELAND; CHHATWAL; VONBERG, 2018). Outro fator importante do comportamento epidemiológico do *A. baumannii* é sua resistência aos antibióticos, em particular os carbapenêmicos, antibiótico de primeira linha no tratamento da infecção (CHEN et al., 2014).

#### **1.3.1. *A. baumannii* – Características e Epidemiologia**

O gênero *Acinetobacter* pertence ao grupo das bactérias gram-negativas, sua morfologia comum encontrada no ambiente é no formato de cocobacilo, uma forma intermediária entre os cocos (esféricas) e os bacilos, de tamanho aproximando de 1-1,5 µm até

1,5-2,5 na fase de duplicação (MUNOZ-PRICE; WEINSTEIN, 2008). São ubíquas, aeróbias estritas, catalase-positivas e oxidase-negativas, não possuem flagelo, mas apresentam diversos pili distribuídos na parede celular, esses pili são necessários para a aderência e coesão da bactéria no biofilme. *A. baumannii* não é fastidiosa podendo crescer em meio de cultivo simples (ALMASAUDI, 2018).

No relatório da Agência Nacional de Vigilância da Saúde (ANVISA) do ano de 2015, *A. baumannii* foi o 4º microrganismo mais notificado como agente etiológico de septicemias em pacientes adultos internados em unidades de terapia intensiva (UTI). O relatório também mostra que essa bactéria está em primeiro lugar entre as bactérias Gram-negativas resistentes a antibióticos de primeira linha (cerca de 80,7% dos isolados são resistentes aos carbapenêmicos) (ANVISA, 2016). O aumento do número de infecções causadas por *A. baumannii* multidroga resistente (MDR) vem aumentando na última década (de <4% no ano 2000, para 60-70% em 2014) (EL-SHAZLY et al., 2015). A distribuição de casos notificados de *A. baumannii* em pacientes de UTI apresenta maior incidência na região Sudeste, seguidos das regiões Nordeste, Sul, Centro-Oeste e Norte. O número de casos reportado da Região Sudeste é superior ao somatório das outras quatro regiões (ANVISA, 2016).

### **1.3.2. *A. baumannii* – Resistência a multidrogas**

O aumento da incidência de IRAS por *A. baumannii* está relacionada a fatores como: a formação do biofilme, colonização de instrumentação médica, sua capacidade de resistir à desidratação e antimicrobianos utilizados no seu tratamento (GULEN et al., 2015; PRASHANTH et al., 2008). Dentre os principais fatores de resistência aos antimicrobianos de *A. baumannii* estão os clones que possuem o fenótipo produtor de carbapenemases do tipo OXA que inclui *bla<sub>oxa-23</sub>*, *bla<sub>oxa-24</sub>* e *bla<sub>oxa-58</sub>*, sendo esse último responsável pela resistência aos carbapenêmicos (ALIRAMEZANI et al., 2016). O número de isolados clínicos contendo genes para resistência específica aos carbapenêmicos aumentou expressivamente nas últimas décadas, no Brasil entre os anos de 1997 e 1998 cerca de 12,6% dos isolados clínicos de *A. baumannii* eram resistentes, aumentando para 71,4% entre os anos de 2008-2010 (GIRARDELLO et al., 2016).

Castilho e colaboradores (2017) analisaram isolados de *A. baumannii* de pacientes que tiveram IRAS, em hospitais de Goiânia – Goiás, em um período de seis meses, 64 de 1333 pacientes tiveram diagnóstico positivo para *A. baumannii*. Desses 64 pacientes, 60 tiveram a infecção após procedimento de inserção de cateter venoso central, e estavam sendo submetidos

à ventilação mecânica por intubação endotraqueal. 53% dos pacientes tiveram infecções hospitalares, o que levou a uma mortalidade de 67% dos pacientes. O perfil de susceptibilidade aos antibióticos mostrou que a maioria dos isolados de *A. baumannii* eram resistentes a carbapenêmicos, 91% eram MDR (ampicilina, quinolona e amicacina). Quatro isolados foram XDR (extremamente resistente a multidrogas; ampicilina, quinolona, amicacina, polimixina B e tigeciclina) e um dos isolados era resistente a todos os fármacos testados. Esses isolados clínicos apresentaram alta prevalência do gene OXA-23 relacionados à resistência carbapenêmicos e eram formadores de biofilme (CASTILHO et al., 2017).

#### 1.4. *Staphylococcus ssp*

*Staphylococcus* são agentes causadores de intoxicação alimentar devido a produção de enterotoxinas estafilocócicas e apresentam alta invasividade e resistência aos antibióticos. Podem causar inúmeras doenças, desde infecções cutâneas até septicemias fatais, como endocardites, devido à formação de biofilme e a dispersão da bactéria para regiões cardíacas (RAMLAL et al., 2018).

*Staphylococcus ssp* são bactérias cocos Gram-positivas pertencente ao filo dos Firmicutes, anaeróbicas facultativas, catalase-positivas e resistentes a altas concentrações de sais. O gênero *Staphylococcus* compreende 48 espécies e 21 subespécies, podendo ser dividido em dois grandes grupos: as bactérias que são coagulase positivas (CPS), por exemplo, o *S. aureus* e outras seis espécies, e as coagulases negativas (CNS), por exemplo, o *S. epidermitis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, e *S. saprophyticus* (LEROY; VERMASSEN; TALON, 2016).

*Staphylococcus* são comumente encontradas na pele e mucosas de animais e humanos, sendo parte da microbiota comensal, associadas às infecções oportunistas, mas é um grave problema de saúde pública relacionado à formação de biofilme em materiais hospitalares. Estima-se que 50% a 70% das contaminações relacionadas a cateteres, 40% a 50% de infecções de válvulas cardíacas prostéticas e 20% a 50% das substituições articulares sejam causadas por biofilmes de estafilococos (KIM et al., 2018b). Essa infecção pode levar a disseminação sistêmica e bacteremia. O agravamento do quadro do paciente na infecção por *Staphylococcus* pode depender da rota de aquisição, do local de infecção, da presença do material implantado, das características do patógeno e da predisposição do hospedeiro (KEYNAN; RUBINSTEIN, 2013).

*Staphylococcus aureus* é o patógeno mais prevalente em infecções associadas a pacientes com problemas de saúde e infecções hospitalares, onde foi responsável por 43% da

mortalidade (BISHARA et al., 2012). Adicionado a esse problema, cepas resistentes a meticilina (MRSA) surgiram na década de 1960. Essa resistência deve-se a modificação das proteínas de ligação à penicilina (PBP) que fez com que todos os antibióticos beta-lactâmicos e seus derivados fossem ineficazes. Associado a essa resistência, a maioria dos isolados de *S. aureus* também são resistentes aos aminoglicosídeos (KHAN; AHMAD; MEHBOOB, 2015).

A disseminação da bactéria pelo destacamento do biofilme pode resultar em uma infecção aguda e severa como a sepse, essa massa destacada pode migrar para as válvulas cardíacas e causar endocardites, o *S. aureus* possui tropismo por regiões cardíacas devido ao componente de superfície microbiana, proteína de adesão extracelular (Eap) e a proteína de ligação da matriz extracelular (Emp) reconhecem moléculas de matriz adesiva (WALSH et al., 2008) que se ligam cartilagem dos aparatos cardíacos (WALSH et al., 2008). Infecções endocárdicas são complicações severas que ocorrem em 19-38% da bacteremia do *S. aureus*. Vários fatores de risco relacionados com os hospedeiros foram identificados, incluindo o uso de drogas, doenças cardíacas congênitas ou a presença de material prostético cardíaco (ABDALLAH et al., 2016; BOUCHIAT et al., 2015). A região cardíaca e os aparelhos ou biomateriais implantados nessa região são propensas à infecção e colonização bacteriana, e devido à resistência a antibióticos, sensibilidade do local e as comorbidades do paciente, que podem levar a sérios problemas de saúde resultando em intervenção cirúrgica agressiva.

## **1.5. Cardiopatias**

As cardiopatias em geral cursam devido à aterosclerose, caracterizadas pela obstrução das artérias por agregação plaquetária, que causa o bloqueio da irrigação sanguínea (estenose aórtica) e obstruem o fluxo sanguíneo para o miocárdio. A aterosclerose causa inflamação da parede do vaso sanguíneo e ocorre devido à acumulação de gordura e elementos do sangue, resultando em trombos vasculares. Uma das principais formas de tratamento é a utilização de matérias intravasculares que promovem a sua distensão (BADIMÓN; VILAHUR; PADRÓ, 2009).

O epitélio vascular possui propriedades de uma barreira semipermeável, controlando a difusão de moléculas e regulando o tonos vascular, prevenindo a formação de trombos e inflamação, no entanto, essas propriedades são perdidas em uma disfunção do endotélio (TORRES et al., 2015). Essa perda de função é caracterizada pela redução da luz vascular e o início de um estado pró-inflamatório e pró-trombótico. As doenças cardiovasculares podem estar associadas a vários fatores dentre eles, danos por radicais livres (óxido nítrico),

hipertensão, doença arterial coronária, falha cardíaca crônica, diabetes, falha dos rins, infecções virais severas e fatores genéticos hereditários (HADI; CARR; AL SUWAIDI, 2005; RAJENDRAN et al., 2013).

Com a disfunção do tecido endotelial associada a uma dieta rica em lipídeos, inicia-se a formação da placa. O primeiro estágio é a deposição das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no tecido inflamado, levando a sua acumulação na matriz extracelular (ECM) impedindo que monócitos circulantes possam atravessar os tecidos ficando retidos no espaço subendotelial (TORRES et al., 2015). Concomitantemente, plaquetas são aderidas nas células endoteliais, secretando moléculas quimiotáticas e fatores de crescimento que culminam com o aumento da migração e acumulação de leucócitos e proliferação das células musculares lisas vasculares (VSMC) na túnica íntima. As células VSMC migram da túnica média para a íntima, produzindo ECM formando uma capa fibrosa. A progressão da formação da placa aterosclerótica é caracterizada pela diminuição do VSMC na sua camada original, a túnica média, deixando o vaso sanguíneo fragilizado e susceptível à ruptura (RAJENDRAN et al., 2013).

Na formação da placa arteriosclerótica, os lipídeos possuem papel muito importante, o LDL começa a ser oxidado e estimula macrófagos locais a se diferenciarem em macrófagos espumosos, que reduzem a capacidade para remover o colesterol e entram em processos apoptóticos, aumentando a liberação de moléculas pró-trombóticas e metaloproteínases (TORRES et al., 2015). O enfraquecimento do vaso com o acúmulo de lipídeos leva a formação do trombo com o possível rompimento do vaso, a manifestação clínica é o infarto agudo do miocárdico e por consequência o óbito.

### **1.5.1. Tratamento**

As principais causas de mortes nos países desenvolvidos estão relacionadas a algum tipo de câncer, doenças arteriais coronarianas (DAC) ou acidentes vasculares cerebrais (AVC) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Diversos métodos vêm sendo desenvolvidos para desobstrução das artérias e remoção de trombos provocados pela DAC e AVC. (DECUNHA; JANICKI; ENGER, 2017). Com a detecção precoce da injúria do vaso coronário, a terapia é baseada em intervenção medicamentosa e nutricional, de modo a reduzir a deposição de lipídeos e o bloqueio do vaso. Procedimentos como a cirurgia de revascularização miocárdica foi umas das primeiras técnicas usadas em humanos, no entanto, é bastante agressiva e não são recomendadas para pacientes com comorbidades. Procedimentos de terapia médica agressiva como a intervenção coronária percutânea (PCI) ou a revascularização

cirúrgica são usados em pacientes com doença arterial coronária aguda. (BIONDI-ZOCCAI et al., 2010).

A técnica de angioplastia transluminal percutânea (PCI) com endopróteses metálicas foi introduzida no tratamento para DAC em 1983 e sua utilização tornou-se popular, devido principalmente ao seu caráter pouco invasivo (DANGAS et al., 2010). Essa técnica de dilatação do vaso coronário bloqueado, um balão vazio é direcionado até o lúmen do vaso, onde é inflado esticando a parede arterial e comprimindo a placa. O aumento da utilização desse procedimento em detrimento dos outros é devido ao seu caráter minimamente invasivo, tornando está uma opção de tratamento ideal para pacientes com múltiplas comorbidades, como diabetes e obesidade (DANGAS et al., 2010).

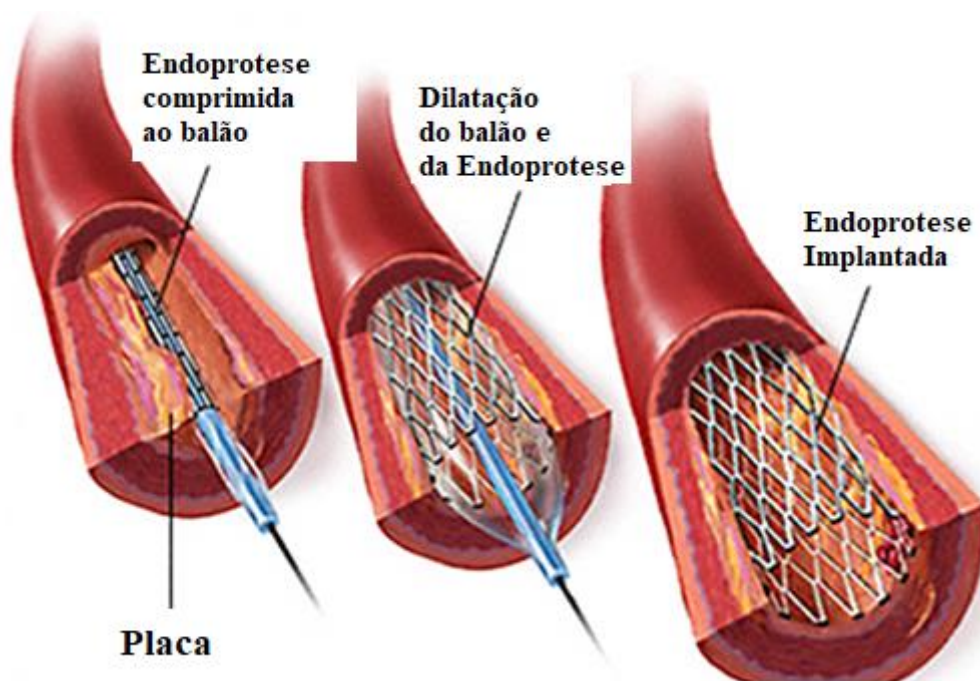
### **1.5.2. Endopróteses vasculares coronárias**

Endopróteses coronárias (*stent*) são pequenos tubos metálicos expansivos que podem ou não ser revestidos de algum fármaco. Sua estrutura compreende um cerne metálico, de liga cobalto-cromo ou aço inoxidável, e a parte externa contém um revestimento de dois polímeros o PLGA (ácido láctico-co-ácido glicólico) e PLA (ácido poliláctico). Às vezes, integrado a esse polímero, podem ser estar associados algum fármaco ou anticorpo (Figura 2). Um dos fármacos utilizados é Rapamicina popularmente conhecida como Sirolimus que atua como um imunossupressor (ABHYANKAR; THAKKAR, 2012; BUCCHERI; ORREGO; CORTESE, 2015; ITO; SAEKI, 2015). As diferentes drogas utilizadas para o revestimento das endopróteses atuam para diminuir: a inflamação, a ativação de plaquetas, a trombose, e a proliferação dos músculos lisos da camada média vascular (VSMC) (IQBAL; GUNN; SERRUYS, 2013).

A intervenção coronária percutânea é um tratamento importante para doenças arteriais coronárias que ocluem o vaso sanguíneo, no entanto, a reestenose continua a ser um problema desse método. As endopróteses intra-coronarianas são utilizados para reduzir esse processo de reestenose por aumentarem o diâmetro luminal da artéria. Mesmo assim, podem ocorrer danos à parede do vaso, e em casos raros ocorrer o rompimento. A utilização de medicamentos revestindo a endoprótese reduz drasticamente o processo de rejeição do material e consequentemente o fechamento do vaso sanguíneo (DECUNHA; JANICKI; ENGER, 2017; WU et al., 2015).

A endoprótese vascular é introduzida com uma cânula que infla um balão aumentando de tamanho, expandindo a malha metálica, a placa e o vaso sanguíneo. Esse aumento do vaso pode causar lesões, induzindo necrose de células do músculo liso da camada média, e em

resposta as plaquetas liberam fatores de crescimento que ativam a fase G1 e S do ciclo celular levando a proliferação e migração do músculo liso para a camada íntima, podendo levar a reestenose pós-angioplastia (IQBAL; GUNN; SERRUYS, 2013). Esse é um dos fatores que levam ao mau funcionamento das endoprótese que não são farmacológicas.



**Figura 2: Exemplo da aplicação da endoprótese vascular.** Etapas para desobstrução da artéria, a endoprótese é comprimido no balão que e inserido no paciente, no local da placa aterosclerótica, o balão é inflado que expande o interior da artéria, por fim o balão é removido, e a endoprótese expandida mantém o lúmen da artéria desobstruída. Adaptado de <http://www.lakelandcardiology.net/tests-and-procedures/coronary-angioplasty-and-stent>.

O estabelecimento precoce de uma camada endotelial funcional após a lesão vascular ajuda a prevenir a proliferação de células na camada íntima do vaso e a formação de trombos no local de implante do vaso (WU et al., 2015). O desenvolvimento das endopróteses farmacológicas (*drug-eluting stents* - DES) auxiliou na diminuição dos efeitos colaterais. Diferentes drogas atuam evitando a inflamação, ativação de plaquetas, trombose, e proliferação dos músculos lisos da camada média (VSMC). O fármaco Sirolimus (rapamicina) é um imunossupressor que atua inibindo o receptor rapamicina de células de mamíferos (mTOR). Essa inibição resulta na interrupção da progressão do ciclo celular na fase G1 e S, inibindo a proliferação do VSMC (IQBAL; GUNN; SERRUYS, 2013).

Portanto, a endoprótese vascular é um biomaterial de grande importância médica porque apresenta risco inerente a sua implantação e a possibilidade de colonização por biofilme bacteriano. Assim analisar a formação de biofilme nesse biomaterial ajudaria a desenvolver

estratégias para evitar a contaminação e a formação de biofilme bacteriano. Uma das bactérias que podem contaminar as endopróteses vasculares são *A. baumannii* devido a sua alta incidência nas IRAS e *Staphylococcus aureus* devido ao seu tropismo e afinidade para a região cardíaca.

## **1.6. Infecções em endopróteses coronárias**

Uma das principais complicações do procedimento de PCI é a infecção da endoprótese implantada, que apesar de rara possui alta morbidade e letalidade, necessitando de uma cirurgia invasiva para sua remoção (WHITCHER; BERTGES; SHUKLA, 2018). Segundo revisado por Bosman et al (2014), o número de infecções em endoprótese implantado vem aumentando nos últimos anos, e parece estarem associadas ao uso de endopróteses farmacológicas. A propriedade imunomodulatória dos compostos presentes nas endopróteses farmacológicas, previnem a rápida endotelização e cobertura das estruturas metálicas das endopróteses, que a deixam expostas para colonização bacteriana. Essa estrutura metálica da endoprótese atua como um filme biológico para a colonização bacteriana, culminando na disseminação para a parede arterial, causando inflamação, necrose e, finalmente, ruptura do vaso (BOSMAN et al., 2014; LAI et al., 2017). Devido ao grande número de implantes de endopróteses farmacológicas em todo o mundo, o problema pode ser mais comum do que atualmente foi evidenciado, portanto, revisar os casos de infecção em endoprótese pode prover o embasamento necessário para que os profissionais da saúde possam entender melhor como atuar nessas situações.

Como ocorre a infecção da endoprótese ainda não está elucidada, mas segundo Thibodeaux et al (1996) essa infecção ocorre pela formação de um filme biológico na estrutura metálica que leva a formação de um filme condicionante que é propenso à colonização bacteriana. Esse filme condicionante é formado no procedimento cirúrgico na implantação que coloca a endoprótese vascular em contato direto com a parede do vaso sanguíneo, e devido à pequena inflamação induzida pela microcirurgia; as proteínas opsonizantes aderem ao material (fibrinogênio e proteínas inflamatórias) e formam um filme condicionante (THIBODEAUX et al., 1996). Este filme condicionante facilita a adesão bacteriana, e a formação de biofilme pode ocorrer por bactérias com tropismo pela região do implante, ou aquelas bactérias responsáveis por infecções relacionadas à assistência à saúde.

As bactérias podem chegar a estrutura da endoprótese descoberta durante o procedimento cirúrgico no momento da implantação ou tempos depois, Del Trigo et al por exemplo, relatou uma infecção em endoprótese três anos após sua implantação (DEL TRIGO

et al., 2012). Geralmente na primeira fase da infecção, o diagnóstico é falho, resultando em uma demora no tratamento definitivo.

Com a confirmação do diagnóstico da infecção na endoprótese, antibióticos convencionais geralmente contra bactérias Gram-positivas são usados no tratamento. Quando os antibióticos convencionais não eliminam a infecção, são prescritos à vancomicina, daptomicina e rifampicina que conseguem perturbar a função da membrana celular bacteriana e RNA polimerase, respectivamente (CREDITO; LIN; APPELBAUM, 2007; LEGOUT et al., 2012). Esses antibióticos são utilizados para eliminar o biofilme que poderia ter se formado na endoprótese causado por bactérias Gram-positivas. Quando o tratamento não tem êxito, o procedimento cirúrgico seria a última solução, no entanto, a maioria dos pacientes apresenta alguma comorbidade (obesidade e/ou diabetes) e não estariam aptos para realizar uma intervenção cirúrgica, infelizmente, e por esta razão, 50% dessas infecções tiveram um desfecho fatal (BOSMAN et al., 2014). Com a impossibilidade da cirurgia para remoção da endoprótese contaminada, a solução mais efetiva seria o uso de antibióticos, no entanto, a maioria dos antibióticos é ineficaz contra o biofilme, necessário assim o desenvolvimento e aperfeiçoamento de antibióticos que possam tratar os biofilmes formatados nessas endopróteses.

### **1.7. Revisão de casos clínicos publicados nos últimos 5 anos de infecção de endopróteses (2014-2019).**

Foi realizado uma revisão da literatura utilizando a plataforma PubMed empregando como parâmetros as palavras chaves: *stent(s)*, *stenting*, *bacterial infections*, *infection(s)*, *infected*, *complication(s)*, e *case report(s)*. A pesquisa foi realizada no período de abril de 2014 a abril de 2019. Neste período foram publicados 357 artigos. Utilizando o título e o resumo foram incluídos na revisão apenas aqueles artigos em que houve diagnóstico definitivo de infecção na endoprótese. Após a seleção foram incluídos 75 artigos. Na Tabela S1 estão os 75 artigos com 78 casos reportados de infecção em endoprótese, sendo 16 coronários e 62 não coronários.

A Tabela S1 contém as informações dos casos reportados selecionadas para as análises. As informações coletadas foram: a idade dos pacientes; onde a PCI foi realizada; material e tratamento do implante; o tempo decorrente da PCI e a suspeita da infecção na endoprótese; o tratamento com antibióticos; intervenção cirúrgica adicional; e o desfecho clínico do paciente.

## 1.8. Características dos casos relatados

Na tabela 2 estão relatados os locais onde as endopróteses foram implantados, a aorta foi o local com maior número de casos entre os implantes não coronários (porção torácica descendente, infra-renal e abdominal somam 33,9% dos casos), sendo esse valor maior até que o número total de implantes coronários. Esse aumento no número de implante de endopróteses contaminados na aorta, que difere dos casos compilados anteriormente por Bosman et al 2014, provavelmente se deve ao desenvolvimento e utilização de diversos modelos de endoprótese para artérias de grande calibre. Um desses modelos são as endopróteses aórticas recobertos com poliéster conhecido como *Dacron* (DAS, 2018; IQBAL; GUNN; SERRUYS, 2013; UGURLUCAN et al., 2016). Assim como os outras endopróteses, as novas endopróteses para artérias de grande calibre podem ser susceptíveis a contaminação, por exemplo, Weaver et al 2017 relataram que mesmo quando utilizada endoprótese embebida com rifampicina, houve infecção nas endopróteses por *Streptococcus pneumoniae*, *Lactobacillus*, *Enterobacter*, *Candida glabrata* e *Candida krusei*, em um dos casos e por MRSA e *C. glabrata* no outro (WEAVER; BLACK, 2017).

