

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE AMOSTRAS DE *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS DE INFECÇÕES HOSPITALARES, EM TERESINA-PI.

Antonio José Silva Meneses Filho (aluno ICV), Avilnete Belém de Sousa Mesquita (colaboradora, UFPI), Emília Teresa Canuto Baia (co-orientadora), Josie Haydée Lima Ferreira Paranaguá (orientadora, Depto de Parasitologia e Microbiologia - UFPI).

Introdução

Pseudomonas aeruginosa pertence à família *Pseudomonadaceae* e caracteriza-se como um bacilo gram-negativo, reto ou ligeiramente curvo, aeróbio estrito, móvel e produtor de pigmentos fluorescentes, mais comumente piocianina e pioverdina. Embora seja um microorganismo que raramente causa infecções em indivíduos saudáveis, é frequentemente isolado de amostras clínicas em imunocomprometidos, especialmente no ambiente hospitalar.

P. aeruginosa é o bacilo gram-negativo não fermentador mais encontrado nas infecções hospitalares. A infecção por este patógeno costuma ocorrer em qualquer local onde existe tendência ao acúmulo de umidade – traqueostomia, cateteres de demora, queimaduras, orelha externa (“ouvido de nadador”) e feridas cutâneas exsudativas.

A ampla distribuição ambiental de *Pseudomonas* tornou-se possível devido a uma série de fatores, como: habilidade de utilizar uma série de substratos orgânicos como fontes de carbono, capacidade de formar biofilmes, colonizar nichos ecológicos nos quais a oferta de nutrientes é limitada, e sobreviver longos períodos em ambientes úmidos. Soma-se a todas essas propriedades seu amplo espectro de resistência antibiótica, podendo ser resistente a diferentes classes de antimicrobianos, inclusive cefalosporinas de terceira e quarta gerações e carbapenêmicos. Essa resistência é devida a mecanismos como a hiperexpressão de bombas de efluxo, a perda ou expressão reduzida de proteínas de membrana externa e, principalmente, a produção de enzimas β -lactamases, dentre as quais se destacam as β -lactamases de espectro ampliado - ESBL (com ação hidrolítica às cefalosporinas de 3ª e 4ª geração e ao aztreonam) - e as metalo- β -lactamases - MBL (com ação hidrolítica aos carbapenêmicos, mas não ao aztreonam).

Este trabalho tem por objetivo avaliar e caracterizar o perfil epidemiológico e de resistência aos antimicrobianos de cepas de *P. aeruginosa* isoladas de infecções hospitalares na cidade de Teresina-PI.

Metodologia

Estudo de caráter transversal utilizando-se de 50 cepas de *Pseudomonas* isoladas de infecções em três hospitais de Teresina-PI no período de agosto de 2011 a julho de 2012. Essas amostras foram obtidas em um laboratório de análises clínicas, inoculadas em ágar Gelose inclinada e transportadas sob refrigeração para o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia do Departamento de Parasitologia e Microbiologia da UFPI, onde foi possível reisolá-las em ágar Cetrimide e confirmá-las como *P. aeruginosa* por testes bioquímicos (coloração de Gram, crescimento a 42°C, motilidade, citocromo-oxidase, redução de nitrato, descarboxilação da arginina e lisina, oxidação e fermentação da glicose).

A suscetibilidade a antimicrobianos foi avaliada através do teste de difusão em ágar, segundo recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), e a detecção de ESBL foi feita

pela técnica de aproximação de disco entre o ácido clavulânico e marcadores (cefotaxima, ceftazidima, cefepime e aztreonam) a fim de se observar a formação de uma “zona ghost”. Para confirmação da produção de ESBL, combinou-se o ácido clavulânico a um dos marcadores que manifestara deformação (zona ghost).

Amostras resistentes aos β -lactâmicos (exceto aztreonam) e aos carbapenêmicos foram avaliadas quanto à produção de MBL através do teste de difusão em ágar. Discos de ceftazidima e imipenem foram posicionados a 10mm de um disco estéril de papel-filtro impregnado com 5 μ L de EDTA 100mM. A distorção e a ampliação do halo de inibição de crescimento da bactéria sugeriu a produção de MBL.

Resultados e Discussão

De 50 cepas isoladas, 49 tiveram sua identificação bioquímica e perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos compatíveis com a espécie *P. aeruginosa*. Apenas uma não se enquadrou nesse perfil pela análise de provas bioquímicas.

Verificou-se que a maioria das amostras (38,8%) foram obtidas de secreções traqueais, ratificando o que foi observado por Sader *et al*, em 2001, no qual *P. aeruginosa* foi a causa mais frequente de infecções respiratórias. Alguns estudos sugerem que o sítio de infecção é um fator que influencia na resistência antimicrobiana entre os patógenos nosocomiais (PAVIANI, 2004). Entretanto, não foi possível evidenciar neste trabalho essa relação de dependência comparando-se o trato respiratório e os demais sítios de menor frequência, possivelmente devido ao pequeno número de amostras.

