



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA-UEPB
CAMPUS CAMPINA GRANDE- PB
CENTRO DE CIENCIAS BIOLOGICAS E DA SAÚDE- CCBS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Ricardo Jefferson Pereira Feitosa

PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES HOSPITALARES POR BACILOS GRAM-
NEGATIVOS NÃO FERMENTADORES DE GLICOSE, EM UM HOSPITAL DE
CAMPINA GRANDE-PB.

CAMPINA GRANDE-PB
2012

Ricardo Jefferson Pereira Feitosa

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES HOSPITALARES POR BACILOS GRAM-
NEGATIVOS NÃO FERMENTADORES DE GLICOSE, EM UM HOSPITAL DE
CAMPINA GRANDE-PB.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Farmácia
Generalista da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento à exigência para
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Patrícia Maria de Freitas e
Silva

CAMPINA GRANDE-PB

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

F311p Feitosa, Ricardo Jefferson Pereira.
 Prevalência de infecções hospitalares por bacilos gram- negativos não fermentadores de glicose, em um hospital de Campina Grande-PB. [manuscrito] / Ricardo Jefferson Pereira Feitosa. – 2012.
 f. : il. color

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

“Orientação: Profa. Ms. Patrícia Maria De Freitas E Silva, Departamento de Farmácia”.

1. Antibiótico. 2. Infecção hospitalar. 3. Não-fermentadores. I. Título.

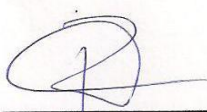
21. ed. CDD 614.4

Ricardo Jefferson Pereira Feitosa

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES HOSPITALARES POR BACILOS GRAM-
NEGATIVOS NÃO FERMENTADORES DE GLICOSE, EM UM HOSPITAL DE
CAMPINA GRANDE-PB.**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

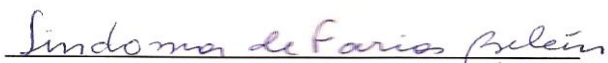
Aprovada em: 21 / 06/ 2012



Profª Msc Patrícia Maria de Freitas e Silva / UEPB/CCBS/DF
Orientadora



Prof. Dr.Heronides dos Santos Pereira / UEPB/CCBS/DF
Examinador



Profª. Dra. Lindomar de Farias Belém / UEPB/CCBS/DF
Examinadora

PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES HOSPITALARES POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS NÃO FERMENTADORES DE GLICOSE, EM UM HOSPITAL DE CAMPINA GRANDE-PB.

RESUMO

FEITOSA, Ricardo Jefferson Pereira¹.

Os bacilos não fermentadores são bactérias predominantemente de ambiente hospitalar. Estas bactérias podem causar doenças colonizando e depois infectando pacientes imunodeprimidos ou quando ganha acesso aos sítios normalmente estéreis do corpo através de procedimentos hospitalares invasivos como introdução de catéteres, respiradores, etc. São considerados, portanto, bactérias oportunistas. Este trabalho teve como objetivo estudar os aspectos epidemiológicos e de resistência aos antibióticos dos bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose isolados de infecção hospitalar num hospital de Campina Grande-PB. No período de abril de 2009 a março de 2011, foram analisadas 1.056 culturas bacterianas de amostras clínicas diversas, e destas, 358 apresentaram crescimento bacteriano. Das culturas analisadas, 52 (15%) eram do grupo dos bacilos Gram- negativos não fermentadores, sendo 38 (70%) consideradas de origem hospitalar, de acordo com critérios estabelecidos pela Portaria nº 930, de 27 de agosto de 1992 (Ministério da saúde), e 16 (30%) consideradas de origem comunitária. A *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria mais prevalente do grupo com 44 (84,6%) e também a que apresentou maior resistência aos antimicrobianos . A secreção de tubo orotraqueal foi o sitio de infecção mais comum de *P. aeruginosa*, com 9 (26,4%). Houve uma predominância de infecção por não fermentadores na faixa etária de maiores de 60 anos. O local do hospital onde mais predominou tais bactérias foi na UTI, com 44,2%. A *Pseudomonas aeruginosa* apresentou elevada resistência aos antibióticos testados, e com menor percentual de resistência ao meropenem 0 (0%), imipenem 2 (5,8%), amicacina 7 (20,5%) e ciprofloxacino 7 (20,5%). Houve maior resistência nas bactérias de origem hospitalar, quando comparadas com as de origem comunitárias.

PALAVRAS- CHAVE: Não-fermentadores, Infecção hospitalar, Antibiótico, Resistência

¹ Acadêmico do Curso de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

1 INTRODUÇÃO

Os bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) são encontrados na natureza como habitantes do solo e água, já tendo sido isolados em peixes congelados, leite cru, soluções desinfetantes, etc. Em seres humanos e animais são considerados parasitas inofensivos de membranas mucosas. (ANVISA, 2011).

No meio ambiente hospitalar são mais frequentemente isolados de água de torneira, respiradores, catéteres de sucção, anti-sépticos e soro. Estas bactérias podem causar doença colonizando e depois infectando pacientes imunodeprimidos ou quando ganha acesso aos sítios normalmente estéreis do corpo através de procedimentos hospitalares invasivos como introdução de cateteres, respiradores ou outros. São considerados, portanto, bactérias oportunistas (VOLK, 1999).

Os BGN-NF são incapazes de utilizar carboidratos como fonte de energia através da fermentação, degradando-os pela via oxidativa. Devido à baixa atividade metabólica, em relação às enterobactérias, a identificação torna-se mais complexa, portanto, as características morfológicas, macroscópicas e microscópicas, são ferramentas auxiliares fundamentais, durante o processo de identificação que também requer testes especiais (SILVA et al, 2007).