**Tabela 2. Distribuição dos casos de infecção nas endopróteses implantadas.**

	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
Local do implante			
Aorta	26,9	33,9	-
Artéria celíaca	2,6	3,2	-
Artéria cerebral	1,3	1,6	-
Artéria ilíaca comum	7,7	9,7	-
Coronário	20,5	-	100
Esofágico	2,6	3,2	-
Artéria femoral	15,4	19,4	-
Veia jugular	1,3	1,6	-
Artéria mesentérica	2,6	3,2	-
Artéria pancreática	1,3	1,6	-
Artéria poplítea	5,1	6,5	-
Artéria renal	2,6	3,2	-
Artéria tíbia	1,3	1,6	-
Traqueal	1,3	1,6	-
Uretérica	5,1	6,5	-
Artéria vertebral	1,3	1,6	-

A Tabela 3 revela os diferentes tipos de endopróteses contaminadas utilizadas. A maioria das endopróteses metálicas implantadas e relatados como contaminados tratadas com

fármacos. 75% das endopróteses não coronárias continuaram a ser efetivas no que diz respeito a desobstrução do fluxo sanguíneo e 50% das endopróteses coronárias formaram aneurismas. Talvez este efeito adverso possa ter ocorrido pois as endopróteses farmacológicas inibem drasticamente o crescimento neointimal suprimindo a reestenose, mas ao mesmo tempo podem causar um retardado na cicatrização, necrose, apoptose e fibrose. (AOKI et al., 2008; OMAR et al., 2016).

**Tabela 3. Distribuição dos tipos de endoprótese.**

	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
Efetividade do implante	70,5	75,8	50,0
Endopróteses metálicas	61,5	66,1	38,9
Endopróteses metálica farmacológica	41,0	33,9	61,1

Nos casos relatados foi baixo o uso de antibióticos profiláticos quando endopróteses não coronárias (9,7%) foram utilizadas. Em geral, o uso de antibióticos para esses procedimentos visa evitar a contaminação bacteriana na endoprótese decorrente de bacteremia ou a propagação de microrganismos adquiridos durante o processo (por exemplo, a endoprótese ou fio guia) para reduzir a possibilidade de reação inflamatória sistêmica (sepse) ou a formação de tecido necrótico devido a toxinas bacterianas durante a embolização (PANDYA; DOSHI; SAHAY, 2017).

Nos casos relatados por Yoo et al (2015) e Lai et al (2017) à vancomicina, teicoplanina, piperacilina e tazobactam foram administradas profilaticamente, no entanto, os pacientes estavam infectados com MRSA, uma semana após o procedimento, indicando que provavelmente o tratamento profilático não seja suficiente (LAI et al., 2017; YOO et al., 2015). Estes achados sugerem que medidas sanitárias sérias, para combater infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) sejam mais eficazes do que a tentativa de minimizar o problema com antibioticoterapia profilática (PANDYA; DOSHI; SAHAY, 2017).

O uso de endopróteses farmacológicas foi mais empregado em implantes coronários (61,1%), e estes foram revestidos de: paclitaxel, heparina ou sirolimus (Tabela 2). Esses medicamentos são imunomodulares e antiproliferativos (KAUFMANN et al., 2005; LAI et al., 2017). Esses fármacos inibem o crescimento neointimal podendo levar a endoprótese a

permanecer descoberto intraluminalmente por mais tempo, formando um filme biológico, ideal para a colonização bacteriana (FRANCO et al., 2014).

O tempo de readmissão do paciente nos hospitais com complicação, sinais e sintomas de infecção nos casos reportados variou entre uma semana a anos após o procedimento (Tabela 3). O tempo médio para readmissão hospitalar quando implantes ocorreram em artérias não coronárias foi de 25 semanas enquanto em artérias coronárias foi de 9,6 semanas. De acordo com o tratamento farmacológico ou não dos endopróteses o tempo médio foi de 53 semanas para endopróteses farmacológicas e 28 semanas para os não tratados. Menos de uma semana após a PCI foi relatado o maior número de casos (total: 27,8%; 28,6% dos endopróteses periféricas e 25% dos coronários), (Tabela 4). Novamente, estes dados podem indicar a contaminação por IRAS, provenientes da clínica ou hospital onde ocorreu o implante. É importante relatar que 12 dos 22 casos nessa situação, foram causados por *S. aureus* (LAI et al., 2017; SHAFER; TOMA; GALDYS, 2017). Ainda hoje existem relatos que os riscos dessas infecções se correlacionam com esterilidade inadequada dos equipamentos, reutilização de equipamentos, como balões, cateteres (comuns em hospitais com poucos recursos) e múltiplas manipulações dos fios-guia (REDDY K.V. et al., 2019).

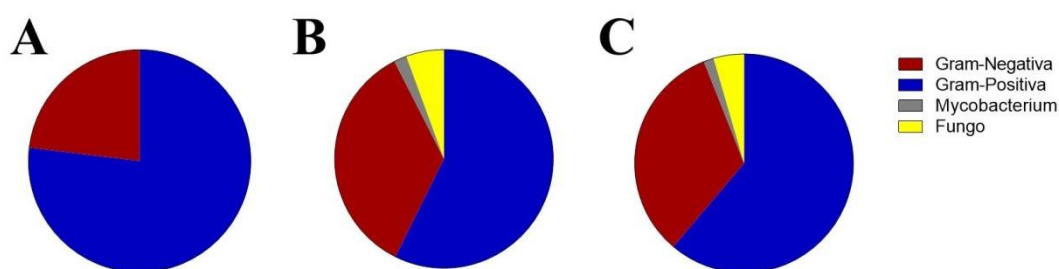
**Tabela 4. Tempo de readmissão hospitalar após implantação da endoprótese.**

Tempo (semanas)	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
<1 semana	27,8	28,6	25,0
1-2 semanas	5,1	4,8	6,3
2 semanas -1 mês	20,3	15,9	37,5
1-12 meses	24,1	27,0	12,5
> 1 ano	22,8	23,8	18,8

Os sinais e sintomas mais presentes nos pacientes foram aqueles característicos de infecções por microrganismos como: dor local (46,2%) e febre (61,5%), e a presença de leucocitose (>11.000 células/mm<sup>3</sup>) nos exames complementares. Para as infecções cardíacas também ocorreram calafrios e diaforese. Outros sintomas dos pacientes que retornaram ao hospital com suspeitas de infecção foram característicos de cada bactéria e fungo (Tabela S2). Uma vez que estes sintomas coincidem com diversas infecções comuns, no primeiro mês após a PCI, os médicos devem estar alerta para a infecção no endoprótese. Em muitos casos, o diagnóstico de um endoprótese infectado é esquecido na primeira fase, com um atraso subsequente no tratamento definitivo e como consequência o paciente terá desfecho desfavorável (BOSMAN et al., 2014).

Os pacientes que regressaram para o hospital foram submetidos a testes de imagem do local, hemocultura ou em alguns casos a cultura de fluidos e abscessos (casos 4, 19, 26 e 75) (HASHIMOTO; ISAKA; YAMASHITA, 2015; JONES; MELTZER; SCHNEIDER, 2014; PECORARO et al., 2015; WALKER, 2017; YOUNG; ROSENBERG, 2018). Na maioria dos casos a tomografia computadorizada foi a mais utilizada, tanto nas infecções na região cardíaca como nas regiões periféricas. Outras análises como: ecocardiograma, angiografia e ressonância magnética também foram usadas no diagnóstico. Essas análises são importantes para determinar se a fonte da infecção é realmente o endoprótese, e se a desobstrução do vaso sanguíneo foi mantida, não apresentando um pseudoaneurisma ou aneurisma local que poderia evoluir para ruptura do vaso sanguíneo (CANTADOR et al., 2016).

As análises de hemocultura ou dos abscessos foram usadas para identificar os microrganismos da infecção. Foram encontrados uma variedade de bactérias gram-positivas, gram-negativas, micobactérias e fungos (Tabela 5 e Figura 3). Na maioria dos casos foram encontradas cepas de *Staphylococcus aureus*, sendo que 12 dos 22 casos foram resistentes a meticilina (MRSA). Em 8.6% do total de casos, as análises não identificaram o agente infeccioso, mas os pacientes receberam antibióticos de amplo espectro durante o tratamento (WEAVER; BLACK, 2017). Em outros casos a identificação do agente por hemocultura, revelou mais de três espécies de bactéria, os autores discutem que provavelmente ocorreu à contaminação de bactérias comensais (KROL et al., 2018; MOHOR; SCHULZ; SOLOVAN, 2015; TAKAHASHI; BAN; KATAYAMA, 2016).



**Figura 3: Grupo de microrganismos que foram mais prevalentes em infecções por estenters metálicos.** Implantes de estenters em artérias coronárias (A) não coronárias (B) e total (C).

O tratamento com glicopeptídeos, beta-lactâmicos e os aminoglicosídeos foram os mais preconizados, sendo a mais utilizada a vancomicina. Esse antibiótico de administração intravenosa é recomendada para endocardite estafilocócica causadas por MSSA ou MRSA

(Tabela 5) (CHOO; CHAMBERS, 2016). A figura 3 C mostra que o tratamento com múltiplos antibióticos foram os mais indicados para o total de casos, 65% foram utilizados mais de um antimicrobiano. O uso de antibióticos de classes diferentes reduz o surgimento de cepas resistentes, principalmente aquelas relacionadas a infecções cardíacas, o sinergismo de beta-lactâmicos com a vancomicina é recomendado contra infecções por MRSA recorrentes ou difícil tratamento (TRAN; RYBAK, 2018).

**Tabela 5. Microrganismos identificados em infecções por endopróteses metálicas<sup>1</sup>**

	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
MSSA	27,2	26,2	31,3
MRSA	13,6	9,2	31,3
<i>Escherichia coli</i>	8,6	10,8	-
<i>Salmonella Enteritidis</i>	4,9	4,6	6,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	3,7	1,5	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,7	4,6	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	2,5	3,1	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,5	3,1	-
<i>Propionibacterium sp</i>	2,5	3,1	-
<i>Proteus mirabilis</i> ,	2,5	3,1	-
<i>Actinomyces meyeri</i>	1,2	1,5	-
<i>Aspergillus flavus</i>	1,2	1,5	-
<i>Candida albicans</i>	1,2	1,5	-
<i>Candida glabrata</i>	1,2	1,5	-
<i>Clostridium difficile</i>	1,2	1,5	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,2	1,5	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,2	1,5	-
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,2	1,5	-
<i>Salmonella aortitis</i>	1,2	1,5	-
<i>Streptococos</i>	1,2	1,5	-
Não identificado <sup>2</sup>	8,6	7,7	12,5
Múltiplas bactérias <sup>3</sup>	6,2	6,2	6,3
Não identificada (hemocultura negativa) <sup>4</sup>	2,5	3,1	-

<sup>1</sup>O número total aumentou devido a casos de infecção por mais de uma bactéria durante as análises das infecções.

<sup>2</sup>Casos descritos como portadores da infecção, mas não identificaram o agente causador.

<sup>3</sup>Casos que identificaram mais de três espécies de bactérias.

<sup>4</sup>Os casos que tiveram análise de hemocultura que foram negativos.

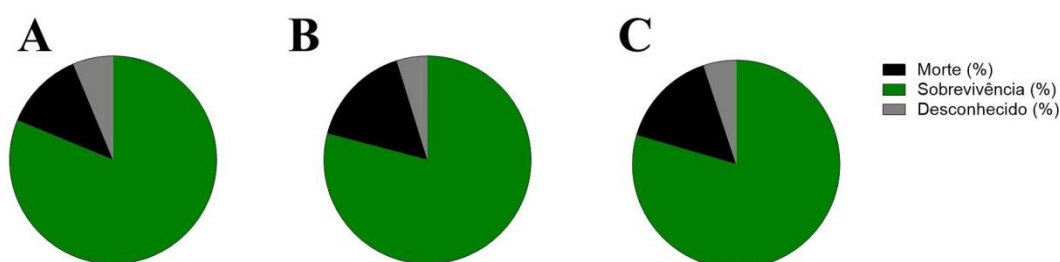
O tratamento empregando somente com antimicrobianos conseguiu resolver apenas 28.9% dos casos de infecções (Tabela 6). O tratamento com múltiplos antibióticos e a intervenção cirúrgica para a remoção do endoprótese contaminada corresponde a 57,9% do total de casos (Tabela 6). Essa intervenção cirúrgica não é recomendada para pacientes que estão com alguma morbidade, podendo ocorrer complicações durante o procedimento o que pode ser

fatal para o paciente, o ideal é a utilização de combinações de antibióticos e remoção da endoprótese por técnicas menos invasivas (SHUKUZAWA et al., 2019; YEN; WU, 2014). Os casos (1, 8, 41, 46 e 68) não relataram a utilização de antimicrobianos no tratamento e somente a remoção cirúrgica da endoprótese; enquanto os casos 42 e 48 utilizaram uma linha guia (endoscopia) para remover da endoprótese aórtica contaminada.

**Tabela 6. Tratamentos utilizados nos casos de infecção**

Tratamento	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
Apenas cirurgia	7,9	8,3	6,3
Apenas antibiótico	28,9	33,3	12,5
Antibiótico e cirurgia	57,9	51,7	81,3
Outros procedimentos	5,3	6,7	-

Como pode ser observado na Figura 4, a sobrevivência dos pacientes após contaminação/infecção do implante metálico ou farmacológico foram similares, sendo 81,3% para os implantes de endopróteses coronárias e 79% para os não coronários (Figura 4A e B). Em um dos casos relatados houve a amputação do membro que a endoprótese implantada estava contaminada por MRSA. Apesar do aumento dos implantes em artérias dos membros superiores e inferiores quando comparados com revisões anteriores, somente esse caso de amputação foi encontrado (GHARACHOLOUR et al., 2017). A taxa de sobrevivência dos nossos casos reportados foi maior que o descrito na literatura por Bosman e colaboradores em 2014.



**Figura 4: Mortalidade por infecção em estente metálico relatada nos casos revisados.** Implantes de estentes em artérias coronárias (A) não coronárias (B) e total (C).

As principais causas de morte relatadas foram a própria infecção (3), embolia pulmonar fatal pós-operatória (5, 68) e devido à idade e comorbidades do paciente (15). O aumento da sobrevivência se deve ao aperfeiçoamento das técnicas de implante, diagnóstico e tratamento para esse tipo de infecção.

Com base em nossa revisão de casos da literatura, acreditamos que os seguintes pontos devem ser levados em consideração nas infecções de endopróteses metálicas coronárias e periféricas: As salas de procedimento de implante devem ser criteriosamente monitoradas e a assepsia deve ser constante. A utilização de antibióticos profiláticos de amplo espectro, como a vancomicina pode evitar o aparecimento de infecções por MRSA e MSSA, no entanto, mostramos que mesmo utilizando antibióticos profiláticos, os endopróteses se contaminaram com outros tipos de bactérias, logo no caso de pacientes sintomáticos, hemoculturas devem ser realizadas para identificação correta do microrganismo, e o direcionamento do tratamento com antibióticos que devem ser combinados para evitar a propagação de cepas resistentes as drogas. Pacientes que tiverem sintomas como febre, dor localizada ou calafrios, apresentando leucocitose nos primeiros dias após o implante, devem ser avaliados para possível infecção na endoprótese. A utilização de diagnóstico por imagem deve ser preconizada para visualização do implante, sua condição de funcionamento e se necessário a intervenção cirúrgica para a sua substituição.

### **1.9. Resistencia aos antibióticos**

A resistência aos antibióticos é um grave problema de saúde pública, o que eleva os custos médicos, internações prolongadas e aumento da mortalidade. A resistência aos antibióticos está subindo para níveis perigosamente altos em todas as partes do mundo. Novos mecanismos de resistência estão surgindo e se espalhando globalmente, ameaçando nossa capacidade de tratar doenças infecciosas comuns (WHO, 2018). Um dos fatos para o aumento de casos de resistência ao tratamento e a prescrição incorreta dos antibióticos. Estudos mostraram que a indicação do tratamento, a escolha do agente ou a duração da antibioticoterapia está incorreta em 30% a 50% dos casos. As concentrações de antibióticos subinibitórios e subterapêuticos podem promover o desenvolvimento de resistência a antibióticos, apoiando alterações genéticas, como alterações na expressão gênica e mutagênese de bactérias que são susceptíveis (VENTOLA, 2015).

*Acinetobacter baumannii* emergiu como um importante patógeno encontrado em hospitais, causando infecções em UTIs com numerosos surtos, principalmente envolvendo isolados resistentes a carbapenêmicos (CASTILHO et al., 2017). Dentre os mecanismos de resistências mais comuns, o *A. baumannii* codificam enzimas degradadoras de carbapenêmicos, que interferem na permeabilidade do fármaco e/ou alteram a afinidade do alvo antimicrobiano. Sendo as mais comumente encontradas em isolados clínicos as metaloenzimas e as oxacilinasas,

que degradam antibióticos que são utilizados no tratamento (CASTILHO et al., 2017; RAMADAN et al., 2018). Novas alternativas terapêuticas são necessárias para superar esses mecanismos de resistência, antibióticos que tenham alvos celulares que não são facilmente modificados por mutações, e que as enzimas de defesa da bactéria não consigam degradar sua molécula, inativando sua função.

Outro mecanismo de resistência a antimicrobianos que também preocupa a medicina é presença de genes de resistência a meticilina em isolados de *Staphylococcus*, especialmente no ambiente hospitalar, onde há uma maior taxa de mortalidade devido a infecções sistêmicas por *S. aureus* resistentes à meticilina (KHOSRAVI; JENABI; MONTAZERI, 2017). A resistência à meticilina deriva principalmente da aquisição do gene *mecA*, que codifica uma proteína de ligação à penicilina modificada (PBP2a) com baixa afinidade por  $\beta$ -lactâmicos, essa interação fraca, antimicrobiano com a proteína bacteriana, impede que tenha o efeito inibitório, o que leva a ineficiência do tratamento (LEE et al., 2018; STEFANI et al., 2012). Como as cepas de MRSA são de grande preocupação em infecções humanas, pesquisas de novos antibióticos podem fornecer um recurso útil para os setores da saúde na escolha de tratamentos apropriados para infecções por MRSA.

### **1.10. Peptídeos antimicrobianos**

Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são sequências pequenas de aminoácidos que apresentam uma variedade de funções. São componentes-chaves da imunidade inata e estudos recentes mostram que também contribuem para a imunidade adaptativa (KIM et al., 2018a; NIYONSABA et al., 2009; WANG, 2010). Os AMPs são produzidos por diferentes células, de maneira constitutiva ou induzida (PINHEIRO DA SILVA; MACHADO, 2012).

Os AMPs são antigos mecanismos de defesa, que evoluíram para atuar com amplo espectro de estratégias contra diferentes patógenos. São produzidos nas glândulas de veneno de diferentes artrópodes sociais que usam os AMPs produzidos para desinfetar o seu ninho. Essa produção dos AMPs e secreção no ninho pode evitar que doenças sejam transmitidas entre os indivíduos, devido principalmente a densidade populacional, frequente contato social e parentesco próximo, por exemplo, as vespas produzem substâncias antissépticas nas suas glândulas de veneno que aderem às paredes do seu ninho, estas substâncias são suficientemente duradouras para proteger a próxima geração de vespas que colonizarão esse local (CREMER; ARMITAGE; SCHMID-HEMPEL, 2007).

A ação principal dos AMPs são sua capacidade seletiva de se ligar e perturbar a membrana plasmática procariótica, e não as células eucarióticas, o que favorece o seu estudo para o desenvolvimento de novos antibióticos de amplo espectro (HARRISON et al., 2014). Segundo o site *The Antimicrobial Peptide Database* (<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>); data de acesso 20/11/2019; existem 3138 peptídeos antimicrobianos registrados, que foram obtidos de diferentes organismos: 345 peptídicos de bactérias, 5 de archaea, 8 de protistas, 20 de fungos, 352 de plantas e 2327 de animais, incluindo alguns peptídeos sintéticos (WANG; LI; WANG, 2016). As características mais frequentes dos AMPs são tamanho médio de 32 aa, (variam de 10-49 aminoácidos), estrutura anfipática (domínios hidrofóbico e hidrofílico) e carga positiva geral de 0 à +3 (WANG, 2010).

### **1.10.1. AMP – Obtidos do veneno de artrópodes**

Os AMPs podem ser secretados por glândulas de veneno de diferentes espécies: vespas, formigas, abelhas, aranhas e escorpiões. A produção desses peptídeos e sua secreção são úteis para a limpeza e manutenção dos seus ambientes livres de fungos e bactérias (ROLFF; SCHMID-HEMPEL, 2016). As vespas possuem uma grande variedade de moléculas que são produzidas pelas glândulas de seu veneno. AMPs da classe dos mastoparanos são comumente encontrados no veneno das *Vespidae*. O AMP Polybia-MPI (*Polybia paulista*) de sequência IDWKLLDAAKQIL-NH<sub>2</sub> (1654.09 Da) tem potente atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e negativas, fungos e potente atividade antitumoral contra células tumorais malignas, mas com atividade hemolítica fraca (SOUZA et al., 2005; WANG et al., 2013, 2014b, 2008). Outros peptídeos, como o Polydim-I possui ação contra micobactérias atípicas, conseguindo tratar camundongos infectados. Enquanto, o Polybia-MPII atuou contra *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*, fungos (*Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*) (DAS NEVES et al., 2016; SILVA et al., 2017).

Os escorpiões produzem uma diversidade de moléculas em seu par de glândulas de veneno no telson, além das neurotoxinas, utilizadas na caça de seu alimento, também produzem uma diversidade de sequências de AMPs (ORTIZ et al., 2015). Diversos estudos comprovaram a eficiência desses AMPs derivados do veneno de escorpião com funções incluindo a atividade antibacteriana (MARQUES-NETO et al., 2018; TRENTINI et al., 2017), antifúngica (GUILHELMELLI et al., 2016), citolítica (ALMAAYTAH et al., 2012), antiviral (DA MATA et al., 2017), antimalárica (VALE; AGUIAR; GOMES, 2014), anticancerígena (DU et al.,

2015), potenciador de bradicinina (MEKI; OMAR, 1997) e imunomoduladora (MARQUES-NETO et al., 2018).

Os AMPs derivados do veneno de escorpião podem ser divididos em dois grupos grandes, de acordo com a presença de ponte de dissulfeto (DBP) ou a ausência dessas pontes (*non-disulfide-bridged peptides*, NDBP) sendo que o grupo dos NDBP representam os componentes mais abundantes do veneno do escorpião, esses peptídeos despertaram a atenção dos pesquisadores nas últimas décadas devido a sua relevante atividade biológica. Em conjunto com a disponibilidade de técnicas de biologia molecular, como a construção de bibliotecas de cDNA, expressão heteróloga e, ultimamente, RNA-Seq resultaram no aumento das informações disponíveis sobre estes peptídeos (ORTIZ et al., 2015).

### **1.10.2. AMP – Mecanismos de Ação**

O mecanismo de ação de cada peptídeo antimicrobiano está relacionado à sua sequência de resíduos de aminoácidos, essa sequência determinará a carga final do AMP, sua conformação e afinidade dos seus alvos. De maneira geral, contra bactérias Gram-negativas, os AMPs são atraídos pelos lipídeos da membrana plasmática, principalmente os lipídios aniônicos e os lipopolissacarídeo (LPS) (LI et al., 2012; WANG, 2010). Nas Gram-positivas, os AMPs são atraídos também pelos ácidos teicóicos (MARTINEZ DE TEJADA et al., 2012). Nas células fúngicas, a interação ocorre na presença de esterol (ergosterol) (WANG et al., 2014b). Os AMPs podem interagir com a membrana plasmática das células eucariontes quando essas estão desreguladas, como em um processo carcinogênico (DING et al., 2014).

A integridade da membrana é essencial para a sobrevivência da bactéria. Após interação peptídeo-lipídeo ocorre uma mudança na conformação da membrana, essa modificação vai determinar o modelo de ação dos AMPs (CIUMAC et al., 2019). A formação das estruturas específicas na interação peptídeo-membrana pode ser definida como poros: tipo barril ou toroidal, ou em agregações: tipo tapete ou canal (Figura 3). A formação dessas estruturas alteram o potencial de membrana, o gradiente de pH, a regulação osmótica e a respiração bacteriana (LI et al., 2012).