Estudos filogenéticos baseados na sequência 16S do r RNA levaram a inúmeras mudanças na classificação e nomenclatura desse grupo de microrganismos nos últimos anos. Dentre os principais gêneros causadores de infecção em seres humanos encontram-se: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, complexo *Burkholderia*, *Stenotrphomonas*, *Chryseobacterium* (CLARCK WA, 2011).

Apesar de as *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* estarem entre as bactérias mais isoladas em hemoculturas e amostras do trato respiratório de pacientes sob regime de internação hospitalar, os demais BGN-NF, quando comparados com outros agentes etiológicos, apresentam resistência elevada a vários antimicrobianos e também são capazes de causar infecções graves no ambiente hospitalar, principalmente em unidades de terapia intensiva, pacientes submetidos a procedimentos invasivos, unidades de queimados e em infecções do trato respiratório de pacientes com fibrose cística (FC), (SILVA et al, 2007).

Dos bacilos isolados de amostras clínicas, 68-78% são membros do grupo de bacilos anaeróbicos facultativos (Enterobactérias), e 12-16% são BGN-NF. Porém, por serem considerados microrganismos oportunistas, constituem-se atualmente em graves agentes de infecções hospitalares, principalmente pelo alto nível de resistência que apresentam frente aos antimicrobianos comumente utilizados no ambiente hospitalar (MURRAY, 2003).

Este trabalho teve como objetivo estudar os aspectos epidemiológicos e de resistência aos antibióticos dos bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose isolados de infecção hospitalar num hospital de Campina Grande-PB.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Infecção hospitalar

A infecção hospitalar consiste de processo infeccioso adquirido pelo paciente no decorrer de sua internação hospitalar. De acordo com o ministério da saúde, a infecção hospitalar é definida como qualquer infecção contraída após 72 horas de internação do doente, que se manifesta durante sua permanência no hospital ou mesmo após alta, quando puder ser relacionada com a internação. Dessa forma, não se podem reduzir totalmente essas infecções, uma vez que é impossível eliminar as relações ecológicas entre os seres vivos (BRASIL, 1986).

Sua importância epidemiológica é indiscutível, na medida em que as infecções hospitalares têm sido cada vez mais evidenciadas por suas sequelas. Para ser classificada como infecção, a mesma deve se manifestar como doença clínica e não apenas como colonização, na qual os micro-organismos estão presentes, mas não causam efeitos nocivos ao paciente (AYLIFFE, 1998).

Com o crescente custo da assistência médica em todo o mundo, houve uma preocupação por parte dos administradores da saúde em averiguar os motivos que interferem nesses custos. Quando um paciente adquire infecção no hospital, ele utiliza uma maior quantidade de medicamentos, são solicitados mais exames complementares e, como consequência, necessita-se realizar procedimentos, muitas vezes invasivos, para um diagnóstico preciso. Fatores como estes contribuem para aumentar significativamente, o custo final do tratamento (RODRIGUES, 2003).

Os micro-organismos mais comumente associados a etiologia das infecções hospitalares são os do grupo de Gram-negativos entéricos tais como *Escherichia coli* e *Klebsilla spp.* Dentre as bactérias Gram-positivas destaca-se o *Staphylococcus aureus*. Outras espécies de patógenos que comumente habitam o hospital são as bactérias da classe dos BGN-NF, principalmente as que pertencem aos grupos de *Pseudomonas spp.* e *Acinetobacter spp.*, que constituem importantes agentes de infecção nosocomial. O rastreamento preciso dessas linhagens bacterianas dentro do ambiente hospitalar é o ponto fundamental para a identificação de uma provável fonte de contaminação (RODRIGUES, 2003).

A lavagem simples de mãos é um procedimento considerado como a medida isolada mais importante e eficaz para prevenir a transmissão de infecções hospitalares, mesmo usando

sabão comum e água, como recomendado pelo *Center for Disease Control and Prevention-CDC*, desde 1985.

Há dois caminhos para a colonização: o primeiro dá-se pelo contato pessoa-pessoa (funcionário-paciente, paciente-paciente); o segundo ocorre via objetos inanimados (funcionário-ambiente-paciente). A primeira modalidade é considerada a maior responsável pela disseminação de micro-organismos na área hospitalar (CDC, 1985).

Um estudo realizado por Pittet e cols (1999) concluiu que a adesão dos profissionais de saúde à prática de lavagem das mãos é moderada, com média de 48% de aplicação da medida nas oportunidades geradas durante o dia de trabalho.

2.2 Principais características dos BGN-NF

Os bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) são microorganismos aeróbios, não esporulados, que se caracterizam pela incapacidade de utilizar os carboidratos como fonte de energia através da fermentação, degradando-os pela via oxidativa. Os BGN-NF raramente causam infecções comunitárias, sendo relacionados predominantemente às infecções hospitalares. Dentre as principais características deste grupo podem-se alinhar: as biológicas, tendo os micro-organismos mínimas necessidades nutricionais, a tolerabilidade às variações das condições físicas e a capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos e de escapar aos mecanismos de defesa do hospedeiro (POLLACK, 2000).

De um modo geral, os BGN-NF apresentam baixa virulência: são raros na flora saprófita normal humana, sendo considerados patógenos oportunistas. Sua maior importância se dá em infecções hospitalares, onde representam em torno de 10% dos bacilos Gram-negativos isolados em espécimes clínicos (SANTOS, 2006).

Apesar da diversidade de gêneros e espécies nesse grupo, o mais frequente envolvido em caso de colonização/infecção é: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* e o complexo *Burkholderia cepacia* (SANTOS, 2006).

2.3 Principais bactérias pertencentes ao grupo dos BGN-NF

2.3.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas é um vasto gênero da família *Pseudomonaceae*, que na sua maioria são microorganismos de vida livre, podendo infectar diversas espécies de plantas e animais, sendo somente algumas espécies patogênicas para o ser humano. O gênero *Pseudomonas* inclui espécies fluorescentes (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, entre outras) e não-fluorescentes (*P. stutzeri*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. alcaligenes*, entre outras (PALERRONI, 1998).

Como características gerais, as amostras pertencentes à espécie *P. aeruginosa* apresentam-se como bastonetes, podendo ser observadas como células isoladas, aos pares, ou em curtas cadeias; é intensa ou suavemente curvado, não esporulado e aeróbico estrito (exceto em presença de nitrato, circunstância em que cresce em condições anaeróbias). Mede 1,5 a 3 μ de comprimento e 0,5 a 0,8 μ de largura. É móvel, em grau variado, na dependência do número e das posições do flagelo nas diferentes cepas. Produzem pigmentos fluorescentes difusíveis, a pioverdina e a piocianina. Algumas cepas podem produzir pigmentos vermelho-escuros ou pretos, que recebem o nome de piorrubina e piomelanina. Multiplica-se sem muita exigência do ponto de vista nutricional, podendo, inclusive, sobreviver em água destilada; tem proliferação favorável em vários meios de cultura e não necessita de fatores orgânicos de crescimento. Desenvolve-se bem entre 37 e 42°C e não tolera pH ácido (POLLACK, 2000).

P. aeruginosa, em cultura, pode exibir múltiplos tipos de colônias. Um exemplo é a forma mucóide que ocorre devido à produção de grandes quantidades de um polissacarídeo extracelular, o alginato, identificada em amostras clínicas de portadores de fibrose cística (POLLACK, 2000).

A grande maioria das amostras de *P. aeruginosa* pode ser facilmente identificada nos meios de cultura comuns devido às características morfológicas das colônias e à produção difusa de pigmentos (PITT, 1998).

Pode ser identificada bioquimicamente através de reações positivas para oxidase, indofenol, arginina hidrolase, utilização de citrato, oxidação da glicose e xilose. Reduz nitrato a nitrito com a produção de gás a partir do nitrito; não ocorre a oxidação da maltose. Esta bactéria, além de invasiva, é toxinogênica. Produz um grande número de produtos extracelulares (elastases, proteases) que, assim como a suas estruturas externas e componentes da superfície celular, estão envolvidos na patogênese das infecções (POLLACK, 2000).

A habilidade de utilizar uma grande variedade de substratos orgânicos como fontes de carbono, a excepcional habilidade de colonizar nichos como a água, o solo, as plantas e tecidos animais, onde a oferta de nutrientes é limitada e a capacidade de sobreviver por longos períodos em ambientes úmidos, contribui para o ubiqüitarismo apresentado pelas amostras de

P. aeruginosa. (POLLACK, 2000). Sua presença na água do solo permite que chegue aos vegetais e, então, ao trato intestinal humano. A predileção pela umidade reflete-se tanto na colonização do homem, cujos locais preferenciais são perineo, axila e trato intestinal, quanto no ambiente hospitalar, onde vários reservatórios já foram identificados: equipamento respiratório, endoscópios, colírios, laringoscópios, soluções de limpeza, medicamentos, corantes, desinfetantes, pias, tubos e duchas de irrigação, panos de chão e vegetal (KOMINOS, 1972).

Os percentuais de resistência são mais elevados nas amostras isoladas nas UTIs, refletindo maior intensidade de uso de antimicrobianos nesse ambiente, e, possivelmente, transmissão de cepas multiresistentes entre os pacientes. Conforme publicado no relatório anual do sistema NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) de 2004, resistência a ciprofloxacina, imipenem, ceftazidima e piperacilina em amostras de pacientes internados em UTIs chega a ser de 1,5 a 3 vezes maior que nas amostras de pacientes internados em enfermarias e ambulatórios (ANONYMOUS, 2004).

A *P. aeruginosa* é intrinsecamente resistente a vários antibióticos, incluindo alguns beta-lactâmicos, macrolídeos, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprim e a maioria das fluoroquinolonas. Essa resistência intrínseca não aparece no caso da ticarcilina, piperacilina, associação de beta-lactâmico/inibidor de beta-lactamase, cefalosporinas de terceira e quarta gerações, aminoglicosídeos, monobactams, algumas fluoroquinolonas, carbapenênicos e polimixinas.

Entretanto, este microrganismo apresenta capacidade de desenvolver resistência a qualquer desses agentes antimicrobianos (CACCI, 2007).

Dentre os mecanismos responsáveis por desencadear resistência de *P. aeruginosa*, destacam-se: a baixa permeabilidade da membrana externa, sistema de efluxo, produção de enzimas inativadoras de aminoglicosídeos, alteração do alvo das fluoroquinolonas e produção de beta lactamases (BARSIC, 2004).

Entre os antimicrobianos usados para o tratamento das infecções por *P. aeruginosa* estão as penicilinas (piperacilina), cefalosporinas (ceftazidima, cefepima), carbapenênicos (imipenem, meropenem), aminoglicosídeos (gentamicina, tobramicina, ampicilina) e fluoroquinolonas (ciprofloxacina) (BARSIC, 2004).