Devido a esses mecanismos de ação, os AMPs possuem um amplo espectro de atividade antimicrobiana que não são afetadas pelos mecanismos de resistência clássicos dos antibióticos. Os AMPs sobrepõem os mecanismos de resistências tais como: modificações em sítio de ligação de antibióticos, alterações de bombas de efluxo, alterando a permeabilidade

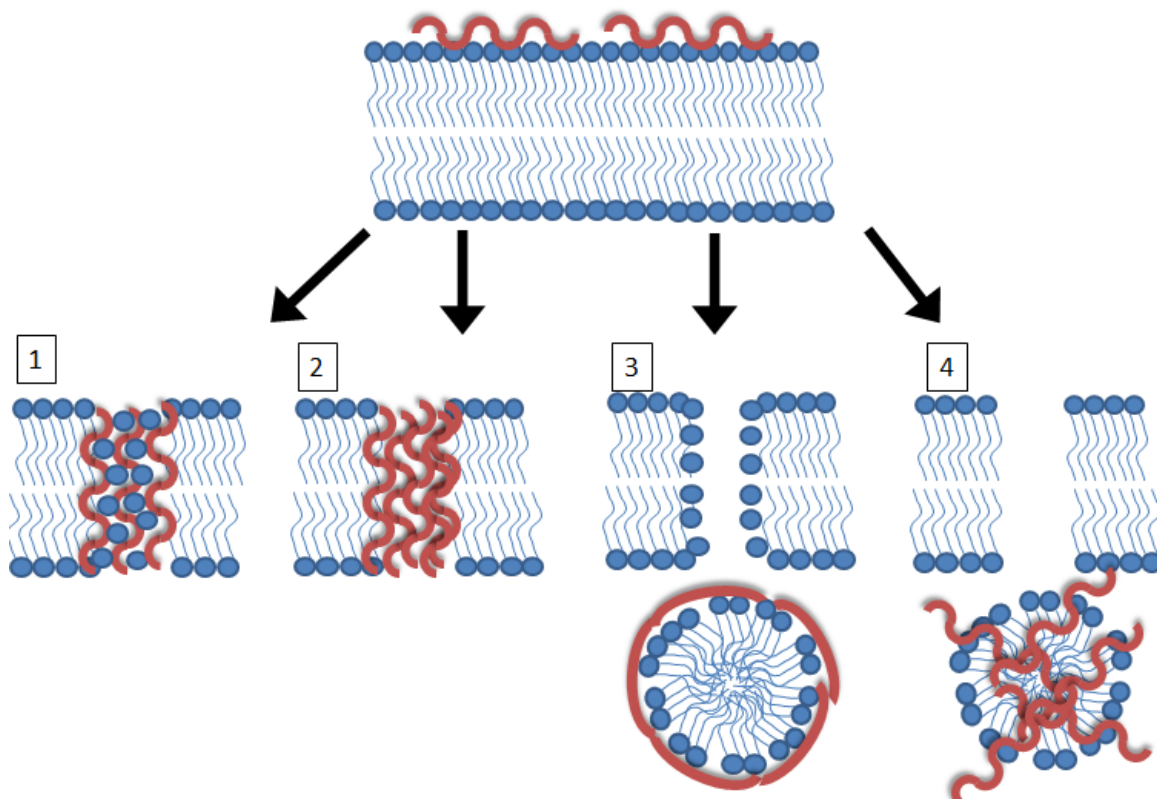
seletiva de membrana. Adicionalmente, os AMPs não são degradados por enzimas hidrolíticas como as carbapenemasas (HUANG et al., 2012; LIN et al., 2017; LIN, 2014).

### **1.10.3. AMP – Ação contra biofilme**

Infecções associadas à formação de biofilme reduz a susceptibilidade aos antibióticos de uso comum (BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016). Uma das características principais e mais preocupantes da formação do biofilme em infecções crônicas é sua resistência aos antibióticos (BUENO, 2011). Devido às mudanças morfológicas e fisiológicas das bactérias em cada fase de formação do biofilme, cada antimicrobiano pode atuar de maneira diferente em cada uma das etapas. Diferentes análises podem ser feitas para determinar a capacidade de inibir a formação do biofilme, dentre elas: 1) Aderência, 2) Maturação e 3) Dispersão.

A ação “clássica” dos AMPs em biofilmes são: a) a prevenção do biofilme pela morte das bactérias planctônicas; b) erradicação do biofilme maduro e as células aderidas e c) eliminando as bactérias que são destacadas da massa do biofilme (BATONI et al., 2011; BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016). As ações “não clássicas” podem ser a interferência em diversas etapas da formação do biofilme dentre elas: evitando a adesão da bactéria no biomaterial, impedindo a interação bactéria-bactéria; ou inibindo expressão de genes necessários para a síntese de matriz e outras moléculas imprescindíveis para o estilo de vida sésil (BATONI; MAISETTA; ESIN, 2016; GIULIANI; PIRRI; NICOLETTO, 2007). Na figura 4 estão as principais estratégias de ação dos AMPs contra as diferentes etapas do biofilme.

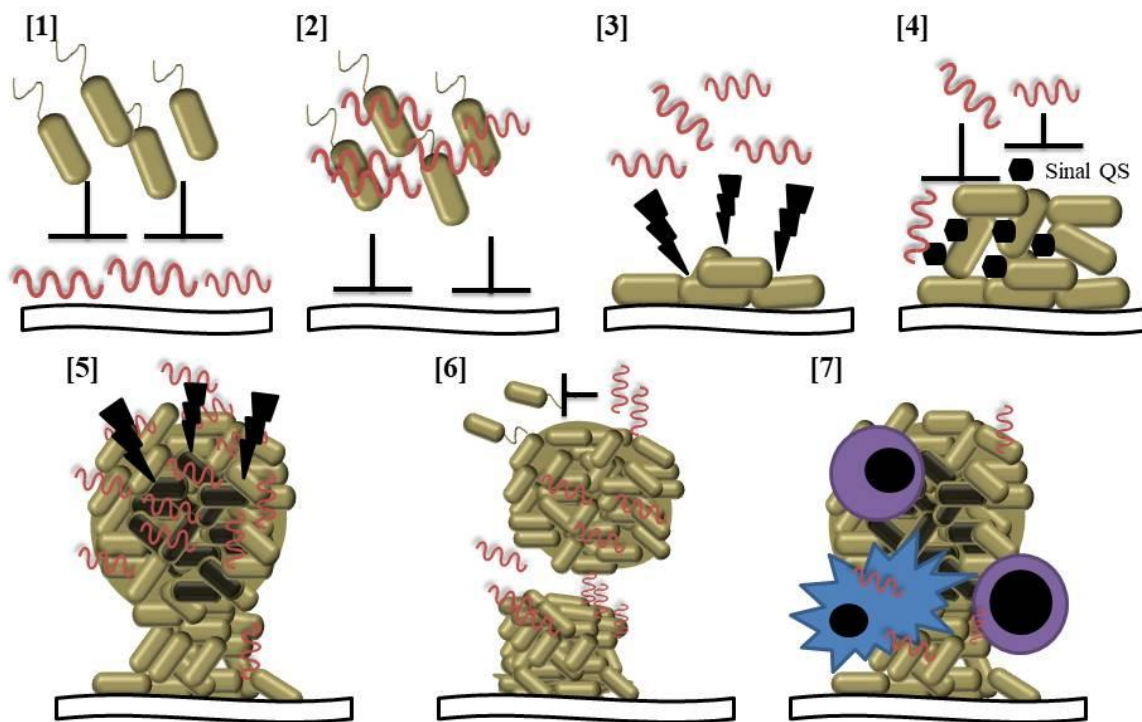
As bactérias conseguem se comunicar através de mecanismos específicos conhecidos como *quorum sensing* (QS), essa comunicação é realizada pelo acúmulo de secreção de moléculas sinalizadoras no ambiente, até que a bactéria detecte uma concentração limite, responsável pela ativação ou repressão de certos genes. Os AMPs podem regular ou inibir essa comunicação entre as bactérias, se ligando as moléculas sinalizadoras ou afetando genes do QS. Essa comunicação é importante para a estrutura e manutenção do biofilme, por ser altamente regulada (VERBEKE et al., 2017).



**Figura 5: Mecanismos de ação dos peptídeos antimicrobianos na membrana plasmática bacteriana.** [1] Poro toroidal ocorre à inserção do AMP perpendicular a membrana, os fosfolipídios em volta se curvam para que as cabeças polares fiquem voltadas para o núcleo hidrofílico. [2] No poro tipo barril os feixes de hélices anfipáticas do AMP se oligomerizam na região hidrofóbica da membrana formando um poro transmembranar com os resíduos dos aminoácidos hidrofílicos voltados para o lúmen do poro. [3] Ação denominada de tapete o AMP atua com um detergente, cobrindo a superfície celular até atingir uma concentração limiar que leva a formação de fragmentos de fosfolipídios, que são revestidos com os peptídeos formando pequenas vesículas. [4] O último é o canal agregado, descoberto mais recente e mais estudado, o AMP perturba a membrana através de domínios na formação peptídeo-lipídicos específicos formando micelas lipídicas não lamelares (GIULIANI; PIRRI; NICOLETTO, 2007; LI et al., 2012; O'BRIEN-SIMPSON et al., 2018).

O final do ciclo da formação do biofilme é onde ocorre a dispersão de bactérias da massa, seja ela passiva ou ativa (RAMASUBBU et al., 2005). Análises de microarranjo de *Pseudomonas aeruginosa* revelaram que o LL-37 na concentração sub-inibitória conseguiu reduzir o número de duas a três vezes a expressão dos genes controlados por QS, genes como *lasI* e *rhlR* que codificam LasI e RhIR (relacionadas a síntese de flagelo e pili do tipo IV) e mais de 50 genes adicionais. Com a diminuição da expressão desses genes, a mobilidade e o poder de infecção da *P. aeruginosa* diminuiu (OVERHAGE et al., 2008). Os AMPs atuam de forma microbicida, e em sub-MIC podem regular genes importantes que diminuem a patogenicidade das bactérias.

Análises com o peptídeo Polybia-MPI de vespas social *P. paulista*, contra o biofilme de *C. albicans* e *Candida glabrata* revelam que esse peptídeo consegue inibir o biofilme dos fungos pela sua perturbação na membrana plasmática resultando na lise das células que estão no biofilme (WANG 2014). Essa ação direta dos AMPs possui um potencial para a morte não somente de microrganismos metabolicamente ativos, assim como das células que estão em fase de crescimento lento ou persistentes na região de hipóxia do biofilme (interna).



**Figura 6: Principais estratégias de ação dos AMPs (espirais vermelhas) no biofilme bacteriano.** [1] Os AMPs ser usados para revestir a superfície biótica ou abiótica impedindo a aderência bacteriana. [2] Os AMPs podem ligar na superfície da bactéria, como fibrilas, pili e flagelo, via interação eletrostática, as impedindo que se liguem na superfície. [3] AMPs podem prevenir a maturação do biofilme ao matar os colonizadores iniciais da superfície por sua ação microbicida. [4] Inibição de mecanismos específicos para a comunicação entre as bactérias (exemplo *Quorum sensing*) usadas para a manutenção do biofilme. [5] Erradicação do biofilme formado (maduro), penetração da matriz do biofilme eliminando as bactérias que estão em fase dormente ou inerte (bactérias internas). [6] AMPs inibem reprogramação genética da dispersão, por exemplo, impedindo à produção de flagelo e/ou eliminando as bactérias planctônicas livres. [7] Os AMPs podem recrutar células da imunidade inata e adaptativa para melhorar a resposta imune do hospedeiro contra biofilmes. Adaptado de (BATONI et al., 2011).

#### 1.10.4. AMP – Revestimento de materiais

A aderência e formação de biofilme bacteriano em biomateriais é um problema para o desenvolvimento de dispositivos médicos. A pesquisa de novos revestimentos que possa evitar a aderência bacteriana e impedir a formação de biofilme é uma alternativa válida. Diversas técnicas vêm sendo desenvolvidas para utilizar os AMPs como revestimento de superfície de biomateriais, uma das vantagens de utilizar essas técnicas é melhorar a meia-vida e diminuir a toxicidade causada por concentrações elevadas dos AMPs (COSTA et al., 2011; MISHRA et al., 2017).

As estratégias criadas para evitar as infecções associadas a implantes são o desenvolvimento de superfícies que evitam os microrganismos, essas superfícies podem ser: superfícies anti-incrustante (evitando a adsorção de proteínas e adesão celular) (LIPATOV et al., 2006); superfícies com substâncias biocidas (SWARTJES et al., 2015) ou com anticorpos (LI et al., 2014; NOWAK; WATALA; BONCLER, 2014). Nas superfícies anti-incrustantes são utilizados polímeros não incrustantes ou materiais relacionados (abordagem físico-químico) essa abordagem reduz a ligação de proteínas bacterianas responsáveis pela aderência inicial e atração eletrostática. O polímero mais utilizado em coberturas hidrofílicas é o polietilenoglicol (PEG), a cobertura com essa substância atua para repulsar a ligação bactéria-superfície (KENAN et al., 2006). No entanto, existem limitações na utilização desses polímeros, algumas espécies, por exemplo, conseguem superar esse revestimento (COSTA et al., 2011).

O uso de drogas antimicrobianas como revestimento é vantajosa principalmente porque fornece o fármaco diretamente no local do implante, que melhora a eficiência do fármaco sem causar toxicidade sistêmica, prevenindo assim, efeitos colaterais (CHOURIFA et al., 2019). Estratégias para imobilizar antibióticos nas superfícies de implantes vêm sendo desenvolvidas e utilizadas em hospitais, como por exemplo, a vancomicina foi aderida a próteses de titânio e conseguiu inibir a adesão e colonização de *S. aureus* e *S. epidermidis* (SKOVDAL et al., 2018). A cobertura com anticorpos foram utilizados para aumentar a endotelização, a imobilização covalente de anticorpos anti-CD133 aumentaram a cobertura de células endoteliais e podem ser potencialmente ser uma alternativa terapêutica eficaz para a não rejeição do implante (LI et al., 2014).

Os AMPs possuem diversas vantagens como antimicrobiano, no entanto, análises *in vivo* revelam que alguns peptídeos se mostram tóxicos em altas concentrações e ainda podem ser afetados por proteases (DAS NEVES et al., 2016). A utilização dos AMPs aderidos às superfícies minimizariam esses efeitos, reduzindo a sua toxicidade pela permanência do

peptídeo no local necessário. As estratégias de revestimento de biomateriais com AMPs devem considerar diferentes aspectos, como suporte sólido utilizado como polímeros ou substâncias adesivas e a concentração do AMPs que podem influenciar diretamente a atividade microbicida (COSTA et al., 2011; KENAN et al., 2006; MISHRA et al., 2014, 2017). Análises ainda precisam ser realizadas para entender os mecanismos de ação no revestimento com AMPs contra a formação de biofilme, e sua potencial aplicação na saúde como uma nova geração de revestimentos antimicrobianos de dispositivos médicos, capazes de evitar a formação de biofilme bacteriano.



### III – OBJETIVOS

Avaliar a adesão e formação do biofilme de *Acinetobacter baumannii* em endopróteses vasculares comerciais de plataforma de cobalto-cromo, e prospectar peptídeos antimicrobianos derivados da peçonha de artrópodes com ação antibiofilme.

- 1.1. Avaliar *in vitro* a capacidade de formação de biofilme do *Acinetobacter baumannii* em endopróteses vasculares de plataforma de cobalto-cromo.
- 1.2. Avaliar a capacidade de inibição de AMPs na formação do biofilme de *Acinetobacter baumannii* em placa de poliestireno.
- 1.3. Caracterizar a formação da estrutura do biofilme de *Acinetobacter baumannii* sobre a endoprótese por microscopia eletrônica.
- 1.4. Prospectar peptídeos antimicrobianos contra cepas de *Acinetobacter baumannii* MDR em endopróteses coronárias.
- 1.5. Avaliar a capacidade dos peptídeos antimicrobianos em erradicar as diferentes etapas da formação do biofilme bacteriano em placa de poliestireno.
- 1.6. Avaliar a capacidade dos peptídeos antimicrobianos adsorvidos em endopróteses coronárias em reduzir a adesão de *Acinetobacter baumannii*.
- 1.7. Avaliar se os AMPs com melhores ações antibiofilme de *A. baumannii* seriam capazes de evitar a formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Article

# Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Peptides from Venom of Social Wasp and Scorpion on Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*

Rogério Coutinho das Neves <sup>1</sup>, Márcia Renata Mortari <sup>2</sup>, Elisabeth Ferroni Schwartz <sup>2</sup> , André Kipnis <sup>1</sup>  and Ana Paula Junqueira-Kipnis <sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup> Laboratory of Immunopathology of infectious diseases, Department of Immunology, Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás, Rua 235, Goiania, 74605-050 Goiás, Brazil; rogeriocdasneves@hotmail.com (R.C.d.N.); andre.kipnis@gmail.com (A.K.)

<sup>2</sup> Laboratory of Neuropharmacology, Department of Physiological Sciences, Institute of Biological Sciences, University of Brasília, 70910-900 Brasília, Brazil; mamortari@gmail.com (M.R.M.); beth.ferroni@gmail.com (E.F.S.)

\* Correspondence: ana\_kipnis@ufg.br; Tel.: +55-062-3209-6174

Received: 13 March 2019; Accepted: 4 April 2019; Published: 10 April 2019



**Abstract:** Intravascular stent infection is a rare complication with a high morbidity and high mortality; bacteria from the hospital environment form biofilms and are often multidrug-resistant (MDR). Antimicrobial peptides (AMPs) have been considered as alternatives to bacterial infection treatment. We analyzed the formation of the bacterial biofilm on the vascular stents and also tested the inhibition of this biofilm by AMPs to be used as treatment or coating. Antimicrobial activity and antibiofilm were tested with wasp (Agelaia-MPI, Polybia-MPII, Polydim-I) and scorpion (Con10 and NDBP5.8) AMPs against *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *A. baumannii* formed a biofilm on the vascular stent. Agelaia-MPI and Polybia-MPII inhibited biofilm formation with bacterial cell wall degradation. Coating biofilms with polyethylene glycol (PEG 400) and Agelaia-MPI reduced 90% of *A. baumannii* adherence on stents. The wasp AMPs Agelaia-MPI and Polybia-MPII had better action against MDR *A. baumannii* adherence and biofilm formation on vascular stents, preventing its formation and treating mature biofilm when compared to the other tested peptides.

**Keywords:** AMP; mastoparan; *Acinetobacter baumannii*; stent

**Key Contribution:** The peptide Agelaia-MPI acts against the different stages of *A. baumannii* biofilm formation and could be used as a coating of vascular stents.

## 1. Introduction

The use of synthetic materials, such as ureter catheters and urinary stents for temporary or permanent insertion in the body may result in bacterial infections associated with colonization, which is important in the cases of morbidity and can lead to systemic dissemination [1,2]. Treatment with conventional antibiotics against bacterial biofilms formed on implants is inefficient to eradicate the infecting microorganism due to its low bacterial metabolic activity and biofilm protective matrix [3], resulting in a chronic infection of difficult treatment that requires the implant to be removed. Cases of vascular stent infections are rare complications, but associated with high mortality rates; according to current data, mortality may reach 40%, despite antibiotic treatment and/or surgical removal [4,5]. The most likely cause of stent infections is equipment reuse, such as balloons, catheters, and guide-wire, or poor ascetical techniques during the procedure [6]. These bacteria from the hospital environment and human skin are the most frequently found in stent infections: *Staphylococcus* spp. [6–8], *Streptococcus*

spp. [9], *Pseudomonas* spp. [10,11], Fungi [12], and, in rare cases, rapidly growing mycobacteria (RGM) have also been reported [13]. Different case reports have been published showing cases of patients with stent infection, however, the relationship between the implantation of vascular stent with the development of nosocomial infection and the formation of bacterial biofilm is still not clear. Bacterial adhesion on the surface of the vascular stent material as well as the formation of bacterial biofilm has not been studied.

Vascular stents are used to increase the luminal diameter of the coronary arteries. The use of drugs to coat stents drastically reduces the process of re-stenosis [14,15]. Its expandable metal composition, whether coated with any drug or not, has a structure comprising a metal core of cobalt–chromium alloy or stainless steel and on the outside may have a coating of two polymers, lactic acid-co-glycolic acid (PLGA) or polylactic acid (PLA) that, in turn, can be manipulated to have additional drugs or antibodies integrated [16–18]. Some of the most commonly used drugs in stents are immunosuppressants, such as sirolimus, to reduce the risk of stent thrombosis caused by cell rejection [17]. In addition to implant intervention, patients still use anticoagulants or antiplatelet agents, which prevents the formation of thrombi on the stent [19].

The use of drug-eluting stents (DES) has increased recently, in comparison to the use of bare metal stents, however, DES have been shown to be more susceptible to infections [20]. Stent implantation may result in inflammation that could favor the formation of a conditioning film such as that shown for ureter stents [21]. This conditioning film facilitates bacterial adhesion and biofilm formation [22]. The metallic structure of the stent acts as a nest for bacterial colonization, increasing the risk of dissemination to the arterial wall, causing inflammation, necrosis, and ultimately vessel rupture [23]. Together with the fact that stents are implanted in a hospital setting, with a high prevalence of multidrug-resistant (MDR) bacteria, the risk of biofilm formation by MDR bacteria on biofilm poses an additional realistic threat.

One of the main bacteria responsible for nosocomial infections is *Acinetobacter baumannii* [24]. This Gram-negative coccobacillus commonly found on skin, in the respiratory tract, and in hospital environments has increased survival rates and the ability to produce biofilm [25,26]. *Acinetobacter* spp. are more frequently found in the intensive care units (ICU) than *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas* spp. [27]. Additionally, 80% of *A. baumannii* clinical isolates were shown to have some type of carbapenem resistance associated with high mortality rates [28]. However, although there are works showing *A. baumannii* biofilm formation in ureters [29] and vascular catheters [30], as well as treatment with different antibiotics against those biofilms, to our knowledge, no study has been done on the ability of *A. baumannii* to form biofilms on cobalt–chromium stents.

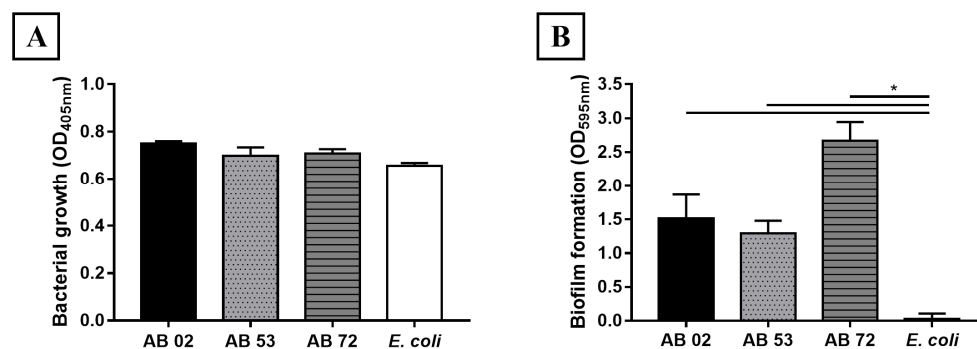
Biofilms made of MDR strains makes the treatment using conventional antibiotics more challenging. New therapeutic alternatives are necessary for these types of cases and antimicrobial peptides (AMP) are promising choices. AMPs are typically less than 100 amino acids in length that exhibit antimicrobial activity and can be obtained from the poisons of various animals, such as wasps [31], ants [32], bees [33], spiders [34], and scorpions [35]. Mastoparan (MP) peptides, which are the most commonly isolated peptide class from the *Vespidae* venom [31], present 10–14 amino acids that include distinct hydrophobic amino acids and an amphipathic helix conformation, which confers broad-spectrum antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria [36], fungi [37], and mycobacteria [31,38]. Many AMPs are also present in the scorpion venom, which are classified as AMPs presenting disulfide bridges and AMPs that do not [39]. AMPs have a broad antimicrobial spectrum and are not affected by classical mechanisms of resistance to conventional antibiotics. AMPs interact primarily with the lipids of cytoplasmic membranes or cell walls leading to membrane permeabilization, cell lysis, and death [40]. AMP interaction with the lipid monolayer as described by Brogden (2005) can cause peptide aggregation forming pores, lipid and peptide combination forming a toroidal pore, or direct membrane disruption [41]. This unique mechanism of action allows AMPs to act on bacteria at different biofilm stages such as attachment, structure, and dispersion [42].

Therefore, our objectives were to analyze MDR *A. baumannii* biofilm formation on cobalt–chromium coronary stents and to evaluate the action of several antimicrobial peptides from wasp and scorpion venoms against those biofilms.

## 2. Results

### 2.1. Biofilm Formation by *A. baumannii* Clinical Isolates

In this work, three *A. baumannii* isolates previously described by Castilho et al. that were isolated from patients with hospital-acquired infections were used [43]. Isolates AB 02 and AB 72 were resistant to ampicillin, amikacin, and ciprofloxacin. AB 53 isolate only presented resistance to ampicillin. All isolates showed intermediate susceptibility to tetracycline, while all isolates were susceptible to meropenem [43]. Thus, AB 02 and AB 72 were considered as MDR strains. The ability to form biofilms by *A. baumannii* isolates AB 02, AB 53 and AB 72 was determined by crystal violet staining of cultures in 96 polystyrene well plates. Figure 1A shows that bacterial growth in the plates were similar between all isolates and *Escherichia coli*, but biofilm formation occurred only with *A. baumannii* isolates (Figure 1B). The AB 72 isolate produced more biofilm than the other isolates. Considering that isolate AB 72 presented resistance to three antimicrobial drugs and showed the highest capacity to form biofilm, we decided to test its ability to adhere to the cobalt chromium vascular stent.