2.3.2 *Acinetobacter baumannii*

As bactérias do gênero *Acinetobacter* são cocobacilos Gram-negativas, que medem 1,0 a 1,5 µm por 1,5 a 2,5 µm. São aeróbios estritos. Na fase estacionária de crescimento em meios seletivos aparecem em arranjo celular diplóide ou em cadeias curtas. São bactérias imóveis, que crescem bem na maioria dos meios de cultura utilizados em laboratórios de rotina, com colônias lisas, opacas e ligeiramente menores que as colônias de Enterobactérias. Crescem bem em temperatura de 20°C a 30°C, com temperatura ótima de crescimento entre 33°C – 35°C. Algumas espécies podem crescer a 41°C ou 44°C, o que é utilizado como fator diferencial entre elas. Uma característica típica do gênero é sua incapacidade de produzir citrocomo oxidase assim como produzir, de forma intensa, a enzima catalase (SANTOS, 2006).

Acinetobacter baumannii é amplamente distribuída na natureza, assim como no ambiente hospitalar, e sua presença no ambiente inanimado parece estar diretamente relacionado com a umidade (pias, banheiros, umidificadores de ambiente e equipamentos ventilatórios que tem a capacidade de formar aerossóis com este micro-organismo). Infecções hospitalares por essa bactéria são preocupantes pela sua capacidade de adquirir resistência a antimicrobianos e sobreviver por períodos longos em superfícies inanimadas, facilitando sua manutenção e dispersão no ambiente hospitalar. Pacientes suscetíveis a infecção por essa espécie incluem aqueles com doença de base como câncer, queimaduras extensas, imunossupressão e cirurgias de grande porte. As infecções mais comuns são: pneumonias, infecções urinárias e infecções de feridas cirúrgicas (SANTOS 2006).

A. baumannii é uma bactéria que parece ter uma propensão para desenvolvimento de resistência antimicrobiana extremamente rápida. Práticas em UTIs contribuem para o desenvolvimento da resistência da *A. baumannii* porque o uso de antimicrobianos por paciente e por área de superfície são significativamente mais altas neste local do hospital (PONTES, 2006).

2.3.3 *Burkholderia cepacia*

Atualmente sabe-se que os micro-organismos inicialmente identificados como espécie “*Burkholderia cepacia*”, compreende um grupo estritamente relacionado de nove variantes genômicas, que são distintas genotipicamente, mas similares fenotipicamente. Todas já foram reclassificadas em novas espécies: *cepacia* (VGI), *B. multivorans* (VGII), *B.cenocepacia* (VIII), *B. stabilis* (VGIV), *B. vietnamiensis* (VG V), *B. anthina* (VG VIII) e *B. pyrrocinia*,(VG

IX). Coletivamente, são designadas como: Complexo *Burkholderia cepacia*, e todas já foram isoladas de espécimes clínicos humanos (SANTOS, 2006).

A identificação de bactérias pertencentes a esse complexo é muito problemática à medida que essa espécie é facilmente confundida com outros organismos não fermentadores. A identificação desse grupo também é dificultada pela sua complexa taxonomia (SANTOS, 2006).

2.3.4 *Stenotrophomonas maltophilia*

A história taxonômica de *Stenotrophomonas maltophilia* apresenta esta bactéria originalmente no gênero *Bacillus* A, descrito por Booker em 1887, agente etiológico responsável por uma diarreia que ocorria no verão. A partir de então, outros autores propuseram sua inclusão em novos gêneros e/ou espécies. Assim, a mesma foi referida como *Bacillus bookeri*, *Bacteriumbookeri*, *Alcaligenes bookeri*. Hoje, está classificada em um único gênero, espécie *Stenotrophomonas maltophilia*, nome atual do micro-organismo anteriormente denominado *Xanthomonas maltophilia* ou *Pseudomonas maltophilia* (PALLENORI, 1993).

No ambiente hospitalar, essa espécie já foi isolada de água de torneira, pias, respiradores, catéteres de sucção, monitores de pressão arterial, equipamento de diálise, máquina produtora de gelo, soluções desinfetantes e, ocasionalmente, das mãos de profissionais de saúde. Outras fontes secas e destituídas de nutrientes como curativos de algodão e placas de petri foram descritas como microambiente para *S. maltophilia*. Mais recentemente, foram caracterizadas outras fontes de isolamento inusitadas, como sêmen e embriões bovinos congelados (DENTON, 1998).

A falta de padrões clínicos característicos de colonização ou infecção por *S. maltophilia* sugere uma participação restrita dessa bactéria nos processos patogênicos. Contudo, encontra-se descrita a produção de enzimas extracelulares, previamente associadas como fatores de virulência em processos infecciosos originados por outros microrganismos, tais como: DNase, RNase, fibrinolizina, lipases, hialuronidases, proteases e elastases (DENTON, 1998).

A *S. maltophilia* é um microrganismo multirresistente aos antimicrobianos clássicos, incluindo β -lactâmicos, quinolonas e aminoglicosídeos (BETRIU, 2001).

Uma vez que várias classes de antibióticos não fornecem resultados eficazes, tanto nos ensaios “in vitro” como “in vivo”, a escolha no tratamento das infecções por *S. maltophilia* é

a associação entre o sulfametoxazol e o trimetoprim. Contudo, alguns relatos mostraram taxas de 2 a 10% de cepas resistentes a esses quimioterápicos. Igualmente, outras combinações mostraram-se satisfatórias nos testes “in vitro” envolvendo os seguintes fármacos: ticarcilina/ácido clavulânico cefalosporinas, aztreonam, fluorquinolonas, azitromicina, claritromicina, colistina e rifampicina (BETRIU, 2001).

2.4 Identificação dos BGN-NF

O passo principal para a identificação de uma bactéria é dado pelo estudo do seu perfil bioquímico. Para este estudo é crucial o isolamento das bactérias em questão, impedindo a contaminação e um possível erro de identificação. Pode-se realizar uma série de testes, optando por aquele que parece mais adequado.

Na sua maioria, os kits comerciais destinados a identificação dos não fermentadores é constituído pelos testes de oxidase (detecta a capacidade que um micro-organismo apresenta para metabolizar o substrato, atuando o oxigênio como acceptor final de elétrons), utilização de glicose em meio base (capacidade que um isolado apresenta para metabolizar hidratos de carbono na ausência de ar atmosférico), descarboxilação de lisina e arginina (base Moeller), liquefação da gelatina, hidrólise da uréia, DNase, e sensibilidade a polimixina. Os resultados destes testes permitem identificar a maioria dos bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose isolados na rotina laboratorial.

A identificação dos BGN-NF sempre foi um desafio para os laboratórios de microbiologia, uma vez que a maioria deles não realiza este tipo de identificação, ou o faz de maneira precária em virtude da pequena incidência desses micro-organismos, bem como pela complexidade e elevado custo dos esquemas complexos de identificação. Entretanto, algumas indicações laboratoriais preliminares conduzem, de maneira presuntiva a suspeita de um bacilo, como por exemplo, ausência de fermentação de glicose e reação positiva de citrocomo oxidase, entre outras. (SANTOS, 2006)

Cerca de 95% das *Pseudomonas aeruginosa* caracterizam-se por apresentarem colônias grandes, com odor característico, oxidase positiva, motilidade positiva e OF-glicose positiva. Além disso apresenta uma produção de pigmento verde-azulado decorrente da produção concomitante de piocianina e fluoresceína. Uma pequena porcentagem de amostras produz outros tipos de pigmentos, ou não produz piocianina, não sendo então detectado pigmento característico. Esta é uma característica mais comum nos morfotipos mucóides. (POLLACK, 2000)

A identificação da espécie *A. baumannii* é dificultada pela similaridade fenotípica entre elas, porém alguns testes podem ser usados com certa margem de segurança para se chegar á espécie, como: crescimento em Agar Mac Conkey, oxidase negativa, imóveis; resistentes a penicilina, catalase positiva, crescimento a 42°C (PONTES, 2006).

O complexo *B. cepacia* constitui um dos grupos de maior dificuldade de identificação laboratorial de rotina, mas alguns testes são úteis para a sua caracterização inicial. A identificação definitiva só é possível mediante a utilização de metodologia fenotípica e molecular, mas alguns pontos são essenciais como; mobilidade positiva, oxidase positiva, descarboxilação da lisina, resistência as polimixinas (PITT, 1998).

2.5 Resistências dos BGN-NF

Mudanças significativas nas taxas de resistência ocorreram ao longo do tempo. Porém, elas são imprevisíveis e não apontam para tendências idênticas entre as diferentes espécies de bactérias ou de antimicrobianos. Diferenças regionais devem ser consideradas, tanto na taxa de resistência quanto nas suas tendências de variação temporal, e podem variar de hospital para hospital e mesmo entre regiões do mesmo país (ANDRADE, 2003).

A resistência intrínseca dos Gram-negativos não fermentadores a antibióticos comuns como penicilina, a maioria das cefalosporinas e macrolídios, é devida principalmente à impermeabilidade da membrana bacteriana a esses agentes. As polimixinas apesar do seu potencial nefrotóxico, especialmente em pacientes idosos, consiste em uma ultima classe de antibióticos com atividade consistente contra cepas multi resistentes, como espécies de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, e *S.maltophilia* (MACGOWAM, 2006)

A Organização Mundial de Saúde aponta outros fatores que tem contribuído para o aumento da incidência da multiresistência microbiana: pobreza, acesso inadequado aos medicamentos, propaganda de novas drogas, falha terapêutica, medicamentos falsificados e preferência pelos de largo espectro, deficiência na formação de profissionais de saúde, alimentos contaminados com microrganismos resistentes, a globalização e, finalmente, deficiência na vigilância da epidemiologia intra e extra hospitalar. (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2000)

A questão da resistência adquirida em *P. aeruginosa* parece ser mais pronunciada na América Latina do que no restante do planeta, como observado por Jones e colaboradores (2003). Além disso, dentre os países da América Latina, a resistência parece ser mais acentuada no Brasil, conforme sugerido por Andrade e colaboradores (2003). Estes autores

estudaram amostras isoladas no período de 1997 a 2001, tendo observado que 90% das amostras com resistência simultânea a várias classes de antimicrobianos eram procedentes do Brasil. Este perfil de multirresistência (MR) aumentou, em média, em 5,4% ao ano, neste período.

Amostras de *P. aeruginosa* de origem clínica exibindo resistência aos carbapenens tem sido detectadas em várias partes do mundo. No Brasil, *P. aeruginosa* apresenta taxas de resistência aos carbapenens bastante elevadas. Segundo relatos, em alguns hospitais brasileiros, entre 15 e 61,2% das amostras são resistentes a carbapenens disponíveis comercialmente no país (POLLACK, 2000).

Acinetobacter baumannii apresenta uma habilidade espetacular de desenvolver resistência antimicrobiana a múltiplos antibióticos, como β -lactâmicos, aminoglicosídeos e fluoroquinolonas e apresenta altas proporções de resistência-cruzada a estas drogas (PONTES, 2006).

O complexo *Burkholderia cepacia* possui altos níveis de resistência a aminoglicosídeos e beta-lactâmicos, deixando poucas opções terapêuticas disponíveis. Essa espécie também apresenta resistência a desinfetantes comumente utilizados, como a clorexidina, o que contribui para a ocorrência de surtos hospitalares, principalmente em pacientes com fibrose cística (MAHENTHIRALINGAM, 2005).

3 REFERÊNCIAL METODOLÓGICO

3.1. Caracterização do universo

A pesquisa foi realizada em um hospital de Campina Grande – PB, através de um estudo prático, descritivo e retrospectivo de abordagem quantitativa.