**Figure 1.** *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. (A) The bacterial growth of *Acinetobacter baumannii* AB 02, AB 53, AB 72, and *Escherichia coli* (control) were incubated with LB + Glu for 24 h at 29 °C and the growth was determined by OD readings at 405 nm. (B) After this period, the presence of biofilms was evaluated using crystal violet dye staining. The bars represent the mean and standard deviations of triplicates. \* Significant difference between biofilm formations by *A. baumannii* clinical isolates compared to *E. coli* ( $p < 0.05$ ).

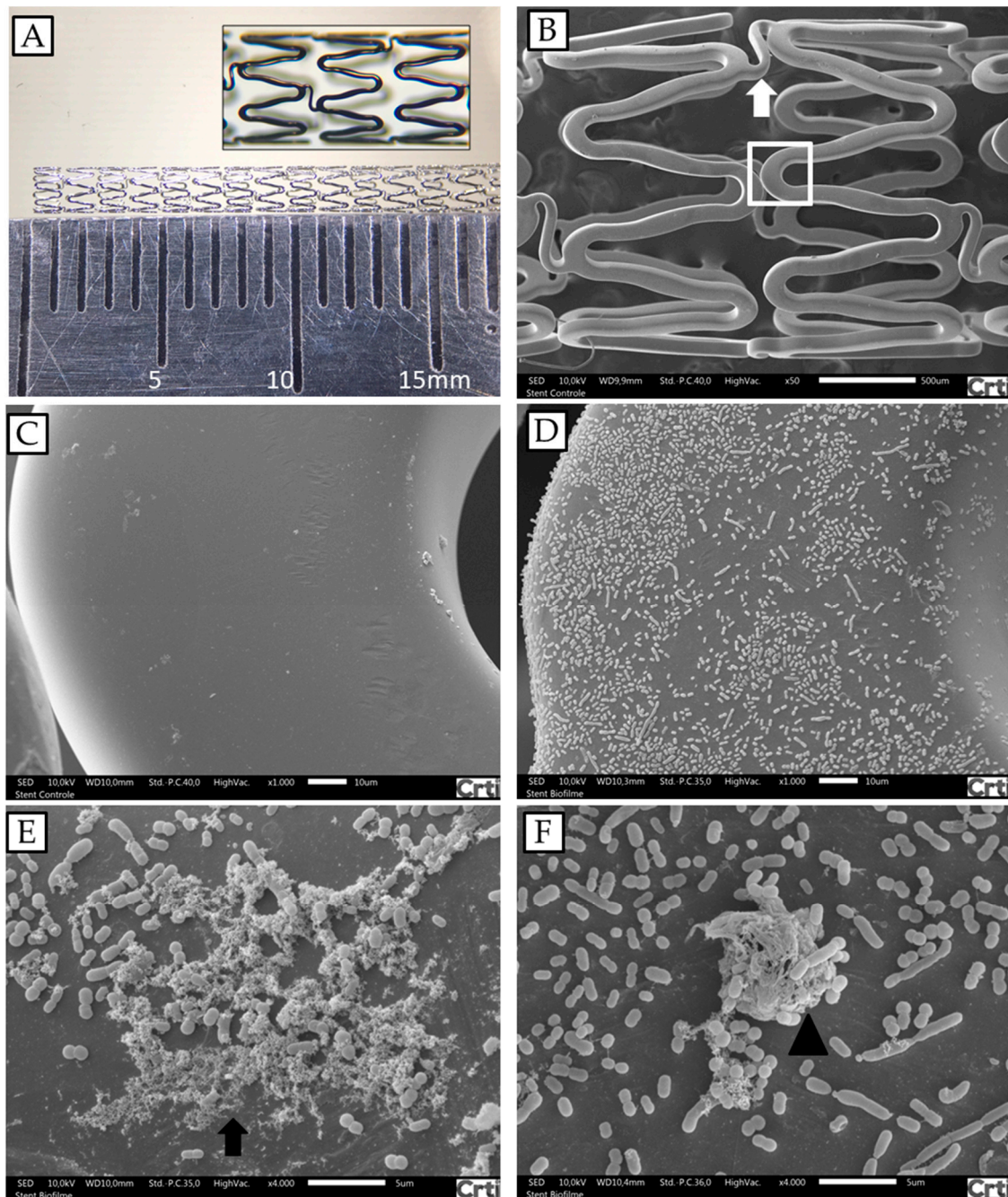
### 2.2. Adhesion and Early Formation of Biofilm on Cobalt–Chromium Vascular Stent

In order to determine if *A. baumannii* was able to adhere to stents, a cobalt–chromium stent was incubated with AB 72 isolate for 24 h. Figure 2 shows the results of scanning electronic microscopy (SEM) and the colony forming units (CFU) of bacteria recovered from the stents. The first image (Figure 2A) reveals the framework and the configuration of the coronary stent used. Fragments with five cells were used for the analyses. In the SEM analyses (Figure 2C,D) the bacteria adhered to the stent and secreted substances that also adhered to the stent and to the bacterial colonies indicating biofilm formation (Figure 2E). Determination of the bacterial load attached to the stents resulted in  $1.3 \times 10^6$  CFU per used stent. These results represent one of three independent experiments.

### 2.3. Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Antimicrobial Peptides against Isolates of *A. baumannii*

Since *A. baumannii* was shown to form biofilm on stents, we first investigated if AMPs derived from arthropod venom were active against these bacteria. Agelaia-MPI, Polybia-MPII, and Polydim-I derived from wasp venom and Con10 or NBDP-5.8 derived from scorpion venom were used.

The hydrophobicity evaluation of the peptides showed a range of 0.435 to 0.795 (Con10 < NDBP-5.8 < Polybia-MPII < Agelaia-MPI < Polydim-I) (Table 1). Agelaia-MPI and Polybia-MPII peptides were similar peptides differing by two amino acids. In the 9th position an alanine present in Agelaia-MPI is substituted by a methionine in Polybia-MPII and an isoleucine is substituted by a valine in the 10th position in Polybia-MPII, but their hydrophobicities were maintained (Table 1).



**Figure 2.** *A. baumannii* biofilm formations on fragments of cobalt–chromium vascular stents analyzed by SEM. (A) Coronary stent photography; the fragments used in the experiments were 6 mm long. (B) Architecture of the cobalt–chromium vascular stent, presenting two cells, connected by a link (arrow). (C) Stent structure enlargement of box in B. (D and E) Stent after incubation with *A. baumannii* AB 72 for 24 h under conditions for biofilm formation (arrow). (F) Protuberant bacterial accumulation, suggestive of initial biofilm formation (arrow head). Magnifications: (B) 40×; (C) and (D) 1000×; (E) and (F) 4000×.

**Table 1.** Description of the sequence, source, and publication of the antimicrobial peptides used in this study.

Peptide	Sequence	Venom source	Hydrophobicity	First Description
Agelaia-MPI	INWLKLGKAIIDAL	<i>Agelaia pallipes pallipes</i>	0.781	[44]
Polybia-MPII	INWLKLGKMVIDAL	<i>Pseudopolybia vespiceps testacea</i>	0.740	[45]
Polydim-I	AVAGEKLWLLPHLLKMLLTPTP	<i>Polybia dimorpha</i>	0.791	[38]
Con10	FWSFLVKAASKILPSLIGGGDDNKSSS	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	0.435	[46]
NBDP-5.8	GILGKIWEGVKSIL	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	0.686	[46]

The ability of AMPs (Agelaia-MPI, Polybia-MPII and Polydim-I, Con10 and NBDP-5.8) to inhibit the bacteria growth by incubating them with three different MDR *A. baumannii* isolates for 24 h was analyzed (Figure 3). The MIC for Agelaia-MPI peptide against AB 02 and AB 72 isolates was 6.25  $\mu\text{M}$  and against AB 53 was 3.12  $\mu\text{M}$  (Figure 3A). Polybia-MPII presented an MIC of 12.5  $\mu\text{M}$  for AB 02 and 6.25  $\mu\text{M}$  for both AB 53 and AB 72 isolates (Figure 3B). Polydim-1 did not completely inhibit the growth of any isolate at the tested concentrations (Figure 3C). The Con10 AMP presented an MIC of 12.5  $\mu\text{M}$  for the AB 02 isolate and 6.25  $\mu\text{M}$  for both AB 53 and AB 72 isolates (Figure 3D). NBDP 5.8 showed a MIC of 25  $\mu\text{M}$  for all isolates analyzed (Figure 3E).

#### 2.4. Impact of Antimicrobial Peptides on Bacterial Biofilm Formation

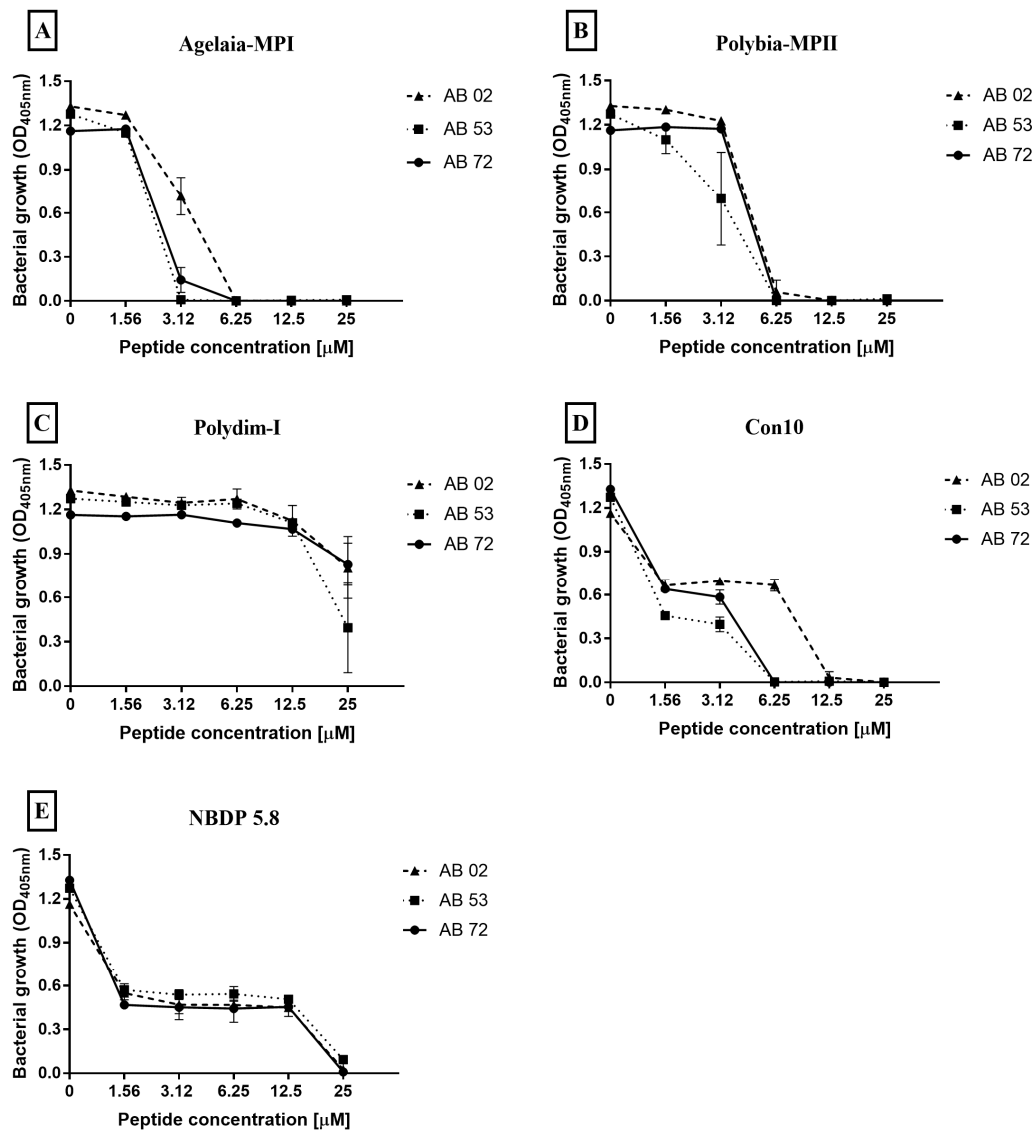
Since the AMPs were shown to act against *A. baumannii* isolates, we then investigated if they could avoid the formation of biofilm in 96-well plates, calculating the minimum biofilm eradication concentration (MBEC). Agelaia-MPI showed adhesion inhibition for isolates AB 02 at a concentration of 25  $\mu\text{M}$  while isolates AB 53 and AB 72 were inhibited at a concentration of 6.25 and 12.5  $\mu\text{M}$ , respectively (Table 2). Polybia-MPII inhibited at the minimum concentration of 25  $\mu\text{M}$  for AB 02 and AB 72 and 12.5  $\mu\text{M}$  for AB 53 (Table 2). Polydim-I showed low adhesion inhibition—50% for the AB 53 isolate at a concentration greater than 25  $\mu\text{M}$  (Table 2). The Con10 scorpion peptide inhibited the biofilm formation at the concentration of 12.5  $\mu\text{M}$  for the AB 53 and 72 isolates and for the AB 02 isolate the minimum concentration was 25  $\mu\text{M}$  (Table 2). For NBDP 5.8 peptide, it was able to inhibit the biofilm (>95%) of the three isolates at a minimum concentration of 25  $\mu\text{M}$  (Table 2). Therefore, Agelaia-MPI e Polybia-MPII peptides that presented best activities against biofilm formation were selected.

#### 2.5. Effect of the Agelaia-MPI and Polybia-MPII Peptides on Mature Biofilm and on the Dispersion of Adherent Cells

Agelaia-MPI and Polybia-MPII wasp peptides were analyzed for their ability to inhibit mature biofilm formed after 24 h of culture (Figure 4). Agelaia-MPI at 12.5 and 25  $\mu\text{M}$  decreased 50% and 60% of the mature biofilm previously formed in the plates, respectively. Additionally, Agelaia-MPI and Polybia-MPII peptides were able to inhibit cells that were dispersed from the formed biofilm (Figure 5). Agelaia-MPI inhibited the dispersed cells at the minimum concentration of 12.5  $\mu\text{M}$  for the AB 72 isolate and 6.25  $\mu\text{M}$  for the other two (Figure 5A). Polybia-MPII inhibited the dispersed cells of all isolates at the same concentration of 6.25  $\mu\text{M}$  (Figure 5B).

#### 2.6. SEM Analysis of the Activity of the Agelaia-MPI and Polybia-MPII Wasp Peptides against AB 72 Isolate Biofilm adhered to the Vascular Stent

After incubating AB 72 isolate for 24 h with one fragment of vascular stent, the stents were treated with Agelaia-MPI or Polybia-MPII for 24 h (Figure 6). AMP treatment reduced the bacillary load adhered to the material and the bacteria that remained present on the stent showed morphological modifications on the bacterial surface with cellular debris accumulation (Figure 6D,F).

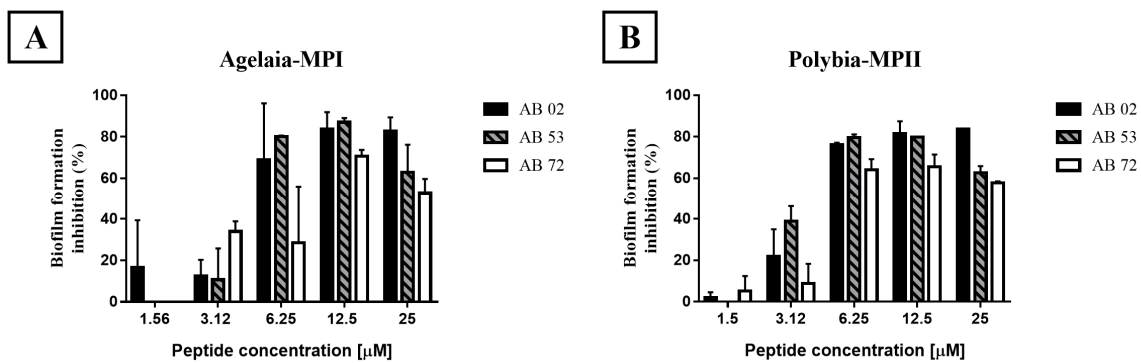


**Figure 3.** Effect of the antimicrobial peptides (A) Agelaia-MPI, (B) Polybia-MPII, (C) Polydim-I, (D) Con10, and (E) NBDP 5.8 on the inhibition of adhesion of *A. baumannii* to 96-well polystyrene plates. The curves represent the bacterial growth of adhered cells on polystyrene plate by reading OD in the range of 405 nm. Results are reported as mean and standard deviations of triplicates. These results represent one of three independent experiments.

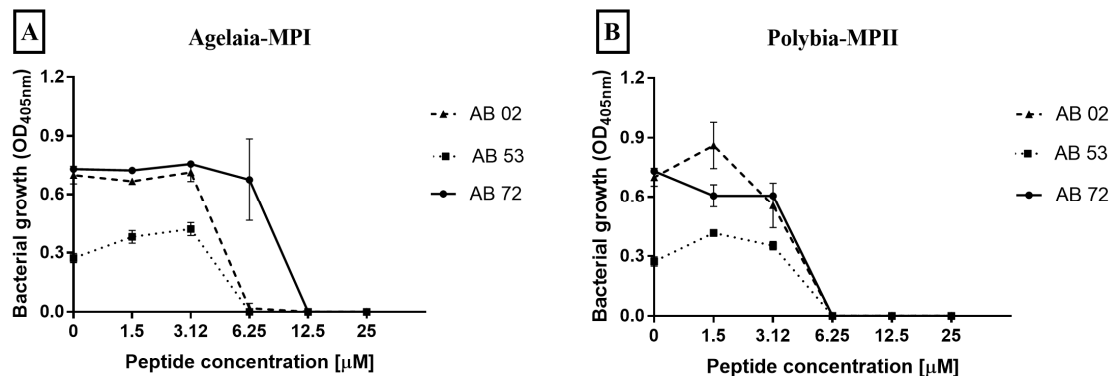
**Table 2.** Minimal inhibitory concentration of antimicrobial peptides against the formation of *A. baumannii* biofilm on polystyrene plates.

Peptide	Isolate AB 02 <sup>1</sup>	Isolate AB 53	Isolate AB 72
Agelaia-MPI	25	6.25	12.5
Polybia-MPII	25	12.5	25
Polydim-I	>25	>25	>25
Con 10	25	12.5	12.5
NBDP 5.8	>25	>25	>25

<sup>1</sup> Values are presented as concentration in µM that inhibited biofilm formation after violet crystal staining of the biofilm adhered to polystyrene plate by reading OD in the range of 595 nm.



**Figure 4.** Effect of the antimicrobial peptides Agelaia-MPI and Polybia-MPII on the mature biofilm of *A. baumannii* on polystyrene plates. (A) Agelaia-MPI and (B) Polybia-MPII significantly inhibited mature biofilm at the lowest concentration of 6.25  $\mu\text{M}$ . Results are reported as mean and standard deviations of triplicates. These results represent one of three independent experiments.



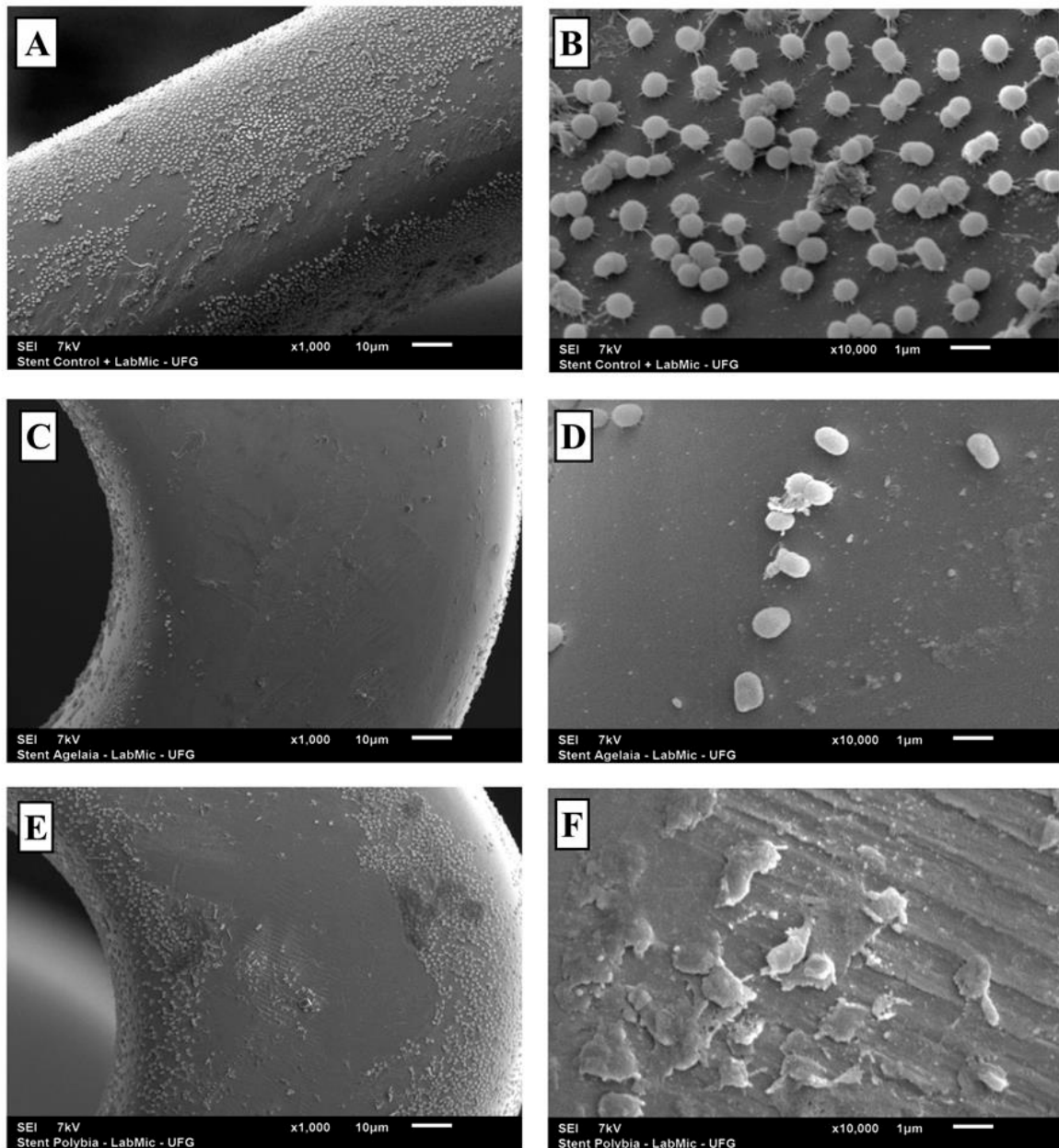
**Figure 5.** Effect of the antimicrobial peptides (A) Agelaia-MPI and (B) Polybia-MPII on *A. baumannii*-dispersed cells from biofilms on polystyrene wells. After washing the wells where biofilms had been previously formed and removing the non-adherent or poorly adhered bacteria, more culture medium was added with antimicrobial peptides and, 24 h later, bacteria present in the supernatant was measured. Results are reported as mean and standard deviations of triplicates. These results represent one of three independent experiments.

### 2.7. Inhibition of Bacterial Adherence on the Cobalt–Chromium Stent Coated with PEG Mixed with Agelaia-MPI

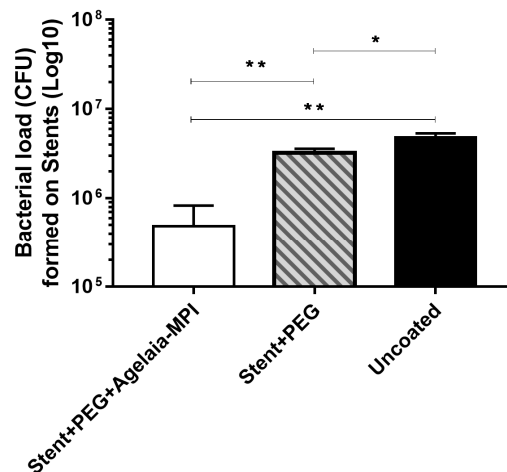
Stents were assembled using PEG 400 solution with Agelaia-MPI (25  $\mu\text{M}$ ), PEG 400 alone, or uncoated as control. Then all stents were incubated with  $1.5 \times 10^8$  CFU of AB 72. After 24 h, approximately  $4.8 \times 10^6$  CFU remained unattached to the vascular stent. Coating the stent with PEG 400 alone resulted in a slight reduction of biofilm formation (30%;  $\sim 3.25 \times 10^6$  CFU). When the stent was coated with Agelaia-MPI plus PEG, a 91% reduction ( $\sim 4.8 \times 10^5$  CFU) was observed when compared to non-treated stents (uncoated; Figure 7).