3.2 Técnica da pesquisa

A amostra clínica foi semeada em diferentes meios de cultura como Agar sangue, Agar manitol salgado e o Agar eosina metileno blue (EMB). As colônias bacterianas que apresentaram crescimento no agar EMB foram observadas quanto à utilização da lactose. As que cresceram no citado meio de cultura sem cor ou transparentes foram consideradas lactose negativas, e posteriormente foram submetidas ao teste bioquímico para verificação inicial da utilização de açúcares, através do agar TSI (triple sugar iron agar). No TSI, a não modificação da cor vermelha do meio indicou que a bactéria não fermentou os açúcares glicose, lactose, e sacarose, podendo-se tratar de uma bactéria Gram-negativa não fermentadora. Foi realizada uma série de testes bioquímicos adicionais direcionados à identificação de não fermentadores, objetivando a identificação das colônias bacterianas em questão.

Os testes direcionados à identificação de não fermentadores foram: testes de oxidase, utilização de glicose em meio base OF, descarboxilação de lisina e arginina (base Moeller), liquefação da gelatina, hidrólise da uréia, DNase e sensibilidade a polimixina. Os resultados destes testes permitem identificar a maioria dos bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose isolados na rotina laboratorial.

o TSA (teste de sensibilidade a antibióticos), e a técnica utilizada foi a de kirby & Bauer, através da difusão de disco em Agar Mueller Hinton (Difco).

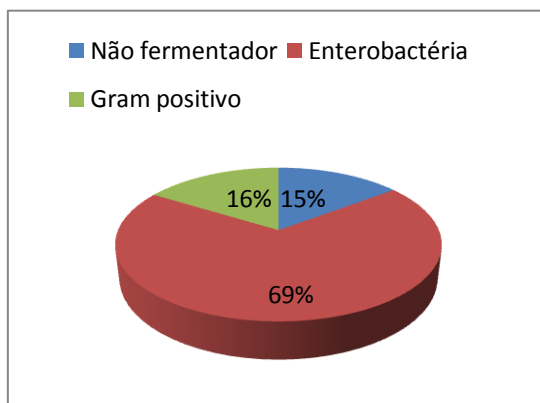
3.3 Aspectos éticos

Por se tratar de uma pesquisa laboratorial que envolve diretamente seres humanos, a pesquisa foi enviada e aprovada, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob o número 0020.0.133.000-12.

4 DADOS E ANÁLISE DA PESQUISA

Foram analisadas 1056 culturas bacterianas de amostras clínicas diversas, realizadas no período de abril de 2009 a março de 2011, num hospital de Campina Grande-PB. Destas, 358 apresentaram crescimento bacteriano e foram consideradas positivas, das quais 52 (15 %) eram do grupo dos bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose, 59 (16%) bactérias pertencentes ao grupo dos cocos Gram-positivos e 247 (69 %) pertencentes ao grupo das enterobactérias (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1: Frequência de Bactérias isoladas em culturas bacterianas



Fonte: Arquivo do laboratório de microbiologia do hospital estudado.

5 CONCLUSÃO

Nesse estudo, a *P. aeruginosa* apresentou-se de forma geral, com uma alta resistência aos antimicrobianos utilizados na rotina hospitalar, demonstrando boa sensibilidade apenas aos carbapenêmicos (imipenem e meropenem), seguido por amicacina e também ao ciprofloxacino. Considerando o fato de muitos dos antibióticos utilizados empiricamente na rotina hospitalar não terem sido adequados para o tratamento dos pacientes portadores de infecção hospitalar, fica evidente a necessidade de implementação de uma política de conscientização da importância da realização de culturas bacterianas e antibiogramas para garantir o uso racional de antimicrobianos no hospital estudado.

ABSTRACT

PREVALENCE OF HOSPITAL INFECTIONS CAUSED BY GRAM-NEGATIVE NON-FERMENTING OF GLUCOSE IN A HOSPITAL CAMPINA GRANDE-PB.

The non-fermenting bacilli are microorganismos which appear predominantly in hospitals. These bacteria can cause disease by colonizing and then infecting immunocompromised patients or when they gain access to normally sterile sites of the body through hospital procedures and introduction of invasive catheters, ventilators, etc. They are, therefore considered, opportunistic bacteria. This work aimed studying the epidemiology and antibiotic resistance of Gram-negative glucose non-fermenters bacilli isolated from nosocomial infection in a hospital in Campina Grande-PB. From April 2009 to March 2011, 1.056 patients were analyzed as to their bacterial cultures of various clinical samples and 358 out of these had bacterial growth. These isolates were classified as community and hospital infections, according to the criteria established by the law number 2616/98 from the Ministry of Health. It also found the percentage of resistance of bacteria to various antibiotics. From the cultures analyzed, 52 (15%) were the group of Gram-negative non-fermenters. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria were more prevalent in the group with 44 (84.6%) and also showed the highest antimicrobial resistance group. The secretion of orotracheal tube was the site of *P. aeruginosa* infection most common, 9 (26.4%). There was a predominance of infection with non-fermenters in the age group over 60 years. The place of the hospital where such bacteria were more prevalent in the ICU, with 44.2%. *Pseudomonas aeruginosa* was highly resistant to the antibiotics tested, and the antibiotics that had a lower percentage of resistance were meropenem were 0 (0%), imipenem 2 (5.8%), amikacin 7 (20.5%) and 7 ciprofloxacin (20.5%). There was a greater resistance in nosocomial bacteria, when compared to the community of origin.