### 2.8. Effect of Antimicrobial Peptides on Staphylococcus Biofilm Formation

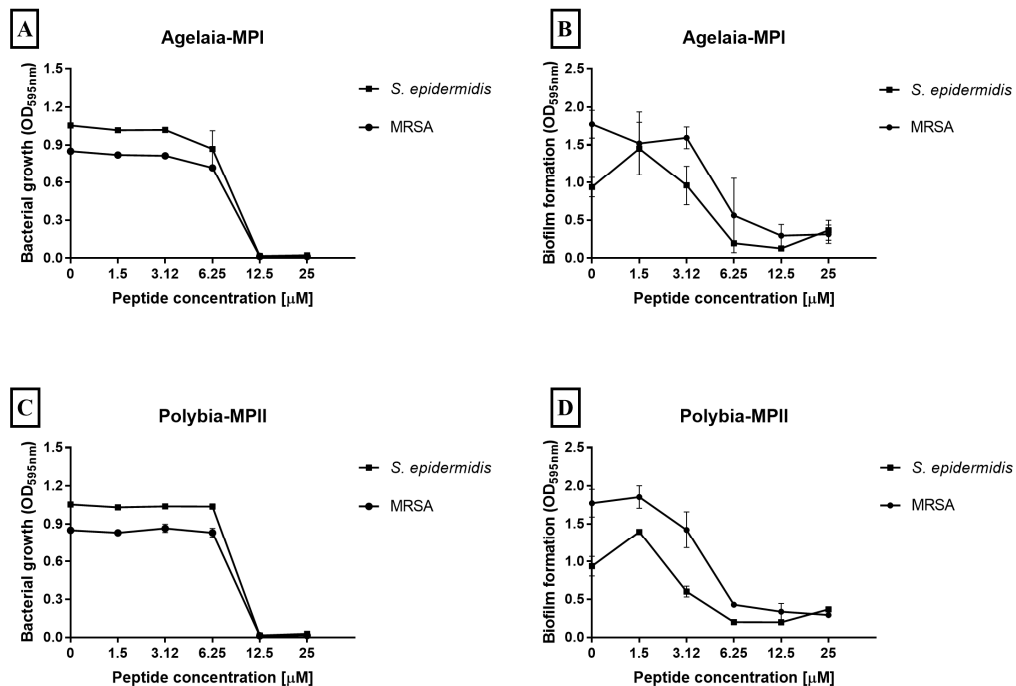
The species of *Staphylococcus* are the most common agent that causes coronary infections [4,47], thus we decided to test the microbicidal efficiency of Agelaia-MPI and Polybia-MPII peptides against *S. epidermidis* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) species. We also evaluated if the selected AMPs could avoid the formation of biofilm. Agelaia-MPI and Polybia-MPII AMPs showed similar growth inhibition at 12.5  $\mu\text{M}$  for both *Staphylococcus* species (Figure 8A,C). When evaluating the biofilm formation by these bacteria, the peptides inhibited 85% of biofilm formation at 12.5  $\mu\text{M}$  (Figure 8C,D). Thus, Polybia-MPII and Agelaia-MPI were microbicidal and avoided biofilm formation by *A. baumannii* and *Staphylococcus* spp. bacteria.



**Figure 6.** Role of the peptides Agelaia-MPI and Polybia-MPII on the inhibition of biofilm formation by *A. baumannii* on stents. (A and B) SEM evaluation of *A. baumannii* biofilms formed on stents. (C and D) Biofilm formation on stents by *A. baumannii* treated with Agelaia-MPI for 24 h. (E and F) Biofilm formation on stents by *A. baumannii* treated with Polybia-MPII for 24 h. Magnification of  $\times 1000$  (A, C and E);  $\times 10,000$  (B, D and F).



**Figure 7.** Coating of the vascular stent with Agelaia-MPI plus PEG prevented the adherence of *A. baumannii*. The vascular stent was left for 3 h in a PEG 400 solution containing 25 μM of Agelaia-MPI (stent + PEG + Agelaia–MPI) or not (stent + PEG). Coated stents were transferred to a new well containing fresh medium and then *A. baumannii* was added and incubated for 24 h. Uncoated stent was used as a control. At the end of incubation, wells were rinsed with fresh media and the stents were sonicated and the bacterial load adhered in each situation was determined. Results are reported as means and standard deviations of triplicates from one of three independent experiments. These results in all three independent experiments were similar, \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.0001$ .



**Figure 8.** Effect of Agelaia-MPI and Polybia-MPII AMPs on the adherence and biofilm formation of *Staphylococcus* strains. (A) Agelaia-MPI activity against adhesion and (B) biofilm. Polybia-MPII activity against (C) adhesion and (D) biofilm. Results are expressed as means and standard deviations of triplicates. These results represent one of three independent experiments.

### 3. Discussion

Infections caused by MDR *Acinetobacter baumannii* are found in patients in hospitals due to contamination and biofilm formation of clinical materials and instruments [27]. In this work we

used three *A. baumannii* clinical isolates, AB 02, AB 53, and AB 72 with resistance to different classes of antibiotics and potential biofilm formation in plates as described by Castilho et al. [43]. Here, we showed the bacterial adherence in a coronary stent with the formation of biofilm. We showed that three peptides from wasps and scorpions presented antimicrobial and antibiofilm activities. Additionally, the peptides had activity against different stages of biofilm formation: Adhesion, maturation, and dispersion. Agelaia-MPI + PEG coating was used to prevent adherence of bacteria on the coronary stents and this coating reduced 90% of bacteria adhered to them. Thus, we propose that Agelaia-MPI could be an alternative therapeutic against MDR *A. baumannii* deposition and biofilm formation in clinical materials.

Two of the clinical isolates used in this study presented resistance to the beta-lactam antibiotic ampicillin and carbapenems, the aminoglycoside amikacin, and the quinolone ciprofloxacin, therefore presenting several mechanisms of drug resistance, representing a challenge to treat infections by these bacteria [43]. In recent years, there has been an increase in the number of cases of infection by MDR *A. baumannii* strains [27]. *Acinetobacter* spp. are more frequently found on inanimate objects and hands of staff in the ICU than *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas* spp. [27]. Another problem is the increased use of prophylactic antibiotics, which decreases the risk of infection, but increase the selection of resistant strains, such as emergent MDR *A. baumannii*. Analysis of isolates of *A. baumannii* reveal that those producing biofilms are more frequently associated with genes of antibiotic resistance compared to the weak biofilm producers [48]. In combination with different genetic profiles responsible for antimicrobial resistance, biofilm formation increases the chances of pathogen survival. Because biofilm formation may occur in medical materials, prospecting new molecules that could avoid antibiotic resistance might contribute to the treatment of such bacteria.

The strains of *A. baumannii* used in this study were capable of adherence to the cobalt–chromium structure of the vascular stent. Also, the presence of structures that resemble exopolysaccharides that support adherence to the stent were observed, which were shown to be important for the beginning of biofilm formation [49]. The initial agglomeration of bacteria on surfaces might improve their resistance to desiccation and antimicrobial solutions [50]. *A. baumannii* can survive for long periods in hospital environments; many reservoirs have been identified, including mattresses, metal tables, door handles, and air vents [51]. *A. baumannii* is a cause of primarily hospital-acquired infection associated with septicemia, bacteremia, ventilator-associated pneumonia, sepsis, endocarditis, meningitis, and urinary tract infections [27]. Although contaminated stents reviewed by Bosma et al. [4] did not show the presence of *A. baumannii*, we believe that more studies should be done since *A. baumannii* can easily infect hospitalized immunosuppressed individuals and *A. baumannii* bacteremia could induce biofilm formation on the implanted stents. Very often the diagnosis of an infected stent is missed in the first phase, with a subsequent delay in definitive treatment, yet in up to 50.0% of cases it has a fatal outcome [4]. Also, wrong practices of coronary stent manipulation can lead to contamination, even when antibiotics are used preventively [52–54]. Our hypothesis is that there is an underestimation of cases of coronary stent infection by *A. baumannii*.

Antimicrobial peptides (AMPs) derived from wasps (Agelaia-MPI, Polybia-MPII, and Polydim-I) and scorpions (Con10 and NBDP-5.8) were tested for their ability to inhibit the growth of *A. baumannii* isolates. Among all AMPs, the Agelaia-MPI had the best MIC and MBEC values when compared to the other peptides. AMPs derived from wasp and scorpion venom have been widely tested against different microorganisms and have a microbicidal function on bacteria and fungi, besides having antiviral action [33]. Although the bactericidal activity of Agelaia-MPI against Gram-negative bacteria was not tested before, we believe that it could involve the interaction of the peptide with negatively-charged molecules on the surface of bacteria that would cause disruption of bacterial membranes [31,55]. Because AMPs act on the lipid portion of cellular membranes, it is believed that they could avoid the development of resistance mechanisms such as those commonly induced by antibiotics, i.e., *A. baumannii* bacterial resistance mechanisms to conventional antibiotics comprises

multidrug efflux pumps, aminoglycoside-modifying enzymes, selective membrane permeability, alteration of target sites, and hydrolytic enzymes like carbapenemase [56–58].

Agelaia-MPI presented the MIC of 6.25  $\mu\text{M}$  for the AB 02 isolate and 3.12  $\mu\text{M}$  for the AB 53 and AB 72 isolates. Such MIC variation could be due to the particular characteristics of each clinical isolate, such as membrane composition, protease secretion, etc. [59] and has been also described for antimicrobial testings [60]. The acquired antimicrobial drug resistance attributed to the biofilm formation was also observed for the isolates studied here. A reduction of 50%–60% of the bacterial load on the mature biofilms only occurred using higher AMP concentrations (12.5 and 25  $\mu\text{M}$ ). The *A. baumannii* reduction observed here could prevent the formation of the biofilm by killing planktonic bacteria, which reduces/eradicates mature biofilm or induce the detachment of the bacteria. In this case, Agelaia-MPI probably acts in a "classic" manner against biofilm, according to Batoni et al. [39]. When MBEC is higher than the MIC, AMP acts in a microbicidal way, preventing the biofilm by the death of the planktonic bacteria, reducing/eradicating the bacteria in the mature biofilm and finally killing those who detach from the biofilm [42]. Despite the direct correlation between AMPs concentration and bacterial death, a transient and slight bacterial growth was observed at concentrations lower than MIC (sub-MIC). Although not statistically significant, this behavior has been shown previously and explained as bacterial detachment from the biofilm that cannot be killed by sub-MIC of AMPs [61].

Agelaia-MPI and Polybia-MPII modified the bacterial surface and reduced the bacterial load on the stents (Figure 6). These peptides differ from each other by two amino acids; an alanine in Agelaia-MPI by a methionine in Polybia-MPII and an isoleucine by a valine, in the 9th and 10th position, respectively. These amino acid differences apparently did not interfere with their ability to cause membrane lesions. Polybia-MPII was shown before to present microbicidal functions against fungi (*Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*), *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* and *S. aureus* [31]. The ability of Polybia-MPII to avoid *A. baumannii* biofilm formation was also shown against *Staphylococcus* strains [31]. The probable mechanism of action on membrane/cell wall observed with *M. a. massiliense* SEM analyses were also observed for *A. baumannii* stent biofilms, thus indicating physical rather than metabolic alterations induced by the AMPs (i.e., general membrane alterations). In addition to the amino acid sequence of AMPs, some features may influence their binding to bacterial and eukaryotic membranes, i.e., hydrophobicity and the resulting charge. Increasing or diminishing hydrophobicity of AMPs has been shown to improve their bactericidal functions [62,63]. In the present work, this phenomena was not the case; Agelaia-MPI and Polybia-MPII presented similar hydrophobicity and bactericidal action, while Polydim-I, although having similar hydrophobicity, presented lower bactericidal function. Additionally, CON10 and NDBP-5.8 that presented the lowest hydrophobicity showed higher bactericidal function than Polydim-I. Thus, for the results presented here, the peptide hydrophobicity was not the only driving factor in the microbicidal activities.

Disadvantages of the use of peptides as an antimicrobial are the production costs and their low stability in human serum, due to the action of peptidases and proteases present in the human body, especially in the liver [64]; however, there is a way to optimize the amount of peptide used and increase its stability, i.e., by using it combined with other molecules or coating medical material. Polyethylene glycol (PEG) is hydrophilic and presents low toxicity and it has been shown before to assist the slow release of AMPs such as LL37 [65]. Thus, we decided to use PEG to coat the stent with Agelaia-MPI. Coating stents with Agelaia-MPI + PEG reduced 90% of the biofilm formation. Different peptides have already been used to inhibit biofilm formation; in those cases, they were adhered to silicone catheters and titanium structures [64,66]. Similar to our results, Baghery et al. immobilized AMPs with PEG and showed an improvement in the antimicrobial efficiency of the AMPs against biofilm formation [67]. Analysis comparing the immobilization of AMP with and without PEGylated spacers demonstrated that some immobile AMPs are only bactericidal when PEGylated spacer was used [65,68]. Although the works done before did not use PEG alone as control, in our case of using PEG-coated stents, the biofilm formation was reduced 30%. This fact could indicate that PEG may alter the bacteria

adherence to the stent and thus avoid the complete biofilm formation, but more studies should be done to prove this fact. Thus, surface coating composed of antimicrobial peptides offers additional advantages, such as decreased potential cytotoxicity associated with higher concentrations of soluble peptides and increased peptide life [69].

#### 4. Conclusions

In summary, this work showed two peptides, Agelaia-MPI and Polybia-MPII, derived from wasps with bactericidal activity, as well as activity against different stages of biofilm-forming by MDR *A. baumannii*. We also showed that coating cobalt–chromium vascular stents with Agelaia-MPI together with PEG 400 prevented 90% of bacterial biofilm formation. This study revealed potential applications of Agelaia-MPI and Polybia-MPII peptides derived from wasp venom as antimicrobials to treat biofilm-resistant agents such as *A. baumannii* and *Staphylococcus* spp. coated on the surfaces of implanted medical devices.

#### 5. Materials and Methods

##### 5.1. Bacterial Strains and Growth Conditions

Clinical isolates of MDR *A. baumannii* described by Castilho et al. [43] identified as AB 02, AB 53, and AB 72 cryopreserved at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  were reactivated in Luria Bertani (LB) agar medium (HiMedia) and grown at  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 24 h. A colony isolated from each strain was inoculated into 5 mL of LB broth medium (HiMedia, Pennsylvania, USA) until growth corresponded to 0.5 of the MacFarland scale. Some growth conditions were modified for each experiment to evaluate the different stages of biofilm formation described below.

##### 5.2. Analysis of Bacterial Biofilm Formation by *A. baumannii* Isolates by Colorimetric Dyes in 96-Well Polystyrene Culture Plates

The estimated quantification of bacterial biofilm formation in a 96-well polystyrene culture plate was done according to methodology described by Castilho et al. [43], with minor modifications. After growth of the strains in LB broth medium to a concentration corresponding to 0.5 of MacFarland scale, the culture concentration was adjusted to  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL and 30  $\mu\text{L}$  of that suspension was added to 170  $\mu\text{L}$  of LB broth at 1/4 of its concentration with an additional 0.2% of glucose (Ecibra) (LB $\frac{1}{4}$ -Glu). The bacterial culture was incubated in a 96-well plate for 24 h at a temperature of  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Bacterial growth was measured at an absorbance of 405 nm in a Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Microplate Photometer. The supernatant was removed and the well was washed with phosphate buffered saline (PBS). The attached biofilm was stained with 0.2% (w/v) crystal violet (Vetec) and solubilized with ethanol/acetone (80/20 v/v) to quantify at 595 nm. A common laboratory *Escherichia coli* strain (XL1blue) known not to form biofilm was used as a negative control.

##### 5.3. Adhesion of *A. baumannii* to Abiotic Surfaces

*A. baumannii* strains form bacterial biofilm on a polystyrene plate under incubation conditions (LB $\frac{1}{4}$ -Glu  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Biofilm formation on stents was evaluated by placing a sterile fragment of the cobalt–chromium alloy vascular stent into a well containing strain AB 72 at a concentration of  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL in LB $\frac{1}{4}$ -Glu. As a control, a fragment of the vascular stent was incubated with culture medium alone. After 24 h of incubation, the stents were rinsed with sterile PBs and analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) and CFU counting. The SEM was performed using a methodology from das Neves et al. [36], with minor modifications. The fragments were washed with PBS to remove the unbound bacteria, then fixed with Karnovsky's solution (1% paraformaldehyde and 3% glutaraldehyde) in 0.07M cacodilide buffer (pH 7.2) for 30 min at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The fixative solution was removed and serial dehydration was performed, followed by ethanol washes (30%, 50%, 70%, 90%, and 100%) for 10 min, followed by acetone and hexamethyldisilazane (HMDS) (v/v) for a further

5 min and ending with HMDS p.a. Lastly, they were covered with a thin layer of gold by the metallizer Denton Vacuum Desk V. The images were made using a Jeol microscope, JSM-6610, equipped with EDS (Thermo scientific NSS Spectral Imaging). The metalizations and analyses were carried out in two moments in the Multiuser Laboratories of High Resolution Microscopy of the Institute of Physics and in the Regional Center for Technological Development and Innovation and Labmic Core Facility of the Federal University of Goiás.

For CFU analyses, the rinsed stent fragments were sonicated using Ultrasonic homogenizers (SONOPULS) for 1 minute in 1 mL of cold PBS followed by serial dilution of the sonicated supernatant and plating on LB agar medium for quantification.

#### 5.4. Peptides and Computational Analysis

The peptide Agelaia-MPI was derived from the *Agelaia pallipes pallipes* social wasp venom as described by Mendes et al. [44]. Polybia-MPII was first described by Souza et al. [45]. The AMP properties of Polydim-I were described by das Neves et al. [38]. Con10 is a peptide derived from a larger peptide sequence, described by Silva et al. [43]. This group also described the NDBP-5.8 [46]. Mass spectrometry and peptide sequence analysis were confirmed by MALDI-TOF/TOF MS (UltraFlex III, Bruker Daltonics, Germany) and LIFTM (MS/MS) and the secondary structures of these peptides were defined [36,41–43]. The peptides Agelaia-MPI, Polybia-MPII, Polydim-I, Con10 and NDBP-5.8 were synthesized with terminal amidation by FastBio LTDA (Ribeirão Preto, SP Brazil) with >95% purity.

#### 5.5. Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The minimum inhibitory concentration was determined by broth microdilution according to Wiegand et al. [70]. The AB 02, AB 52 and AB 72 isolates were grown in LB broth medium for 8 h at 37 °C until they reached a growth turbidity corresponding to 0.5 of the McFarland scale. Thirty microliters of each culture were added in the wells of polystyrene plates containing 170 µL of culture medium with different concentrations of the antimicrobial peptides. Agelaia-MPI, Polybia-MPII, Polydim-I, Con10 and NDBP 5.8 antimicrobial peptides were serially diluted from 25 to 1.56 µM. The plate containing different concentrations of individual peptides with the bacterial strains were incubated for 24 h at 37 °C, after which time the plates were read at the optical density of 405 nm. As positive control, bacterial strains without peptides were grown in the same conditions, and as negative control medium alone was used.

#### 5.6. Determination of the Minimal Inhibitory Concentration for Biofilm Formation

In order to determine if individual peptides could avoid biofilm formation, the minimal biofilm eradication concentration (MBEC) determination assay was performed using 96-well polyethylene plates according to Feng et al. [71] methodology with minor modifications. Initially, *A. baumannii* strains (AB 02, AB 53, and AB 72) were grown for 6 h in LB broth until reaching an optimum growth of 1.0 in the optical density of 600 nm and then the culture concentration was adjusted to  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL and 30 µL of the culture was added to the wells containing 170 µL de LB  $\frac{1}{4}$  + 0.2% glucose containing serially diluted peptides ranging from 25 to 1.56 µM. Cells were incubated at 29 °C for 24 h to let biofilms be formed. The supernatant was removed and the wells were washed with 200 µL of PBS twice to remove the non-adherent and weakly adherent cells, maintaining only the mature biofilm formed on the plate. Biofilm quantification was measured by staining attached cells with 0.2% (w/v) violet crystal staining solubilized with ethanol/acetone (80/20 v/v) and quantified at 595 nm. The biofilms formed in cultures with different peptide concentrations were compared with the biofilms formed in cultures of *A. baumannii* strains without peptides. Analyses were performed in triplicate and three independent experiments were performed for each of these assays.

### 5.7. Analysis of the Removal of Mature Bacterial Biofilm by Antimicrobial Peptides

The release of substrate produced by the bacterium itself conferred resistance to different antimicrobials. Knowing this, after the adhesion and structuring of the bacterial biofilms on the exogenous surface, we analyzed the potency of the Agelaia-MPI and Polybia-MPII peptides in removing the mature biofilm of *A. baumannii* strains. The experiment followed the methodology similar to the previous ones, except that the peptide was added after the formation of the plaque biofilm. The biofilm was quantified by the absorption of violet crystal after 24 h of contact with the antimicrobial peptides at the usual concentrations.

### 5.8. Inhibition of the Dispersion of Bacteria from the Biofilm by the Antimicrobial Peptides

The third stage of the biofilm formation cycle is the dispersion of bacterial cells from the adhered material to the medium. To investigate whether the peptides were able to inhibit this stage, the bacterial isolates were cultivated until they formed biofilms (LB $\frac{1}{4}$ -Glu), following the methodology described above. Biofilm-containing wells were washed 3 times with PBS to remove non-adherent and weakly adherent cells. The peptides were serially diluted and added to the biofilms at final concentrations ranging from 25 to 1.56  $\mu$ M and the plate was incubated again for 24 h. Dispersion inhibition was measured by quantifying the bacteria that dispersed from the biofilm and was detected in the culture medium by determining the OD at 405 nm of the supernatants. Controls consisted of media-only (negative) and bacteria without peptides (positive).

### 5.9. Stent Biofilm Formation Inhibition by Agelaia-MPI Complexed with Polyethylene Glycol (PEG)

Sterile coronary stent fragments were placed in contact with a PEG 400 solution containing 25  $\mu$ M Agelaia-MPI for 3 h. At the end of that period, the stent fragments were removed from solution and placed in tubes containing LB $\frac{1}{4}$  + GLU and AB 72 isolate at a concentration of  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL and incubated at 29 °C for 24 h. After this period, the stents were washed with PBS. For CFU analyses, the stent fragments were sonicated for 1 minute in 1 mL of cold PBS, dilutions were made and plated on LB agar medium for quantification. As controls, the amount of bacteria adhered to stents without any treatment or treated with PEG only were evaluated.

### 5.10. Analysis of Bacterial Biofilm Formation of *Staphylococcus* Strains by Colorimetry

To determine the formation of the biofilm of *Staphylococcus* spp., the methodology according to Kwasny and Opperman (2010) with modifications was used. *Staphylococcus epidermidis* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) cryopreserved strains at  $-80$  °C were reactivated in solid medium to obtain an isolated colony, which was inoculated in LB medium broth and cultured at 37 °C until they reached a concentration corresponding to 0.5 turbidity of the MacFarland scale [72]. At that concentration, 30  $\mu$ L of the bacterial culture was added to wells containing 170  $\mu$ L of tryptic soy broth (HiMedia) broth with 1% glucose. The plate was incubated at 37 °C for 24 h. After this period the bacterial growth was quantified by optical density reading at 600 nm and the formation of the biofilm was determined by the colorimetric method similar to that used for *Acinetobacter*. The biofilm inhibition test also followed the standard for the previous tests, with modifications in the culture medium used to increase the bacterial biofilm production by *Staphylococcus* strains.

### 5.11. Statistical Analysis

Two-way ANOVA with Tukey's post-test multiple comparisons test was used to determine the difference in biofilm production between strains and the difference between inhibitions of the different concentrations of the peptides used. All data are presented as mean  $\pm$  SD and  $p < 0.05$  indicates a significant difference between groups. Data were tabulated using Excel software and the mean and standard deviation values were calculated. To evaluate the statistical differences between the groups, the software GraphPad Prism 6.0 was used (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

**Author Contributions:** R.C.d.N., A.K. and A.P.J.-K. conceived and designed the experiments; R.C.d.N. performed the experiments; M.R.M. and E.F.S. reviewed the manuscript and analyzed the data; R.C.d.N., A.K. and A.P.J.-K. analyzed the data; R.C.d.N. wrote the manuscript draft.