KEYWORDS: Non-fermenter, Hospital Infection, Antibiotic, Resistance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA - ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Disponível em http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf. Acesso em: 01 de Dezembro de 2011.

ANDRADE S. S, Jones R. N, Gales A. C, Sader H. S. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin American medical centres: 5 year report of the SENTRY **Antimicrobial Surveillance Program** (1997-2001). *J Antimicrob Chemother* 2003; 52(1):140.1.

ANONYMOUS. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. **Am J Infect Control** 2004; 32(8):470-85.

AYLIFFE, G. A. J, et al. **Controle de infecção hospitalar: manual prático**. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Revinter. 1998.264p.

BARSIC B, Tambic A, Santini M, Klinar I, Kutlesa M, Krajinovic V. Antibiotic resistance among nosocomial isolates in a Croatian intensive care unit-- **results of a twelve-year focal surveillance of nosocomial infections**. *J Chemother* 2004; 16(3):273-81.

BETHESDA. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry 1999 annual date report: **Cystic Fibrosis Foundation**, 2000. Disponível em: <http://www.cff.org/> Acesso em: 24 de Novembro de 2011.

BETRIU C, Sánchez A, Palau M. L, Gómez M, Picazo J. J. Antibiotic resistance surveillance of *Stenotrophomonas maltophilia*, 1993-1999. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48(1): 152-4.
BRASIL. Ministério da saúde. **Portaria Ministerial nº 2.616**, de 12 de maio de 1998. Revoga a portaria nº 930. Diário oficial da União, Brasília, DF, 1998.

_____. Ministério da saúde. **Portaria ministerial nº 196**, de 24 de junho de 1983. Dispõe sobre prevenção e controle de infecções hospitalares. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1983.

CACCI, Luciana C. Estudo epidemiológico-molecular das infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao Imipenem em pacientes hospitalizados. São Paulo, 2007. 75f. **Dissertação (Mestrado em Ciências)** – Universidade Estadual de Campinas, 2007.

CARDOSO, C. L. **Estudo da flora bacteriana das mãos de grupos de população intra e extra-hospitalar do HU/UFRJ**. Rio de Janeiro, 1996. Tese (doutorado em microbiologia), instituto de microbiologia da UFRJ, 1996.

CARRILHO C. M. D.M. et al. Pneumonia em UTI: Incidência, Etiologia e Mortalidade em Hospital Universitário. *RBTI - Revista Brasileira Terapia Intensiva*. V. 16 - Número 4 Outubro/Dezembro 2004.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION **guidelines for the prevention and control of nosocomial infection**. Atlanta Ga: CDC- US Departamento of health and Human Services. 1985.

CLARCK W. A. **A simplified Leifson flagella stain**. J. Clin Microbiol. 1999; Disponível em: <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/3/6/632>. Acessado em 5 de Novembro de 2011.

CORREA C, M. *et al*. Vegetables as a source of infection with *Pseudomonas aeruginosa* in a University and Oncology Hospital of Rio de Janeiro. **J Hosp Infect** 1991; 18(4): 301-6.

DENTON M, Kerr K. G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. **Clin Microbiol Rev** 1998; 11(1) :57-80.

DELIBERALI, B. *et al*. Prevalência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de pacientes internados em Porto Alegre-RS • J Bras Patol Med Lab • v. 47 • n. 5 • p. 529-534 • outubro 2011.

FERRERO, Suzana M. Incidência y resistência de bacilos Gram negativos não fermentadores. Universidad Nacional Del Nordeste. Comunicaciones científicas y tecnológicas. 2005.

FIGUEIREDO E. A. P. *et al* .*Pseudomonas Aeruginosa*: Frequência de Resistência a Múltiplos Fármacos e Resistência Cruzada entre Antimicrobianos no Recife/PE. Revista Brasileira de Terapia Intensiva Vol. 19 Nº 4, Outubro-Dezembro, 2007.

GARNICA M. *et al*. Resistant Gram- Negative Bacteremias in Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT) Recipients: Incidence and Outcome. 44th ICAAC - **Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 82. 2004.

GUIMARÃES, N. C. *et al*. Prevalência de *pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem em amostras de pacientes hospitalizados na santa casa de misericórdia de goiânia-go, no período de janeiro de 2007 à janeiro de 2010. Goiânia-GO 2010. Dissertação de mestrado.

HARINGER D. M. C. Pneumonia associada a ventilação mecânica. Pulmão RJ 2009; Supl 2:S37-S45.

HOBAN D, J, Biedenbach D. J, Mutnick A. H, Jones R. N. Pathogen of occurrence and susceptibility patterns associated with pneumonia in hospitalized patients in North America: results of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Study (2000). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003; 45(4): 279-85.

LEISER J. J, Tognim M.C.B, Bedendo J. Infecções hospitalares em um centro de terapia intensiva de um hospital de ensino no norte do Paraná. *Ciênc Cuid Saúde*. 2007; 6(2): 181-6.

LISBOA T, Faria M, Hoher J. A, Borges L. A. A, Gómez J, Schifelhain L, *et al*. Prevalência de infecção nosocomial em Unidades de Terapia Intensiva do Rio Grande do Sul. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2007;19(4):414-20.

KALAI, S, JOUAUHIA, W, MAHJOUBI, F, GHOZZI, R, THABET, L, Bem REJEB, S; HAMMAMI, A; KECHRIS, A; BEM HASSEM, A. *Pseudomonas aeruginosa*: a multicentric study os antibiotic resistance (1999-2000). *Tunis Med*, 82 (12): 1070-4 2004

KARLOWSKY, J. A.; DRAGHI, D. C.; JONES, M. E. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antim Ag Chemother*, n. 47, p. 1681-8, 2003.

KOMINOS S. D. COPELAND C. E, GROSIK B, POSTIC B. Introduction of *Pseudomonas aeruginosa* into a hospital via vegetables. **Appl Microbiol** 1972; 24(4): 567-70.

KONEMAN, E. W. *et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

MACGOWAM J. E. Jr (2006) Resistance in no fermenting gram-negative bacteria: multigrug resistance to the maximum. **Am J med**, 119, S29-36; discussion S62-70.

MAHENTHIRALINGAM E, Vandamme P. (2005) Taxonomy and pathogenesis of the Burkholderia cepacia complex. **Chron Respir Dis**, 2, 209-217.

MARQUES P, B. *et al.* Perfil de suscetibilidade à antibióticos de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no centro de diagnóstico da Unimed Belém – Pará. *RBAC*, vol. 39(3): 175-177, 2007 175.

MENEZES, E. A. *et al.* Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de bacilos Gram-negativos não fermentadores isolados no Laboratório de Patologia Clínica Dr. Edilson Gurgel, Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza-CE. *RBAC*, v. 36, n. 4, p. 209-12, 2004.

MORAES, A. A. P. Santos, R. L. D. Infecções em UTI geral de um hospital universitário. *RBTI - Revista Brasileira Terapia Intensiva*, Vol. 15, n. 4 - Outubro/Dezembro 2003.

MURRAY P. R, Baron E. J, Jorgense J. H, Pfarller M. A, Yolker R. H. **Manual of clinical microbiology** 8 ed ASM Presss, Washington,DC 2003.

OPLUSTIL C. P, ZOCCOLI C. M, TOBOUTI N. R, SINTO S. I. **Procedimentos básicos em microbiologia clinicam**. 2º Ed. Editora Sarvie são Paulo, 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Vencendo a resistência microbiana [texto na Internet]. [citado 2003 Jan 31]. OMS; 2000 [World Health Report on Infections Diseases 2000]. Disponível em: http://www.ccih.med.br/vencendo_resistencia.html.

PALERRONI N, J. Introduction to the aerobic pseudomonads. In: Collier L, Balows A, Sussman M., editors. Topley & Wilson's, **microbiology and microbial infections-Systematic bacteriology**. 9. New York: 1998.

PALLENORI N. J, Bradbury JF. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia*, (Hugh 1980) Swings et al. 1983. **Int J Syst Bacteriol** 1993; 43(3):606-9.

PELLEGRINO F. L, Teixeira L. M, Carvalho Md. M. G, Aranha N. S, Pinto D. O, Mello Sampaio J. L *et al.* Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Microbiol**. 2002; 40(7): 2420-4.

PAVIANE E, R. *et al.* Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. V. 15, nº 11-12, (Nov/Dez 2003 - Jan/2004).

PIRES E. J. V. C. *et al.* Análise epidemiológica de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2009; 21(4): 384-390.

PITT T. L. *Pseudomonas, Burkholderia* and related genera. In: Collier L, Balows A, Sussman M., editors. **Topley & Wilson's microbiology and microbial infections-Systematic bacteriology**. 9. New York: 1998.

PITTET D, *et al.* bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. **Arch. Intern. Med.** 159: 821-826, 1999b.

POLLACK M. *P.aeruginosa*. In: Mandell DaB, editor. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 5. New York: Chuchill Livingstone; 2000.

PONTES, Vânia Maria *et al.* Perfil de Resistência de *Acinetobacter baumannii* a Antimicrobianos nas Unidades de Terapia Intensiva e Semi-Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. **RBAC**, vol. 38(2): 123-126, 2006.

PROBAC DO BRASIL. **Probac do Brasil- Kit não fermentador**. Disponível em http://www.probac.com.br/bulas/kit_nf.pdf. Acessado em 11 de abril de 2012.

RODRIGUES, E. A. C. *et al.* **Infecções hospitalares: prevenção e controle**. Sarvier. São Paulo. 669 p.2003.

SADER H. S, Mendes R. E, Gales A. C, Jones R. N, Pfaller M. A, Zoccoli C, Sampaio J. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em hospitais brasileiros: resultados do Programa SENTRY, 1997 e 1998. *J Pneumol*. 2001; 27(2): 59-67.

SANTOS L. F. Identificação de bastonetes gram negativos não fermentadores. **Manual de microbiologia clínica**, 4ªed. João Pessoa-PB, 2006 p 221, 222, 223.

SANTOS FILHO, L, SANTOS, I. B, ASSIS, A. M. L, XAVIER, D. E. Determinação da produção de metalo-betalactamase em de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em João Pessoa na Paraíba. *J. Bras Patologia*. 38: 291-96.2002.

SHAH, S. S, GALLAGHER, P. G. Complications of conjunctivitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* in a newborn intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*, n. 17, p. 97-102, 1998.

SILVA F. L. V, Tateno A. F, Martins K. M, Azzuz Chernishev A. C, de Oliveira Garcia D, Haug M, *et al.* The combination of PCR and serology increases the diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* colonization/ infection in cystic fibrosis. **Pediatre Pulmonol**.2007; 42(10): 940-6.

SKERMAN V. B. D, M.C. Gowa V, Sneathl P. H. A.; Approved lists of bacterial names. **Int J Syst Bacterial** 1980.

TUMITAN, A. R, PIZZOLITTO, A.C. Padrão de sensibilidade a antimicrobianos de bacilos gram negativos não fermentadores isolados de materiais clínicos de pacientes em Presidente Prudente – SP. Ver. Ciênc.farm, 24 (2): 131-139, 2003.

VOLK W, Benjamin D, Kadner R, Parsons J. T. Essentials of Medical Microbiology. 4 ed. **Grand Rapids, J. B. Lippincott**, 1999.