**Funding:** This research was funded by FAPEG, CNPq and CAPES.

**Acknowledgments:** We would like to thank LabMic UFG for assistance with scanning electron microscopy.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Minardi, D.; Ghiselli, R.; Cirioni, O.; Giacometti, A.; Kamysz, W.; Orlando, F.; Silvestri, C.; Parri, G.; Kamysz, E.; Scalise, G.; et al. The antimicrobial peptide Tachyplesin III coated alone and in combination with intraperitoneal piperacillin-tazobactam prevents ureteral stent Pseudomonas infection in a rat subcutaneous pouch model. *Peptides* **2007**, *28*, 2293–2298. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. De Breij, A.; Riool, M.; Kwakman, P.H.S.; de Boer, L.; Cordfunke, R.A.; Drijfhout, J.W.; Cohen, O.; Emanuel, N.; Zaat, S.A.J.; Nibbering, P.H.; et al. Prevention of Staphylococcus aureus biomaterial-associated infections using a polymer-lipid coating containing the antimicrobial peptide OP-145. *J. Control. Release* **2016**, *222*, 1–8. [[CrossRef](#)]
3. Arciola, C.R.; Campoccia, D.; Montanaro, L. Implant infections: Adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nat. Rev. Microbiol.* **2018**, *16*, 397–409. [[CrossRef](#)]
4. Bosman, W.M.P.F.; Borger van der Burg, B.L.S.; Schuttevaer, H.M.; Thoma, S.; Hedeman Joosten, P.P. Infections of intravascular bare metal stents: A case report and review of literature. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **2014**, *47*, 87–99. [[CrossRef](#)]
5. Dalal, J.J.; Digrajkar, A.; Hastak, M.; Mulay, A.; Lad, V.; Wani, S. Coronary stent infection—A grave, avoidable complication. *IHJ Cardiovasc. Case Rep.* **2017**, *1*, 77–79. [[CrossRef](#)]
6. Reddy, K.V.C.; Sanzgiri, P.; Thanki, F.; Suratkal, V. Coronary stent infection: Interesting cases with varied presentation. *J. Cardiol. Cases* **2018**, *19*, 8–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Elieson, M.; Mixon, T.; Carpenter, J. Coronary stent infections. *Tex. Heart Inst. J.* **2012**, *39*, 884–889.
8. Whitcher, G.H.; Bertges, D.J.; Shukla, M. Peripheral vascular stent infection: Case report and review of literature. *Ann. Vasc. Surg.* **2018**, *51*, 326.e9–326.e15. [[CrossRef](#)]
9. Desai, J.A.; Husain, S.F.; Islam, O.; Jin, A.Y. Carotid artery stent infection with Streptococcus agalactiae. *Neurology* **2010**, *74*, 344. [[CrossRef](#)]
10. Sekhar, S.; Vupputuri, A.; Nair, R.C.; Palaniswamy, S.S.; Natarajan, K.U. Coronary stent infection successfully diagnosed using 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography computed tomography. *Can. J. Cardiol.* **2016**, *32*, 1575.e1–1575.e3. [[CrossRef](#)]
11. Sudhakar, B.G.K. Pseudomonas aeruginosa septicemia resulting in coronary stent infection and coronary artery aneurysm and acute infective endocarditis of mitral valve causing severe mitral regurgitation—A case report. *IHJ Cardiovasc. Case Rep.* **2018**, *2*, 191–195. [[CrossRef](#)]
12. Raychaudhuri, R.; Yu, W.; Hatanpaa, K.; Cavuoti, D.; Pride, G.L.; White, J. Basilar artery dissection treated by Neuroform stenting: Fungal stent infection. *Surg. Neurol.* **2009**, *71*, 477–480. [[CrossRef](#)]
13. Soman, R.; Gupta, N.; Suthar, M.; Sunavala, A.; Shetty, A.; Rodrigues, C. Intravascular stent-related endocarditis due to rapidly growing mycobacteria: A new problem in the developing world. *J. Assoc. Phys. India* **2015**, *63*, 18–21.
14. Wu, X.; Yin, T.; Tian, J.; Tang, C.; Huang, J.; Zhao, Y.; Zhang, X.; Deng, X.; Fan, Y.; Yu, D.; et al. Distinctive effects of CD34- and CD133-specific antibody-coated stents on re-endothelialization and in-stent restenosis at the early phase of vascular injury. *Regen. Biomater.* **2015**, *2*, 87–96. [[CrossRef](#)]
15. DeCunha, J.; Janicki, C.; Enger, S.A. A retrospective analysis of catheter-based sources in intravascular brachytherapy. *Brachytherapy* **2017**, *16*, 586–596. [[CrossRef](#)]
16. Abhyankar, A.D.; Thakkar, A.S. In vivo assessment of stent recoil of biodegradable polymer-coated cobalt–chromium sirolimus-eluting coronary stent system. *Indian Heart J.* **2012**, *64*, 541–546. [[CrossRef](#)]
17. Buccheri, D.; Orrego, P.S.; Cortese, B. Drug-eluting stent treatment of left main coronary artery disease: The case for a sirolimus-eluting, autoexpandable alternative. An optical coherence tomography analysis. *Int. J. Cardiol.* **2015**, *199*, 119–120. [[CrossRef](#)]

18. Ito, S.; Saeki, T. Coronary angioscopic imaging of in-stent restenosis after biolimus-eluting coronary stent implantation. *J. Cardiol. Cases* **2015**, *12*, 145–149. [[CrossRef](#)]
19. Li, C.H.; Gao, B.L.; Wang, J.W.; Liu, J.F.; Li, H.; Yang, S.T.; Ren, C.F. Endovascular stent deployment in the management of lesions related to internal carotid artery redundancy. *World Neurosurg.* **2018**, *116*, e903–e912. [[CrossRef](#)]
20. Omar, A.; Pendyala, L.K.; Ormiston, J.A.; Waksman, R. Review: Stent fracture in the drug-eluting stent era. *Cardiovasc. Revasc. Med.* **2016**, *17*, 404–411. [[CrossRef](#)]
21. Zumstein, V.; Betschart, P.; Albrich, W.C.; Buhmann, M.T.; Ren, Q.; Schmid, H.P.; Abt, D. Biofilm formation on ureteral stents—Incidence, clinical impact and prevention. *Swiss Med. Wkly.* **2017**, *147*. [[CrossRef](#)]
22. Garrett, T.R.; Bhakoo, M.; Zhang, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Prog. Nat. Sci.* **2008**, *18*, 1049–1056. [[CrossRef](#)]
23. Elbadawi, A.; Saad, M.; Elgendy, I.Y.; Zafar, A.; Chow, M.-Y. Multiple myocardial abscesses secondary to late stent infection. *Cardiovasc. Pathol.* **2017**, *28*, 1–2. [[CrossRef](#)]
24. Babapour, E.; Haddadi, A.; Mirnejad, R.; Angaji, S.-A.; Amirmozafari, N. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial *Acinetobacter baumannii* and its relationship with multidrug resistance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2016**, *6*, 528–533. [[CrossRef](#)]
25. Longo, F.; Vuotto, C.; Donelli, G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.* **2014**, *37*, 119–127.
26. Liu, C.P.; Shih, S.C.; Wang, N.Y.; Wu, A.Y.; Sun, F.J.; Chow, S.F.; Chen, T.L.; Yan, T.R. Risk factors of mortality in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **2016**, *49*, 934–940. [[CrossRef](#)]
27. Almasaudi, S.B. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J. Biol. Sci.* **2018**, *25*, 586–596. [[CrossRef](#)]
28. Deiham, B.; Douraghi, M.; Adibhesami, H.; Yaseri, M.; Rahbar, M. Screening of mutator phenotype in clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *Microb. Pathog.* **2017**, *104*, 175–179. [[CrossRef](#)]
29. Djeribi, R.; Bouchloukh, W.; Jouenne, T.; Mena, B. Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. *Am. J. Infect. Control* **2012**, *40*, 854–859. [[CrossRef](#)]
30. Cobrado, L.; Silva-Dias, A.; Azevedo, M.M.; Pina-Vaz, C.; Rodrigues, A.G. In vivo antibiofilm effect of cerium, chitosan and hamamelitannin against usual agents of catheter-related bloodstream infections. *J. Antimicrob. Chemother.* **2013**, *68*, 126–130. [[CrossRef](#)]
31. Silva, J.C.; Neto, L.M.; Neves, R.C.; Gonçalves, J.C.; Trentini, M.M.; Mucury-Filho, R.; Smidt, K.S.; Fensterseifer, I.C.; Silva, O.N.; Lima, L.D.; et al. Evaluation of the antimicrobial activity of the mastoparan Polybia-MPII isolated from venom of the social wasp *Pseudopolybia vespiceps testacea* (Vespidae, Hymenoptera). *Int. J. Antimicrob. Agents* **2017**, *49*, 167–175. [[CrossRef](#)]
32. Pluzhnikov, K.A.; Kozlov, S.A.; Vassilevski, A.A.; Vorontsova, O.V.; Feofanov, A.V.; Grishin, E.V. Linear antimicrobial peptides from *Ectatomma quadridens* ant venom. *Biochimie* **2014**, *107*, 211–215. [[CrossRef](#)]
33. Perumal Samy, R.; Stiles, B.G.; Franco, O.L.; Sethi, G.; Lim, L.H.K. Animal venoms as antimicrobial agents. *Biochem. Pharmacol.* **2017**, *134*, 127–138. [[CrossRef](#)]
34. Garcia, F.; Villegas, E.; Espino-Solis, G.P.; Rodriguez, A.; Paniagua-Solis, J.F.; Sandoval-Lopez, G.; Possani, L.D.; Corzo, G. Antimicrobial peptides from arachnid venoms and their microbicidal activity in the presence of commercial antibiotics. *J. Antibiot.* **2013**, *66*, 3–10. [[CrossRef](#)]
35. Harrison, P.L.; Abdel-Rahman, M.A.; Miller, K.; Strong, P.N. Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon* **2014**, *88*, 115–137. [[CrossRef](#)]
36. Souza, B.M.D.; Cabrera, M.P.D.S.; Gomes, P.C.; Dias, N.B.; Stabeli, R.G.; Leite, N.B.; Neto, J.R.; Palma, M.S. Structure-activity relationship of mastoparan analogs: Effects of the number and positioning of Lys residues on secondary structure, interaction with membrane-mimetic systems and biological activity. *Peptides* **2015**, *72*, 164–174. [[CrossRef](#)]
37. Wang, K.; Yan, J.; Dang, W.; Xie, J.; Yan, B.; Yan, W.; Sun, M.; Zhang, B.; Ma, M.; Zhao, Y.; et al. Dual antifungal properties of cationic antimicrobial peptides polybia-MPI: Membrane integrity disruption and inhibition of biofilm formation. *Peptides* **2014**, *56*, 22–29. [[CrossRef](#)]
38. Das Neves, R.C.; Trentini, M.M.; de Castro e Silva, J.; Simon, K.S.; Bocca, A.L.; Silva, L.P.; Mortari, M.R.; Kipnis, A.; Junqueira-Kipnis, A.P. Antimycobacterial activity of a new peptide polydim-I isolated from neotropical social Wasp *Polybia dimorpha*. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0149729. [[CrossRef](#)]

39. Moerman, L.; Bosteels, S.; Noppe, W.; Willems, J.; Clynen, E.; Schoofs, L.; Thevissen, K.; Tytgat, J.; Van Eldere, J.; Van Der Walt, J.; et al. Antibacterial and antifungal properties of ??-helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 4799–4810. [[CrossRef](#)]
40. O'Brien-Simpson, N.M.; Hoffmann, R.; Chia, C.S.B.S.B.; Wade, J.D.D.; Brien-Simpson, N.M.O.; Hoffmann, R.; Chia, C.S.B.S.B.; Wade, J.D.D. (Eds.) *Antimicrobial and Anticancer Peptides*; Frontiers Research Topics; Frontiers Media: Lausanne, Switzerland, 2018; Volume 6, ISBN 9782889454709.
41. Brogden, K.A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3*, 238–250. [[CrossRef](#)]
42. Batoni, G.; Maisetta, G.; Esin, S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2016**, *1858*, 1044–1060. [[CrossRef](#)]
43. Castilho, S.R.A.; Godoy, C.S.D.M.; Guilarde, A.O.; Cardoso, J.L.; André, M.C.P.; Junqueira-Kipnis, A.P.; Kipnis, A. Acinetobacter baumannii strains isolated from patients in intensive care units in Goiânia, Brazil: Molecular and drug susceptibility profiles. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0176790. [[CrossRef](#)]
44. Mendes, M.A.; De Souza, B.M.; Marques, M.R.; Palma, M.S. Structural and biological characterization of two novel peptides from the venom of the neotropical social wasp *Agelaia pallipes pallipes*. *Toxicon* **2004**, *44*, 67–74. [[CrossRef](#)]
45. De Souza, B.M.; Marques, M.R.; Tomazela, D.M.; Eberlin, M.N.; Mendes, M.A.; Palma, M.S. Mass spectrometric characterization of two novel inflammatory peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2004**, *18*, 1095–1102. [[CrossRef](#)]
46. Silva, É.C.N.; Camargos, T.S.; Maranhão, A.Q.; Silva-Pereira, I.; Silva, L.P.; Possani, L.D.; Schwartz, E.F. Cloning and characterization of cDNA sequences encoding for new venom peptides of the Brazilian scorpion *Opisthacanthus cayaporum*. *Toxicon* **2009**. [[CrossRef](#)]
47. Kaufmann, B.A.; Kaiser, C.; Pfisterer, M.E.; Bonetti, P.O. Coronary stent infection: A rare but severe complication of percutaneous coronary intervention. *Swiss Med. Wkly.* **2005**, *135*, 483–487.
48. Sanchez, C.J.; Mende, K.; Beckius, M.L.; Akers, K.S.; Romano, D.R.; Wenke, J.C.; Murray, C.K. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 1. [[CrossRef](#)]
49. Espinal, P.; Martí, S.; Vila, J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J. Hosp. Infect.* **2012**, *80*, 56–60. [[CrossRef](#)]
50. Bravo, Z.; Chapartegui-González, I.; Lázaro-Díez, M.; Ramos-Vivas, J. *Acinetobacter pittii* biofilm formation on inanimate surfaces after long-term desiccation. *J. Hosp. Infect.* **2018**, *98*, 74–82. [[CrossRef](#)]
51. Munier, A.-L.; Biard, L.; Rousseau, C.; Legrand, M.; Lafaurie, M.; Lomont, A.; Donay, J.-L.; de Beaugrenier, E.; Flicoteaux, R.; Mebazaa, A.; et al. Incidence, risk factors, and outcome of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* acquisition during an outbreak in a burns unit. *J. Hosp. Infect.* **2017**, *97*, 226–233. [[CrossRef](#)]
52. Furtado, A.D.; Bhat, S.P.S.; Peer, S.M.; Chikkatur, R. Infected pseudoaneurysm involving a drug-eluting stent. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* **2011**. [[CrossRef](#)]
53. Venkatesan, A.M.; Kundu, S.; Sacks, D.; Wallace, M.J.; Wojak, J.C.; Rose, S.C.; Clark, T.W.I.; D'Othee, B.J.; Itkin, M.; Jones, R.S.; et al. Practice guideline for adult antibiotic prophylaxis during vascular and interventional radiology procedures. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2010**, *21*, 1611–1630. [[CrossRef](#)]
54. Schoenkerman, A.B.; Lundstrom, R.J. Coronary stent infections: A case series. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* **2009**, *73*, 74–76. [[CrossRef](#)]
55. Vila-Farrés, X.; López-Rojas, R.; Pachón-Ibáñez, M.E.; Teixidó, M.; Pachón, J.; Vila, J.; Giralt, E. Sequence-activity relationship, and mechanism of action of mastoparan analogues against extended-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 34–40. [[CrossRef](#)]
56. Huang, Y.; Wiradharma, N.; Xu, K.; Ji, Z.; Bi, S.; Li, L.; Yang, Y.Y.; Fan, W. Cationic amphiphilic alpha-helical peptides for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Biomaterials* **2012**, *33*, 8841–8847. [[CrossRef](#)]
57. Lin, C.H.; Lee, M.C.; Tzen, J.T.C.; Lee, H.M.; Chang, S.M.; Tu, W.C.; Lin, C.F. Efficacy of mastoparan-AF alone and in combination with clinically used antibiotics on nosocomial multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, *24*, 1023–1029. [[CrossRef](#)]
58. Lin, M.-F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World J. Clin. Cases* **2014**, *2*, 787. [[CrossRef](#)]

59. Wang, Y.C.; Kuo, S.C.; Yang, Y.S.; Lee, Y.T.; Chiu, C.H.; Chuang, M.F.; Lin, J.C.; Chang, F.Y.; Chen, T.L. Individual or combined effects of meropenem, imipenem, sulbactam, colistin, and tigecycline on biofilm-embedded *Acinetobacter baumannii* and biofilm architecture. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 4670–4676. [[CrossRef](#)]
60. Andreassen, S.; Zalounina, A.; Paul, M.; Sanden, L.; Leibovici, L. Interpretative reading of the antibiogram—Semi-naïve Bayesian approach. *Artif. Intell. Med.* **2015**, *65*, 209–217. [[CrossRef](#)]
61. Ammann, C.G.; Neuhauser, D.; Eberl, C.; Nogler, M.; Coraça-Huber, D. Tolerance towards gentamicin is a function of nutrient concentration in biofilms of patient-isolated *Staphylococcus epidermidis*. *Folia Microbiol.* **2018**, *63*, 299–305. [[CrossRef](#)]
62. Saint Jean, K.D.; Henderson, K.D.; Chrom, C.L.; Abiuso, L.E.; Renn, L.M.; Caputo, G.A. Effects of hydrophobic amino acid substitutions on antimicrobial peptide behavior. *Probiotics Antimicrob. Proteins* **2018**, *10*, 408–419. [[CrossRef](#)]
63. Andreev, K.; Martynowycz, M.W.; Huang, M.L.; Kuzmenko, I.; Bu, W.; Kirshenbaum, K.; Gidalevitz, D. Hydrophobic interactions modulate antimicrobial peptoid selectivity towards anionic lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2018**, *1860*, 1414–1423. [[CrossRef](#)]
64. Mishra, B.; Lushnikova, T.; Golla, R.M.; Wang, X.; Wang, G. Design and surface immobilization of short anti-biofilm peptides. *Acta Biomater.* **2017**, *49*, 316–328. [[CrossRef](#)]
65. Gabriel, M.; Nazmi, K.; Veerman, E.C.; Amerongen, A.V.N.; Zentner, A. Preparation of LL-37-grafted titanium surfaces with bactericidal activity. *Bioconjug. Chem.* **2006**. [[CrossRef](#)]
66. Mishra, B.; Basu, A.; Chua, R.R.Y.; Saravanan, R.; Tambyah, P.A.; Ho, B.; Chang, M.W.; Leong, S.S.J. Site specific immobilization of a potent antimicrobial peptide onto silicone catheters: Evaluation against urinary tract infection pathogens. *J. Mater. Chem. B* **2014**. [[CrossRef](#)]
67. Bagheri, M.; Beyermann, M.; Dathe, M. Immobilization reduces the activity of surface-bound cationic antimicrobial peptides with no influence upon the activity spectrum. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 1132–1141. [[CrossRef](#)]
68. Costa, F.; Carvalho, I.F.; Montelaro, R.C.; Gomes, P.; Martins, M.C.L. Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 1431–1440. [[CrossRef](#)]
69. Singha, P.; Locklin, J.; Handa, H. A review of the recent advances in antimicrobial coatings for urinary catheters. *Acta Biomater.* **2017**, *50*, 20–40. [[CrossRef](#)]
70. Wiegand, I.; Hilpert, K.; Hancock, R.E.W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 163–175. [[CrossRef](#)]
71. Feng, X.; Sambanthamoorthy, K.; Palys, T.; Parnavitana, C. The human antimicrobial peptide LL-37 and its fragments possess both antimicrobial and antibiofilm activities against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Peptides* **2013**, *49*, 131–137. [[CrossRef](#)]
72. Kwasny, S.M.; Opperman, T.J. Static biofilm cultures of gram positive pathogens grown in a microtiter format used for anti-biofilm drug discovery. *Curr. Protoc. Pharmacol.* **2010**, *50*, 13A.8.1–13A.8.23. [[CrossRef](#)]



## V – CONCLUSÃO GERAL

As infecções associadas ao uso de biomateriais continuam sendo uma das principais barreiras ao uso de dispositivos médicos em longo prazo em pacientes. O estabelecimento de um biofilme bacteriano resulta em maior resistência aos antibióticos, existe, portanto, uma necessidade de um antimicrobiano de amplo espectro que impeça a colonização de biomateriais que subjuguem a resistência clássica aos antibióticos convencionais, logo os AMPs seriam uma boa alternativa.

Utilizamos três isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* descritos anteriormente que apresentam formação de biofilme e são multidroga resistência a diferentes antibióticos, principalmente ao carbapenêmicos. Com a confirmação da formação do biofilme em placa de polietileno, avaliamos a constituição do biofilme em um importante aparato médico a endoprotese vascular de cobalto-cromo, que apresentou colonização pela bactéria e início da estruturação do arcabouço característico do biofilme, com uma carga bacilar alta de  $10^6$  UFC por fragmento.

A fim de propor uma alternativa para o tratamento dessas cepas *A. baumannii* MDR testamos diferentes peptídeos isolados do veneno de vespas e escorpião, os peptídeos antimicrobianos Agelaia-MPI e Polybia-MPII tiveram melhor MIC e MBEC, inibindo as diferentes etapas do biofilme, sua aderência, maturação e dispersão. Os peptídeos testados também conseguiram inibir o biofilme de duas cepas diferentes de *Staphylococcus* inclusive uma resistente a meticilina.

Os AMP Agelaia-MPI e Polybia-MPII demonstraram potente ação antimicrobiana contra cepas MDR de *Acinetobacter baumannii* isoladas de infecções hospitalares. Os AMPs também conseguem inibir o biofilme formado na endoprotese vascular reduzindo também sua aderência ao material hospitalar. O Agelaia-MPI e o Polybia-MPII possuem potencial uso na medicina como uma alternativa para combater o biofilme bacteriano de cepas MDR prevalente em diferentes biomateriais de grande importância médica.

## VI – REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, L. et al. Long-term prognosis of left-sided native-valve *Staphylococcus aureus* endocarditis. **Archives of Cardiovascular Diseases**, v. 109, n. 4, p. 260–267, 2016.
- ABHYANKAR, A. D.; THAKKAR, A. S. In vivo assessment of stent recoil of biodegradable polymer-coated cobalt–chromium sirolimus-eluting coronary stent system. **Indian Heart Journal**, v. 64, n. 6, p. 541–546, 2012.
- ABRAHAM, J. et al. *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis: the Grady Memorial Hospital experience with methicillin-sensitive *S aureus* and methicillin-resistant *S aureus* bacteremia. **American Heart Journal**, v. 147, n. 3, p. 536–539, mar. 2004.
- AGGARWAL, P.; SAXENA, P.; BHAN, A. Successful management of a giant unruptured mycotic coronary artery aneurysm after coronary angioplasty. **Indian Heart Journal**, v. 68, p. S44–S46, set. 2016.
- ALIRAMEZANI, A. et al. Clonal relatedness and biofilm formation of OXA-23-producing carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environment. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 204–208, 2016.
- ALMAAYTAH, A. et al. Antimicrobial/cytolytic peptides from the venom of the North African scorpion, *Androctonus amoreuxi*: Biochemical and functional characterization of natural peptides and a single site-substituted analog. **Peptides**, v. 35, n. 2, p. 291–299, jun. 2012.
- ALMASAUDI, S. B. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 3, p. 586–596, mar. 2018.
- ANVISA. Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 14 : Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde ( IRAS ) e Resistência microbiana do ano de 2015 . p. 1–83, 2016.
- AOKI, J. et al. Coronary Artery Aneurysms After Drug-Eluting Stent Implantation. **JACC: Cardiovascular Interventions**, v. 1, n. 1, p. 14–21, fev. 2008.
- ARCIOLA, C. R. et al. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. **Biomaterials**, v. 33, n. 26, p. 5967–5982, 2012.
- ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L. Implant infections: adhesion,

biofilm formation and immune evasion. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 7, p. 397–409, 2 jul. 2018.

BADIMÓN, L.; VILAHUR, G.; PADRÓ, T. Lipoproteins, Platelets, and Atherothrombosis. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 62, n. 10, p. 1161–1178, 2009.

BATONI, G. et al. Use of Antimicrobial Peptides Against Microbial Biofilms: Advantages and Limits. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 256–279, 1 jan. 2011.

BATONI, G.; MAISETTA, G.; ESIN, S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1858, n. 5, p. 1044–1060, maio 2016.

BERARD, X. et al. Use of 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography–Computed Tomography and Sonication for Detection of Infection After Peripheral Stent Fracture. **Circulation**, v. 129, n. 23, p. 2437–2439, 10 jun. 2014.

BILLÈ, A. et al. Tailored stent for bronchial stump fistula closure and omentoplasty for infection control: A combined approach with low morbidity. **Tumori**, v. 100, n. 4, p. e157–e159, 2014.

BILLINGS, N. et al. Material properties of biofilms—a review of methods for understanding permeability and mechanics. **Reports on Progress in Physics**, v. 78, n. 3, p. 036601, 2015.

BIONDI-ZOCCAI, G. et al. Percutaneous coronary intervention for small vessel coronary artery disease. **Cardiovascular Revascularization Medicine**, v. 11, n. 3, p. 189–198, 2010.

BISHARA, J. et al. Healthcare-associated vs. hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 6, p. e457–e463, 2012.

BJARNSHOLT, T. et al. The in vivo biofilm. **Trends in Microbiology**, v. 21, n. 9, p. 466–474, 2013.

BOLES, B. R.; HORSWILL, A. R. Staphylococcal biofilm disassembly. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 9, p. 449–455, 2011.

BORRIELLO, G. et al. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 48, n. 7, p. 2659–64, jul. 2004.

BOSMAN, W. M. P. F. M. P. F. et al. Infections of Intravascular Bare Metal Stents: A

Case Report and Review of Literature. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 47, n. 1, p. 87–99, jan. 2014.

BOUCHIAT, C. et al. Staphylococcus aureus infective endocarditis versus bacteremia strains: Subtle genetic differences at stake. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 36, n. August, p. 524–530, 2015.

BRANQUINHO, D. F. et al. Mediastinitis by Actinomyces meyeri after oesophageal stent placement. **Case Reports**, v. 2014, n. jun05 1, p. bcr2014204499–bcr2014204499, 5 jun. 2014.

BRYERS, J. D. Medical biofilms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, n. 1, p. 1–18, maio 2008.

BUCCHERI, D.; ORREGO, P. S.; CORTESE, B. Drug-eluting stent treatment of left main coronary artery disease: The case for a sirolimus-eluting, autoexpandable alternative. An optical coherence tomography analysis. **International Journal of Cardiology**, v. 199, p. 119–120, 2015.

BUENO, J. Anti-Biofilm Drug Susceptibility Testing Methods: Looking for New Strategies against Resistance Mechanism. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. s3, 2011.

CANTADOR, A. A. et al. Duplex ultrasound and computed tomography angiography in the follow-up of endovascular abdominal aortic aneurysm repair: A comparative study. **Radiologia Brasileira**, v. 49, n. 4, p. 229–233, 2016.

CARNIELLO, V. et al. Physico-chemistry from initial bacterial adhesion to surface-programmed biofilm growth. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 261, p. 1–14, 2018.

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**, v. 12, n. 5, p. e0176790, 5 maio 2017.

CHATTERJEE, A. et al. Salmonella enteritidis Mycotic Aneurysm of Stented Saphenous Vein Graft to Coronary Artery. **JACC: Cardiovascular Interventions**, v. 9, n. 22, p. e219–e220, nov. 2016.

CHEN, C.-M. et al. The comparison of genotyping, antibiogram, and antimicrobial resistance genes between carbapenem-susceptible and -resistant Acinetobacter baumannii. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 37, n. 5–6, p. 339–346, 2014.

CHOO, E. J.; CHAMBERS, H. F. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus

aureus bacteremia. **Infection and Chemotherapy**, v. 48, n. 4, p. 267–273, 2016.

CHOUIRFA, H. et al. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. **Acta Biomaterialia**, v. 83, p. 37–54, 2019.

CHUN, H. J.; KIM, H. W.; JO, K. H. Thoracic endovascular stent graft infection. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, v. 47, n. 3, p. 579–580, mar. 2015.

CIUMAC, D. et al. Membrane targeting cationic antimicrobial peptides. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 537, p. 163–185, 2019.

CORMIO, L. et al. Bacterial adhesion and biofilm formation on various double-J stents in vivo and in vitro. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v. 30, n. 1, p. 19–24, 1996.

COSTA, F. et al. Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 4, p. 1431–1440, abr. 2011.

COZENS, D.; READ, R. C. C. Anti-adhesion methods as novel therapeutics for bacterial infections. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 10, n. 12, p. 1457–1468, dez. 2012.

CREDITO, K.; LIN, G.; APPELBAUM, P. C. Activity of Daptomycin Alone and in Combination with Rifampin and Gentamicin against Staphylococcus aureus Assessed by Time-Kill Methodology. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 4, p. 1504–1507, 1 abr. 2007.

CREMER, S.; ARMITAGE, S. A. O.; SCHMID-HEMPEL, P. Social Immunity. **Current Biology**, v. 17, n. 16, p. 693–702, 2007.

D'ORCIA, M. et al. Endovascular Management of Infected Femoral Artery Pseudoaneurysms in High-Risk Patients: A Case Series. **CardioVascular and Interventional Radiology**, v. 40, n. 4, p. 616–620, 7 abr. 2017.

DA MATA, É. C. G. et al. Antiviral activity of animal venom peptides and related compounds. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 23, n. 1, p. 3, 6 dez. 2017.

DANGAS, G. D. et al. In-Stent Restenosis in the Drug-Eluting Stent Era. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 56, n. 23, p. 1897–1907, nov. 2010.

DAS NEVES, R. C. et al. Antimycobacterial Activity of a New Peptide Polydim-I Isolated from Neotropical Social Wasp *Polybia dimorpha*. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0149729, 1 mar. 2016.

DAS, S. **The Stent Saga - Express Healthcare**. Disponível em:  
<<https://www.expresshealthcare.in/cardiac-care/the-stent-saga/133121/>>. Acesso em: 25

set. 2019.

DECUNHA, J.; JANICKI, C.; ENGER, S. A. A retrospective analysis of catheter-based sources in intravascular brachytherapy. **Brachytherapy**, v. 16, n. 3, p. 586–596, maio 2017.

DEL TRIGO, M. et al. Very Late Mycotic Pseudoaneurysm Associated With Drug-Eluting Stent Fracture. **Circulation**, 2012.

DEXTER, C. et al. Community-acquired *Acinetobacter baumannii* : clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 13, n. 5, p. 567–573, 2015.

DING, J. et al. Scorpion venoms as a potential source of novel cancer therapeutic compounds. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 4, p. 387–393, 2014.

DU, Q. et al. AaeAP1 and AaeAP2: Novel Antimicrobial Peptides from the Venom of the Scorpion, *Androctonus aeneas*: Structural Characterisation, Molecular Cloning of Biosynthetic Precursor-Encoding cDNAs and Engineering of Analogues with Enhanced Antimicrobial and Anticancer Activity. **Toxins**, v. 7, n. 2, p. 219–237, 23 jan. 2015.

EL-SHAZLY, S. et al. Molecular Epidemiology and Characterization of Multiple-Drug Resistant (MDR) Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 41, p. 1–8, 2015.

ETIENNE, H.; TOUMA, J.; BECQUEMIN, J. Unusual Acute Onset of Abdominal Aortic Endograft Infection by *Propionibacterium acnes* after Coil Embolization for Type II Endoleak. **Annals of Vascular Surgery**, v. 35, p. 204.e9-204.e11, ago. 2016.

FERNÁNDEZ GUERRERO, M. L. et al. Endocarditis Caused by *Staphylococcus aureus*. **Medicine**, v. 88, n. 1, p. 1–22, jan. 2009.

FOLSOM, J. P. et al. Physiology of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms as revealed by transcriptome analysis. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 294, 2010.

FRANCO, J. J. et al. Infectious complications of percutaneous cardiac procedures. **Interventional Cardiology**, v. 6, n. 5, p. 445–452, 2014.

GAGNÉ-LORANGER, M. et al. Arch to Descending Aorta Extra-anatomic Aortic Repair for Thoracic Stent Graft Infection. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32, n. 1, p. 135.e13-135.e15, jan. 2016.

GARRETT, T. R.; BHAKOO, M.; ZHANG, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. **Progress in Natural Science**, v. 18, n. 9, p. 1049–1056, set. 2008.

GHARACHOLOUR, S. M. et al. Acute infection of Viabahn stent graft in the popliteal artery. **Journal of Vascular Surgery Cases and Innovative Techniques**, v. 3, n. 2, p.

69–73, jun. 2017.

GIRARDELLO, R. et al. Diversity of Polymyxin Resistance Mechanisms among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 87, n. 1, p. 37–44, 2016.

GIULIANI, A.; PIRRI, G.; NICOLETTO, S. F. **Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics**. [s.l.: s.n.]. v. 2

GRISTINA, A. G.; NAYLOR, P.; MYRVIK, Q. **Infections from biomaterials and implants: A race for the surface** **Medical Progress through Technology**, 1988.

GUILHELMELLI, F. et al. Activity of Scorpion Venom-Derived Antifungal Peptides against Planktonic Cells of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* Biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. November, p. 1–14, 18 nov. 2016.

GULEN, T. A. et al. Clinical importance and cost of bacteremia caused by nosocomial multi drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 38, p. 32–35, 2015.

HADI, H. A. R.; CARR, C. S.; AL SUWAIDI, J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. **Vascular health and risk management**, v. 1, n. 3, p. 183–98, 2005.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews ...**, v. 2, n. 2, p. 95–108, 2004.

HAMMAMI, R. et al. Péricardite aiguë et infection de stent. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 46, n. 7, p. 398–399, out. 2016.

HARRISON, P. L. et al. Antimicrobial peptides from scorpion venoms. **Toxicon**, v. 88, p. 115–137, set. 2014.

HASHIMOTO, K.; ISAKA, F.; YAMASHITA, K. An Infected Aneurysm of the Vertebral Artery Treated with a Stent-graft: A Case Report. **Neurologia medico-chirurgica**, v. 55, n. 11, p. 852–855, 2015.

HERNIGOU, J. et al. Infection de stent artériel périphérique à *Propionibacterium granulosum* après angioplastie au ballon actif. **Journal des Maladies Vasculaires**, v. 40, n. 4, p. 259–264, jul. 2015.

HOIBY, N. et al. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. Diagnostic and prognostic significance of *Pseudomonas aeruginosa* precipitins determined by means of crossed immunoelectrophoresis. **Scandinavian journal of respiratory diseases**, v. 58,

n. 2, p. 65–79, 1977.

HOIBY, N. et al. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **International journal of antimicrobial agents**, v. 35, n. 4, p. 322–332, 2010.

HØIBY, N. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. **Pathogens and Disease**, v. 70, n. 3, p. 205–211, 2014.

HUANG, Y. et al. Cationic amphiphilic alpha-helical peptides for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. **Biomaterials**, v. 33, n. 34, p. 8841–8847, 2012.

INCHINGOLO, M. et al. Use of Self-Expanding Covered Stents as Bailout Treatment of Spontaneous Rupture of the Femoral Artery Caused by *Staphylococcus aureus* Infection. **Annals of Vascular Surgery**, v. 38, n. August 2016, p. 320.e1-320.e4, jan. 2017.

IQBAL, J.; GUNN, J.; SERRUYS, P. W. Coronary stents: Historical development, current status and future directions. **British Medical Bulletin**, v. 106, n. 1, p. 193–211, 1 jun. 2013.

IRIE, Y. et al. Obturator foramen bypass for infective groin caused by closure device. **Asian Cardiovascular and Thoracic Annals**, v. 25, n. 2, p. 131–133, 11 fev. 2017.

ITO, S.; SAEKI, T. Coronary angioscopic imaging of in-stent restenosis after biolimus-eluting coronary stent implantation. **Journal of Cardiology Cases**, v. 12, n. 5, p. 145–149, 2015.

JAMES, G. A. et al. Biofilms in chronic wounds. p. 37–44, 2007.

JENG, E. I. et al. Inferior Vena Cava Stent-Graft Sepsis. **Annals of Vascular Surgery**, v. 29, n. 7, p. 1451.e17-1451.e20, out. 2015.

JONES, D. W.; MELTZER, A. J.; SCHNEIDER, D. B. Hybrid Approach to Limb Salvage in the Setting of an Infected Femoral–Femoral Bypass Graft. **Annals of Vascular Surgery**, v. 28, n. 6, p. 1565.e9-1565.e13, ago. 2014.

JUNTERMANN, B. et al. Successful Management of an Infected Aortic Stent Graft in a Liver Transplanted Patient. **Annals of Vascular Surgery**, v. 29, n. 7, p. 1449.e1-1449.e4, out. 2015.

KAHN, S. L. et al. In vivo construction of a multilayer bare-metal stent for the treatment of an aortic mycotic pseudoaneurysm. **Journal of Vascular Surgery**, v. 62, n. 3, p. 744–746, set. 2015.

KAPLAN, J. B. et al. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Biofilm Cells by an Endogenous B-Hexosaminidase Activity. **Society**, v. 185, n. 16, p. 4693–

4698, 2003.

KARKOS, C. D. et al. Combined antegrade-retrograde approach to facilitate the endovascular stent-graft repair of a ruptured superficial femoral artery pseudoaneurysm.

**The Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 59, n. 5, p. 753–754, ago. 2018.

KATAOKA, G. et al. Purulent Pericardial Effusion and Mycotic Pseudoaneurysm

Following Insertion of a Bare Metal Stent. **Journal of Cardiac Surgery**, v. 30, n. 5, p. 433–435, maio 2015.

KAUFMANN, B. A. et al. **Coronary stent infection: A rare but severe complication of percutaneous coronary intervention** **Swiss Medical Weekly**, 2005.

KENAN, D. J. et al. Peptide-PEG Amphiphiles as Cytophobic Coatings for Mammalian and Bacterial Cells. **Chemistry and Biology**, v. 13, n. 7, p. 695–700, 2006.

KEYNAN, Y.; RUBINSTEIN, E. Staphylococcus aureus Bacteremia, Risk Factors, Complications, and Management. **Critical Care Clinics**, v. 29, n. 3, p. 547–562, 2013.

KHAN, H. A.; AHMAD, A.; MEHBOOB, R. Nosocomial infections and their control strategies. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 7, p. 509–514, 2015.

KHOSRAVI, A. D.; JENABI, A.; MONTAZERI, E. A. Distribution of genes encoding resistance to aminoglycoside modifying enzymes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains. **The Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, v. 33, n. 12, p. 587–593, dez. 2017.

KIM, J. et al. Human  $\beta$ -defensin 2 plays a regulatory role in innate antiviral immunity and is capable of potentiating the induction of antigen-specific immunity. **Virology Journal**, 2018a.

KIM, S. J. et al. Surface proteins and the formation of biofilms by Staphylococcus aureus. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1860, n. 3, p. 749–756, 2018b.

KLAUSEN, M. et al. Biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa wild type, flagella and type IV pili mutants. **Molecular Microbiology**, v. 48, p. 1511–1524, 2003.

KO, J. H.; KIM, Y.-J.; JUNG, H. H. Brain abscess after stent-assisted coiling for ruptured middle cerebral artery aneurysm. **Interventional Neuroradiology**, v. 24, n. 4, p. 387–391, 21 ago. 2018.

KROL, E. et al. Delayed Superficial Femoral Artery Covered Stent Infection: Report of Two Cases and Review of Literature. **Annals of Vascular Surgery**, v. 52, n. August, p. 312.e1-312.e5, out. 2018.

- LAI, C.-H. et al. Coronary Stent Infection Presented as Recurrent Stent Thrombosis. **Yonsei Medical Journal**, v. 58, n. 2, p. 458, 2017.
- LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. May, p. 18033, 31 maio 2018.
- LEE, S. F.; LI, Y. H.; BOWDEN, G. H. Detachment of *Streptococcus mutans* Biofilm Cells by an Endogenous Enzymatic Activity. **Infection and immunity**, v. 64, n. 3, p. 1035–1038, 1996.
- LEGOUT, L. et al. Diagnosis and management of prosthetic vascular graft infections. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 42, n. 3, p. 102–109, mar. 2012.
- LEROY, S.; VERMASSEN, A.; TALON, R. *Staphylococcus*: Occurrence and Properties. In: **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 140–145.
- LI, J. et al. Anti-CD133 Antibody Immobilized on the Surface of Stents Enhances Endothelialization. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- LI, Y. et al. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. **Peptides**, v. 37, n. 2, p. 207–215, 2012.
- LIN, C. H. et al. Efficacy of Mastoparan-AF alone and in combination with clinically used antibiotics on nosocomial multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 5, p. 1023–1029, 2017.
- LIN, M.-F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* : From bench to bedside. **World Journal of Clinical Cases**, v. 2, n. 12, p. 787, 2014.
- LINDSAY, D.; VON HOLY, A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, n. 4, p. 313–325, dez. 2006.
- LIPATOV, Y. et al. Energy of adsorption interaction and surface coverage from polymer of various molecular structures. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 294, n. 2, p. 273–280, 2006.
- MACIA, M. D.; ROJO-MOLINERO, E.; OLIVER, A. Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. 981–990, 2014.
- MAHLKNECHT, A. et al. A rare complication of ureteral stenting: Case report of a uretero-arterial fistula and revision of the literature. **Archivio Italiano di Urologia e Andrologia**, v. 90, n. 3, p. 215, 30 set. 2018.
- MARQUES-NETO, L. M. et al. Antimicrobial and chemotactic activity of scorpion-

derived peptide, ToAP2, against *Mycobacterium massiliensis*. **Toxins**, v. 10, n. 6, p. 219, 30 maio 2018.

MARTINEZ DE TEJADA, G. et al. Bacterial Cell Wall Compounds as Promising Targets of Antimicrobial Agents I. Antimicrobial Peptides and Lipopolyamines. **Current Drug Targets**, v. 13, n. 9, p. 1121–1130, 1 jul. 2012.

MATOS, M. et al. Influence of tetracycline on the microbial community composition and activity of nitrifying biofilms. **Chemosphere**, v. 117, p. 295–302, dez. 2014.

MCCOY, W. F. et al. Observations of fouling biofilm formation. **Canadian journal of microbiology**, v. 27, n. 9, p. 910–917, 1981.

MEKI, A.-R. M. A.; OMAR, H. E.-D. M. A Bradykinin Potentiating Fraction Isolated from the Venom of Egyptian Scorpion *Buthus occitanus* Induced Prostaglandin Biosynthesis in Female Guinea Pigs. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 116, n. 3, p. 183–189, mar. 1997.

MISHRA, B. et al. Site specific immobilization of a potent antimicrobial peptide onto silicone catheters: Evaluation against urinary tract infection pathogens. **Journal of Materials Chemistry B**, 2014.

MISHRA, B. et al. Design and surface immobilization of short anti-biofilm peptides. **Acta Biomaterialia**, v. 49, p. 316–328, 2017.

MOHOR, G. S.; SCHULZ, D.; SOLOVAN, C. Unusual foreign body in the sigmoid colon, chronic alcohol abuse, and Fournier gangrene: a&nbsp;case report. **Clinical Interventions in Aging**, v. 10, p. 673, mar. 2015.

MOULAKAKIS, K. G. et al. Endograft Infection and Treatment with Preservation of the Endograft: Early Results in 3 Cases. **Annals of Vascular Surgery**, v. 28, n. 7, p. 1789.e1-1789.e7, out. 2014.

MUNOZ-PRICE, L. S.; WEINSTEIN, R. A. Acinetobacter Infection. **New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 12, p. 1271–1281, 2008.

NIYONSABA, F. et al. Multifunctional Antimicrobial Proteins and Peptides: Natural Activators of Immune Systems. **Current Pharmaceutical Design**, 2009.

NONIN, S. et al. Giant mycotic coronary aneurysm associated with late stent infection. **European Heart Journal - Cardiovascular Imaging**, v. 15, n. 6, p. 630–630, 1 jun. 2014.

NOWAK, J.; WATALA, C.; BONCLER, M. Antibody binding, platelet adhesion, and protein adsorption on various polymer surfaces. **Blood Coagulation and Fibrinolysis**,

v. 25, n. 1, p. 52–60, 2014.

O'BRIEN-SIMPSON, N. M. et al. **Antimicrobial and Anticancer Peptides**. [s.l.]

Frontiers Media SA, 2018. v. 6

OMAR, A. et al. Review: Stent fracture in the drug-eluting stent era. **Cardiovascular Revascularization Medicine**, v. 17, n. 6, p. 404–411, 2016.

ORTIZ, E. et al. Scorpion venom components as potential candidates for drug development. **Toxicon**, v. 93, p. 125–135, 2015.

OVERHAGE, J. et al. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 9, p. 4176–4182, 2008.

PANDYA, U.; DOSHI, A.; SAHAY, N. S. Development of herbal disinfectants formulation for mopping households and its antibacterial activity. **Natural Product Research**, v. 31, n. 22, p. 2665–2668, 2017.

PECORARO, F. et al. Late Complication after Superficial Femoral Artery (SFA) Aneurysm: Stent-graft Expulsion Outside the Skin. **CardioVascular and Interventional Radiology**, v. 38, n. 5, p. 1299–1302, 26 out. 2015.

PERERA, K. G.; WONG, E.; DEVINE, T. Stent graft infection secondary to appendicitis: an unusual complication of endovascular abdominal aortic aneurysm repair. **Journal of Surgical Case Reports**, v. 2014, n. 10, p. rju108–rju108, 18 out. 2014.

PEREZ, M. et al. Mycotic Pseudoaneurysm Complicating Stent Placement for Native Aortic Coarctation in a Child. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 101, n. 5, p. e151–e153, maio 2016.

PETRUNIĆ, M. et al. Cryopreserved Aortic Homograft for In Situ Replacement of Infected Thoracic Stent Graft Associated With Distal Aortic Arch Rupture and Hematemesis. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 98, n. 6, p. 2219–2221, dez. 2014.

PINHEIRO DA SILVA, F.; MACHADO, M. C. C. C. Antimicrobial peptides: Clinical relevance and therapeutic implications. **Peptides**, v. 36, n. 2, p. 308–314, 2012.

POPPELWELL, M. A.; GARNHAM, A. W.; HOBBS, S. D. A new technique to explant an infected aortic endograft. **Journal of Vascular Surgery**, v. 62, n. 2, p. 512–514, ago. 2015.

PRASHANTH, K. et al. Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Indian journal of medical microbiology**, v. 26, n. 4, p. 333–337, 2008.

PRIYADARSHI, V. et al. Development of VVF following double J stent placement.

**Case Reports**, v. 2014, n. may09 1, p. bcr2013203038–bcr2013203038, 9 maio 2014.

PUA, U.; QUEK, L. H. H.; TAN, G. W. L. Covered Endovascular Reconstruction of Aortic Bifurcation Technique in Infected Aortic Aneurysm. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 26, n. 7, p. 1079–1082, jul. 2015.

PUA, U.; QUEK, L. H. H.; TAN, G. W. L. Delayed Recurrence of Type 1A Endoleak with Aortic Rupture and Hemorrhage After Endovascular Aneurysm Sealing (EVAS). **CardioVascular and Interventional Radiology**, v. 39, n. 7, p. 1061–1065, 12 jul. 2016.

PULIMAMIDI, S. et al. Salmonella Aortitis Treated with Endovascular Aortic Repair. **Annals of Vascular Surgery**, v. 28, n. 5, p. 1314.e5-1314.e10, jul. 2014.

QUINTAS, A. et al. Iliac Artery Reconstruction with Femoral Vein After Bare Metal Stent Infection. **EJVES Short Reports**, v. 34, p. 28–31, 2017.

RAHIMI, M. et al. Successful Management of Arterial Pseudoaneurysm Caused by Stent Fracture. **Annals of Vascular Surgery**, v. 41, p. 281.e11-281.e14, maio 2017.

RAJENDRAN, P. et al. The vascular endothelium and human diseases. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 10, p. 1057–1069, 2013.

RAMADAN, R. A. et al. Carbapenem-resistant acinetobacter baumannii and pseudomonas aeruginosa: Characterization of carbapenemase genes and E-test evaluation of colistin-based combinations. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1261–1269, 2018.

RAMASUBBU, N. et al. Structural Analysis of Dispersin B, a Biofilm-releasing Glycoside Hydrolase from the Periodontopathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans. **Journal of Molecular Biology**, v. 349, n. 3, p. 475–486, jun. 2005.

RAMLAL, S. et al. Capture and detection of Staphylococcus aureus with dual labeled aptamers to cell surface components. **International Journal of Food Microbiology**, v. 265, n. July 2017, p. 74–83, jan. 2018.

RAO, P. Aspergillus infection in urinary tract post-ureteric stenting. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 33, n. 2, p. 316, 2015.

RAWALA, M. S. et al. Aorto-esophageal Fistula: A Fatal Complication of Thoracic Endovascular Aortic Stent-Graft Placement. **American Journal of Case Reports**, v. 19, p. 1258–1261, 23 out. 2018.

REDDY K.V., C. et al. Coronary stent infection: Interesting cases with varied presentation. **Journal of Cardiology Cases**, v. 19, n. 1, p. 5–8, jan. 2019.

REIJNEN, M. M. P. J.; VAN STERKENBURG, S. M. M. Treatment of a Salmonella-induced rapidly expanding aortic pseudoaneurysm involving the visceral arteries using the Cardiatis multilayer stent. **Journal of Vascular Surgery**, v. 60, n. 4, p. 1056–1058, out. 2014.

RENNER, L. D.; WEIBEL, D. B. Physicochemical regulation of biofilm formation. **MRS Bulletin**, v. 36, n. 5, p. 347–355, 2011.

RODRIGUES-PINTO, E.; BARON, T. H. Endoscopic Ultrasound-Guided Transesophageal Drainage of an Infected Aneurysm After Aortic Stent Graft Placement. **Gastroenterology**, v. 151, n. 1, p. 30–31, jul. 2016.

ROLFF, J.; SCHMID-HEMPEL, P. Perspectives on the evolutionary ecology of arthropod antimicrobial peptides. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 371, n. 1695, p. 20150297, 26 maio 2016.

ROUBELAKIS, A. et al. Coronary Artery Rupture Caused by Stent Infection. **Circulation**, v. 131, n. 14, p. 1302–1303, 7 abr. 2015.

RYU, S. W.; ALLMAN, K. C. Native Aortic and Prosthetic Vascular Stent Infection on 99mTc-Labeled White Blood Cell Scintigraphy. **Journal of Nuclear Medicine Technology**, v. 42, n. 2, p. 120–121, 1 jun. 2014.

SANGOLKAR, R.; KETANA, V. R. R.; SASTRY, B. K. S. Coronary artery stent infection presenting as coronary cameral fistula: a case report. **European Heart Journal - Case Reports**, v. 2, n. 2, p. 1–5, 1 jun. 2018.

SAUER, K. The genomics and proteomics of biofilm formation. **Genome Biology**, v. 4, n. 6, p. 219, 2003.

SEKHAR, S. et al. Coronary Stent Infection Successfully Diagnosed Using 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Computed Tomography. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32, n. 12, p. 1575.e1-1575.e3, dez. 2016.

SÉNÉMAUD, J. N. et al. Stent graft as a bridge to allograft to treat a septic thoracic aortic pseudoaneurysm after spinal fusion. **Journal of Vascular Surgery**, v. 69, n. 2, p. 596–597, fev. 2019.

SHAFER, K.; TOMA, C.; GALDYS, A. A common pathogen in an uncommon site: coronary artery stent meticillin-resistant Staphylococcus aureus infection. **JMM Case Reports**, v. 4, n. 9, p. 1–3, 25 set. 2017.

SHARMA, A. et al. Fungal bezoar in an immunocompetent patient: a rare complication of forgotten double J stent. **BMJ Case Reports**, v. 1, p. bcr-2018-226904, 23 ago. 2018.

SHUKUZAWA, K. et al. Risk factors and treatment outcomes for stent graft infection after endovascular aortic aneurysm repair. **Journal of vascular surgery**, v. 70, n. 1, p. 181–192, jul. 2019.

SHULTS, C. C. et al. Transapical Thoracic Endovascular Aortic Repair as a Bridge to Open Repair of an Infected Ascending Aortic Pseudoaneurysm. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 100, n. 5, p. 1883–1886, nov. 2015.

SILVA, J. C. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of the mastoparan Polybia-MPII isolated from venom of the social wasp *Pseudopolybia vespiceps testacea* (Vespidae, Hymenoptera). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 2, p. 167–175, fev. 2017.

SKOVDAL, S. M. et al. Ultra-dense polymer brush coating reduces *Staphylococcus epidermidis* biofilms on medical implants and improves antibiotic treatment outcome. **Acta Biomaterialia**, v. 76, p. 46–55, 2018.

SON, S. et al. Carotid stent infection: a rare but potentially fatal complication of carotid artery stenting. **Journal of NeuroInterventional Surgery**, v. 7, n. 4, p. e14–e14, abr. 2015.

SOUZA, B. M. et al. Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. **Peptides**, 2005.

STEFANI, S. et al. **Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global epidemiology and harmonisation of typing methods** *International Journal of Antimicrobial Agents* Elsevier B.V., , 2012.

SUBBIAHDOSS, G. et al. Microbial biofilm growth vs. tissue integration: “The race for the surface” experimentally studied. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 5, p. 1399–1404, 2009.

SUEDA, T. et al. Successful treatment of an infected thoracic endovascular stent graft. **General Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 64, n. 5, p. 273–276, 4 maio 2016.

SWARTJES, J. J. T. M. et al. Current Developments in Antimicrobial Surface Coatings for Biomedical Applications. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 18, p. 2116–2129, 24 jun. 2015.

TAKAHASHI, S.; BAN, T.; KATAYAMA, I. Multiple bacterial aneurysms caused by stent infections. **European Heart Journal**, p. ehw404, 7 out. 2016.

TALWAR, A. et al. An Immunosuppressed Man with an Aortic Rupture Secondary to *Salmonella* Aortitis Successfully Treated with Endovascular Aortic Repair. **Annals of Vascular Surgery**, v. 29, n. 4, p. 839.e5-839.e8, maio 2015.

TEJURA, N.; BONTEMPO, G.; CHEW, D. Disseminated Mycobacterium abscessus Infection Secondary to an Infected Vascular Stent: Case Report and Review of the Literature. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 5, n. 9, p. 1–3, 1 set. 2018.

THIBODEAUX, L. C. et al. Infection of endovascular stents in a swine model. **American Journal of Surgery**, 1996.

TORRES, N. et al. Nutrition and Atherosclerosis. **Archives of Medical Research**, v. 46, n. 5, p. 408–426, 2015.

TRAN, K.-N.; RYBAK, M. J.  $\beta$ -Lactam Combinations with Vancomycin Show Synergistic Activity against Vancomycin-Susceptible *Staphylococcus aureus* , Vancomycin-Intermediate *S. aureus* (VISA), and Heterogeneous VISA. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 6, p. 1–8, 19 mar. 2018.

TRENTIN, D. DA S. D. S. DA S.; GIORDANI, R. B. B.; MACEDO, A. J. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate 1. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 113–238, 2013.

TRENTINI, M. M. et al. Non-disulfide-Bridge Peptide 5.5 from the Scorpion *Hadrurus gertschi* Inhibits the Growth of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. February, p. 1–11, 22 fev. 2017.

UGURLUCAN, M. et al. Treatment of Dacron Grafting Dilatation with Endovascular Stent Grafting. **AORTA**, v. 04, n. 05, p. 162–166, out. 2016.

VALE, N.; AGUIAR, L.; GOMES, P. Antimicrobial peptides: A new class of antimalarial drugs? **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, n. DEC, p. 275, 2014.

VEERACHAMY, S. et al. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: A review. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine**, v. 228, n. 10, p. 1083–1099, out. 2014.

VENTOLA, C. L. [Review] The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 277–83, 2015.

VERBEKE, F. et al. Peptides as Quorum Sensing Molecules: Measurement Techniques and Obtained Levels In vitro and In vivo. **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, n. APR, p. 1–18, 12 abr. 2017.

WALKER, S. R. PET CT to Confirm an Infected Popliteal Stent Graft Used to Treat Popliteal Artery Aneurysm. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 54, n. 5, p. 612, nov. 2017.

WALSH, E. J. et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* MSCRAMM clumping factor B (ClfB) binding site in the  $\alpha$ C-domain of human fibrinogen. **Microbiology**, v.

154, n. 2, p. 550–558, 2008.

WANG, C. et al. The effect of flow velocity on the distribution and composition of extracellular polymeric substances in biofilms and the detachment mechanism of biofilms. **Water Science & Technology**, v. 69, p. 825–32, 2014a.

WANG, G. **Antimicrobial peptides: discovery, design and novel therapeutic strategies**. Wallingford: CABI, 2010.

WANG, G.; LI, X.; WANG, Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1087–D1093, 4 jan. 2016.

WANG, K. et al. Membrane active antimicrobial activity and molecular dynamics study of a novel cationic antimicrobial peptide polybia-MPI, from the venom of *Polybia paulista*. **Peptides**, 2013.

WANG, K. et al. Dual antifungal properties of cationic antimicrobial peptides polybia-MPI: Membrane integrity disruption and inhibition of biofilm formation. **Peptides**, v. 56, p. 22–29, 2014b.

WANG, K. RONG et al. Antitumor effects, cell selectivity and structure-activity relationship of a novel antimicrobial peptide polybia-MPI. **Peptides**, 2008.

WANG, S. K. et al. Successful Treatment of an Infected Zenith Fenestrated Endograft Without Explantation. **Vascular and Endovascular Surgery**, v. 52, n. 7, p. 569–572, 7 out. 2018.

WEAVER, M. L.; BLACK, J. H. Aortobronchial and aortoenteric fistula. **Seminars in Vascular Surgery**, v. 30, n. 2–3, p. 85–90, jun. 2017.

WEYMANN, A.; RUHPARWAR, A.; KARCK, M. Management of abdominal stent graft infection with cryopreserved aortic allograft. **Asian Cardiovascular and Thoracic Annals**, v. 24, n. 9, p. 904–904, 11 nov. 2016.

WHITCHER, G. H.; BERTGES, D. J.; SHUKLA, M. Peripheral Vascular Stent Infection: Case Report and Review of Literature. **Annals of Vascular Surgery**, v. 51, p. 326.e9-326.e15, ago. 2018.

WHO. **Antibiotic resistance**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>>. Acesso em: 21 nov. 2019.

WIELAND, K.; CHHATWAL, P.; VONBERG, R. P. Nosocomial outbreaks caused by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: Results of a systematic review. **American Journal of Infection Control**, v. 46, n. 6, p. 643–648, 2018.

WILLENBORG, J. et al. Characterization of multi-drug tolerant persister cells in

Streptococcus suis. **BMC Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 120, 2014.

WISSANJI, T. et al. Management and Prevention of Percutaneous Iliac Stent Infection: A Case Report. **Annals of Vascular Surgery**, v. 32, p. 131.e1-131.e5, abr. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Disease burden by Cause, Age, Sex, by Country and by Region. 2000-2016Who**. [s.l: s.n.].

WU, X. et al. Distinctive effects of CD34- and CD133-specific antibody-coated stents on re-endothelialization and in-stent restenosis at the early phase of vascular injury. **Regenerative Biomaterials**, v. 2, n. 2, p. 87–96, 2015.

YAMAMOTO, Y. et al. Late Stent Graft Infection after the Emergency Endovascular Repair of a Secondary Iliac Artery-Enteric Fistula Treated with Graft Removal and In Situ Aortic Reconstruction Using Femoral Veins. **Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 23, n. 2, p. 113–117, 2017.

YAN, S.-L. et al. Pericarditis: a rare complication of fully covered self-expandable metallic stent in postoperative benign anastomotic stricture. **Endoscopy**, v. 46, n. S 01, p. E453–E454, 14 out. 2014.

YEN, Y.; WU, F.-Z. Ruptured emphysematous infectious aortitis after endoprosthesis placement. **QJM**, v. 107, n. 11, p. 943–944, 1 nov. 2014.

YONEZU, K. et al. Ruptured saphenous vein graft pseudoaneurysm successfully treated with covered stents. **Cardiovascular Intervention and Therapeutics**, v. 31, n. 2, p. 161–163, 28 abr. 2016.

YOO, J. R. et al. Arteriovenous fistula stent infection diagnosed with radiolabelled leucocyte scintigraphy. **Infectious Diseases**, v. 47, n. 7, p. 510–514, 3 jul. 2015.

YOUNG, S.; ROSENBERG, M. S. Percutaneous Removal of an Infected Renal Artery Stent Graft. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 29, n. 5, p. 704–705, maio 2018.

## VII – APÊNDICE

Tabela S1. Casos relatados

No	Autor	Vaso	Material da Endoprotese	Microrganismo	Infecção após o implante <sup>1</sup>	Efetividade	Tratamento	Desfecho
1	(BERARD et al., 2014)	Artéria femoral comum	Polyes-ter-urethane	MSSA	2m	Não	Cirurgia	Desconhecido
2	(BILLÈ et al., 2014)	Traqueal	Nitinol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	5m	Sim	AB	Morte
3	(BRANQUINHO et al., 2014)	Esofágica	BMS	<i>Actinomyces meyeri</i>	3s	Desconhecido	AB	Morte
4	(JONES; MELTZER; SCHNEIDER, 2014)	Artéria femoral superficial	BMS	<i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Bacteroides fragilis</i>	1m	Desconhecido	Ponte de safena, angioplastia AB IV	Sobreviveu
5	(MOULAKAKIS et al., 2014)	Duodeno e saco aórtico	BMS	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 <sup>a</sup>	Sim	AB IV Cirurgia	Morte
6	2	Aorta infra-renal	BMS	MSSA	1d	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
7	3	Artéria ilíaca comum direita	DES	<i>Escherichia coli</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	9m	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
8	(NONIN et al., 2014)	Artéria coronária direita	DES	NS	2s	Desconhecido	Cirurgia	Desconhecido
9	(PERERA; WONG; DEVINE, 2014)	Artéria ilíaca comum direita	BMS	<i>Proteus mirabilis</i>	16m	Sim	AB	Sobreviveu
10	(PETRUNIĆ et al., 2014)	Aorta torácica	Medtronic Valiant	MSSA	10m	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
11	(PRIYADARSHI et al., 2014)	Cateter uretérico	DJ stent polyurethane	NS	15d	Sim	remove	Sobreviveu
12	(PULIMAMIDI et al., 2014)	Artéria celíaca	BMS	<i>Salmonella aortitis</i>	1s	Não	AB (TEVAR)	Sobreviveu
13	2	Artéria celíaca	BMS	<i>Salmonella enteritidis</i>	4d	Sim	AB IV Cirurgia	Morte
14	(REIJNEN; VAN STERKENBURG, 2014)	Artéria mesentérica superior	BMS	<i>Salmonella serotype enteritidis</i> (group D)	20d	Sim	AB	Sobreviveu
15	(RYU; ALLMAN, 2014)	Artéria ilíaca esquerda	BMS	<i>Bacteroides fragilis</i>	4s	Não	AB	Morte
16	(YAN et al., 2014)	Esofágica	BMS	MSSA	3m	Sim	AB endoscopically pericarditis	Sobreviveu
17	(YEN; WU, 2014)	Aorta torácica	BMS	<i>Escherichia coli</i>	3m	Sim	AB IV Cirurgia	Morte

18	(CHUN; KIM; JO, 2015)	Aorta torácica descendente	BMS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4s	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
19	(HASHIMOTO; ISAKA; YAMASHITA, 2015)	Artéria vertebral	BMS	MSSA	1m	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
20	(HERNIGOU et al., 2015)	Artéria poplítea esquerda	BMS	<i>Propionibacterium granulosum</i>	2s	Sim	AB IV Cirurgia	Sobreviveu
21	(JENG et al., 2015)	Veia cava inferior	BMS	<i>Escherichia coli, Candida albicans, coagulase negativa Staphylococcus, e Enterococcus faecium</i>	8s	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
22	(JUNTERMANN et al., 2015)	Aorta abdominal infra-renal	BMS	NS	2m	Sim	AB	Sobreviveu
23	(KAHN et al., 2015)	Micótico infra-renal	BMS	<i>Escherichia coli</i>	Pré	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
24	(KATAOKA et al., 2015)	Seio coronário direito de Valsalva	BMS	MSSA	5s	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
25	(MOHOR; SCHULZ; SOLOVAN, 2015)	Artéria Pancreática	BMS	<i>Bacteroides pyogenes, Staphylococcus haemolyticus, Escherichia coli, Clostridium innocuum, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Candida albicans, e não-albicans Candida. Enterococcus faecium</i>	3a	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
26	(PECORARO et al., 2015)	Artéria tibial anterior	BMS	<i>Staphylococcus aureus</i>	2a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
27	(POPPLEWELL; GARNHAM; HOBBS, 2015)	Aorta abdominal infra-renal	BMS	Não identificado	6m	Sim	AB	Sobreviveu
28	(PUA; QUEK; TAN, 2015)	Artéria renal esquerda para artéria íliaca comum esquerda	BMS	<i>Escherichia coli</i>	3s	Sim	AB	Sobreviveu
29	(RAO, 2015)	Cateter uretérico	BMS	<i>Aspergillus flavus</i>	15d	Sim	AB	Sobreviveu
30	(ROUBELAKIS et al., 2015)	Artéria coronária descendente anterior proximal esquerda	Paclitaxel-eluting stent	MSSA	horas	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu

31	(SHULTS et al., 2015)	Aorta endovascular torácica	BMS	MSSA	5m	Sim	AB Cirurgia	Morte
32	(SON et al., 2015)	Artéria carótida	BMS	MRSA	2d	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
33	(TALWAR et al., 2015)	Artéria mesentérica inferior	BMS	<i>Salmonella enteritidis</i>	10m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
34	(YOO et al., 2015)	Veia jugular interna	BMS	MRSA	1a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
35	(AGGARWAL; SAXENA; BHAN, 2016)	Artéria coronária direita	DES	MSSA	6m	No	AB Cirurgia	Sobreviveu
36	(CHATTERJEE et al., 2016)	Artéria coronária direita	BMS	<i>Salmonella enteritidis</i>	1m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
37	(ETIENNE; TOUMA; BECQUEMIN, 2016)	Aneurisma da aorta abdominal infra-renal	BMS	<i>Propionibacterium acnes</i>	2a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
38	(GAGNÉ-LORANGER et al., 2016)	Artéria carótida	BMS	MSSA	40d	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
39	(HAMMAMI et al., 2016)	Artéria coronária direita	BMS	MSSA	1a	Não	AB	Sobreviveu
40	(PEREZ et al., 2016)	Aórtica	BMS	MSSA	3m	Sim	AB	Sobreviveu
41	(PUA; QUEK; TAN, 2016)	Aorta infra-renal	BMS	<i>E. coli</i>	6m	Sim	Cirurgia	Morte
42	(RODRIGUES-PINTO; BARON, 2016)	Aórtica	BMS	<i>Bacteroides fragilis.</i>	5a	Sim	Removido endoscopicamente	Sobreviveu
43	(SEKHAR et al., 2016)	Artéria coronária direita	BMS	<i>Pseudomonas aeruginosa Enterobacter cloacae</i> complex	3s	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
44	(SUEDA et al., 2016)	Aórtica	BMS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
45	(TAKAHASHI; BAN; KATAYAMA, 2016)	Artéria femoral superficial direita	DES	MSSA	2m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
46	(WEYMANN; RUHPARWAR; KARCK, 2016)	Aórtica	BMS	<i>Staphylococcus spp</i>	4m	Sim	Cirurgia	Sobreviveu
47	(WISSANJI et al., 2016)	Artéria ilíaca comum direita	BMS	MSSA	2d	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu

48	(YONEZU et al., 2016)	Aórtica	BMS	<i>Streptococos spp</i>	18d	Sim	Implante de stent coberto com fio-guia (Sion)	Sobreviveu
49	(D'ORIA et al., 2017)	Artéria femoral comum esquerda	BMS	MSSA	1d	Sim	AB	Sobreviveu
50	2	Artéria femoral comum esquerda	BMS	MSSA e <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2s	Sim	AB	Sobreviveu
51	(GHARACHOLOU et al., 2017)	Segmento P2 femoropoplíteo direito distal	Heparin Surface DES	MRSA	3d	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
52	(INCHINGOLO et al., 2017)	Artéria femoral superficial direita	Heparin Surface DES	MSSA	Após	Sim	AB	Sobreviveu
53	2	Artéria femoral comum direita	Heparin Surface DES	MSSA	Após	Sim	AB	Sobreviveu
54	3	Artéria femoral superficial direita	Heparin Surface DES	MSSA	Após	Sim	AB	Sobreviveu
55	(IRIE et al., 2017)	Artéria femoral direita	BMS	MRSA e <i>Enterobacter aerogenes</i>	11d	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
		Artéria coronária direita distal	Everolimus-eluting, Promus element	MRSA	1s	Não		
56	(LAI et al., 2017)	Artéria circunflexa esquerda média	BMS	MRSA	1s	Não	AB Cirurgia	Morte
		Artéria coronária anterior esquerda média	DES Promos	MRSA	1s	Não		
57	(QUINTAS et al., 2017)	Artéria ilíaca comum esquerda	Assurant Cobalt Medtronic	MSSA	30 d	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
58	(RAHIMI et al., 2017)	Artéria femoral superficial esquerda	DES	NS	5a	Sim	AB	Sobreviveu
59	(SHAFER; TOMA; GALDYS, 2017)	Artéria coronária	DES	MRSA	2d	Não	AB	Morte

60	(WALKER, 2017)	Artéria poplítea esquerda	Viabahn endoprosthesis Heparin Surface DES	<i>Proteus mirabilis</i>	4a	Não	Antibiotic prophylaxis AB Cirurgia	Desconhecido
61	(WEAVER; BLACK, 2017)	Aorta torácica descendente	Rifampin-soaked Dacron graft BMS	<i>Streptococcus pneumoniae, Lactobacillus, Enterobacter, C. glabrata, e Candida krusei</i>	3m	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
62	2	Aórtica abdominal	rifampin-soaked Hemashield Dacron	MRSA enterococcal Após 6s <i>C. glabrata</i>	4s	Não	AB Cirurgia	Morte
63	(YAMAMOTO et al., 2017)	Aórtica	BMS	NS	2a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
64	(KARKOS et al., 2018)	Artéria poplítea	Fluency stent	NS	18m	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
65	(KO; KIM; JUNG, 2018)	Artéria carótida interna esquerda e bifurcação da artéria cerebral média esquerda	Nitinol BMS	MSSA	5d	Sim	Prophylactic antibiotics AB Cirurgia	Sobreviveu
66	(KROL et al., 2018)	Artéria femoral superficial	Viabahn stent graft	<i>Morganella morganii, Enterococcus faecium</i> vancomycin-resistant, <i>Serratia marcescens, Escherichia coli, e MRSA</i>	3d	Não	AB	Sobreviveu
67	2	Artéria femoral superficial	Viabahn stent graft	NS	18m	Sim	AB	Sobreviveu
68	(MAHLKNECHT et al., 2018)	Ureter	Bilateral ureteral stents silicon	NS	4s	Sim	Cirurgia	Morte
69	(RAWALA et al., 2018)	Aorta torácica descendente	BMS	<i>Clostridium difficile e MRSA</i>	5m	Sim	AB	Sobreviveu
70	(SANGOLKAR; KETANA; SASTRY, 2018)	Artéria coronária direita	DES promus	<i>P. aeruginosa</i>	5a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
71	(SHARMA et al., 2018)	Stent uretérico	Double J stenting	<i>Candida albicans</i>	2a	Sim	AB Cirurgia	Desconhecido
72	(TEJURA; BONTEMPO; CHEW, 2018)	Artéria íliaca comum esquerda	BMS	<i>Mycobacterium abscessus</i>	16m	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu

73	(WANG et al., 2018)	Saco aórtico	iCAST renal artery stents Atrium	<i>E. coli</i>	3a	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
74	(WHITCHER; BERTGES; SHUKLA, 2018)	Artéria poplítea do joelho	BMS	MSSA	14m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
75	(YOUNG; ROSENBERG, 2018)	Artéria renal bilateral	BMS	Não identificado	7d	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu
76	(REDDY K.V. et al., 2019)	Artéria coronária direita	DES	MRSA	5d	Não	Cirurgia AB	Sobreviveu
77	2	Artéria coronária direita	DES	MRSA	Pré-implante	Não	AB Cirurgia	Sobreviveu
78	(SÉNÉMAUD et al., 2019)	Aorta torácica descendente	BMS	<i>Escherichia coli</i>	2m	Sim	AB Cirurgia	Sobreviveu

BMS: endoprotese de metal desencapado; DES: Endoprotese farmacológica; AB: antibiótico; AB IV: Antibiótico intravenoso; MSSA: *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina; MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; MDR: resistente a múltiplas drogas e NS: não especificado.

<sup>1</sup>d: dia; s: semana; m: mês e a: ano.

**Tabela S2 Sinais e sintomas dos pacientes**

	Total (n=78) %	Não coronária (n=62) %	Coronária (n=16) %
Dor abdominal	16,7	21,0	
Dor nas costas	11,5	14,5	
Dor no peito	12,8	11,3	18,8
Arrepios	5,1	1,6	18,8
Diaforese	1,3	0,0	6,3
Diarréia	3,8	4,8	
Disúria	1,3	1,6	
Fadiga	1,3	1,6	
Febre	61,5	56,5	81,3
Dor de cabeça	2,6	1,6	6,3
Hematochezia	1,3	1,6	
Dor na perna	7,7	9,7	
Leucocitose	24,4	25,8	18,8
Dor local	2,6	3,2	
Dor na região lombar	2,6	3,2	
Mal-estar	2,6	1,6	6,3
Náusea	1,3	1,6	
Dor Paralombar	1,3	1,6	
Erupção petéquia	1,3	1,6	
Dor retrosternal	1,3	1,6	
Choque séptico	1,3	1,6	
Lesões cutâneas de embolia séptica	1,3	1,6	
Inchaço Local	2,6	3,2	
Vômito	3,8	4,8	
Desconhecido	25,6	21,0	43,8