Penicilinas com atividade anti-*Pseudomonas*, cefalosporinas de amplo espectro, monobactâmico, carbapenêmicos e fluoroquinolonas (particularmente ciprofloxacina) são as melhores opções para tratamento de infecções por *P. aeruginosa*. Para amostras multirresistentes, a polimixina é a melhor opção disponível, embora possa causar nefrotoxicidade (GALES, 2004). De maneira geral, não existem drogas de escolha para a terapia de infecções por *P. aeruginosa*. Entretanto, visando minimizar ou evitar a resistência a certas drogas, opta-se por um tratamento com a combinação de antibióticos.

O perfil de sensibilidade das cepas analisadas neste trabalho manifestou um padrão de multirresistência. Isso indica que houve uma baixa susceptibilidade a múltiplos fármacos decorrente de mecanismos de resistência intrínseca associados a mecanismos de resistência adquiridos pelo patógeno, como a produção de β -lactamases (ESBLs, outras β -lactamases plasmidiais de classe A, MBLs e β -lactamases cromossômicas), permeabilidade reduzida a antibióticos e presença de bombas de efluxo.

Dentre as penicilinas, testaram-se apenas piperacilina/tazobactam e ampicilina/sulbactam. Esta demonstrou não ter efeito sobre *P. aeruginosa*, atuando assim como um antimicrobiano de controle e diferenciando a espécie em questão dos demais anaeróbios, aos quais tem efeito. Piperacilina/tazobactam (PPT) apresentou-se como o segundo fármaco mais ativo, com 14,29% das cepas resistentes.

Em acordo com a literatura, nenhuma das cefalosporinas de primeira e segunda geração testadas neste trabalho (cefalotina e cefoxitina, respectivamente) apresentou ação contra as cepas de

P. aeruginosa. Entretanto, observou-se uma atividade efetiva naquelas de terceira e quarta geração. Ceftazidima e cefoperazona são as únicas cefalosporinas de terceira geração que apresentam atividade útil contra *P. aeruginosa*. Isso explica o fato de 100% das cepas avaliadas apresentarem-se resistentes à cefotaxima, enquanto apenas 69,39% mostraram resistência à ceftazidima, a cefalosporina de maior espectro de ação. O cefepime possui uma atividade comparável à da ceftazidima; entretanto, verificou-se uma baixa ação desse antimicrobiano nas amostras avaliadas (77,55% de cepas resistentes), expressando assim um alto padrão de resistência das cepas em questão.

A formação de *zona ghost* na aproximação do ácido clavulânico e algum dos marcadores e a posterior confirmação por disco combinado puderam estimar um total de 17 amostras (34,7%) produtoras de ESBL, as quais mostraram-se susceptíveis à ação da piperacilina/tazobactam e, algumas delas, da amicacina, do aztreonam e dos carbapenêmicos (meropenem e imipenem).

Dentre os carbapenêmicos, o ertapenem não é ativo o suficiente contra *P. aeruginosa*, conforme pôde-se observar em 95,9% (n=47) das cepas avaliadas. O meropenem exibe uma atividade semelhante ao imipenem, embora tenha expressado uma atividade inferior a este, com 61,2% (n=30) de cepas resistentes ante 55,1% (n=27) de resistência ao imipenem.

Verificou-se que de 27 amostras resistentes ao imipenem e ao meropenem (todas também resistentes à ceftazidima), apenas 05 (18,5%) foram sensíveis ao aztreonam e exibiram distorção no halo de inibição de crescimento da bactéria quando aproximando imipenem e ceftazidima ao disco com EDTA. Assim, foi possível caracterizar essas cepas como produtoras de MBL, tornando-se viável, entretanto, uma confirmação por técnicas moleculares.

A amicacina apresentou-se como o aminoglicosídeo de maior espectro de ação (44,9% de cepas resistentes), sendo, portanto, o medicamento de escolha do grupo em casos de resistência a gentamicina e tobramicina. Observou-se ainda que 73,5% das amostras foram resistentes à gentamicina.

A susceptibilidade das cepas analisadas às fluoroquinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina) demonstrou um alto padrão de resistência (73,5% de amostras resistentes), provavelmente devido a seu amplo uso em ambiente laboratorial e hospitalar.

A polimixina B foi o antimicrobiano testado de maior ação. Embora raro, já é possível encontrar cepas resistentes a esse fármaco, como pôde ser observado em duas amostras deste trabalho. Entretanto, a técnica de difusão de disco revela erros de susceptibilidade às polimixinas, sendo necessário avaliá-las com Etest.

Os demais antimicrobianos testados (sulfazotrim, minociclina e tigeciclina) atuaram como controle de diferenciação da espécie estudada em relação às demais de sua família.

Conclusão

O isolamento e a avaliação antimicrobiana das cepas avaliadas foram fundamentais para demonstrar a alta prevalência de *P. aeruginosa* multirresistente no ambiente hospitalar de Teresina-PI e para inferir os principais sítios de origem clínica deste patógeno.

Observaram-se ainda padrões de resistência baseados na produção de ESBL e MBL, os quais podem ter relação com as más prescrições médicas. Estes dados, de maneira indireta,

expressam que o uso indiscriminado de antibióticos facilita a disseminação da resistência e limita a terapia medicamentosa a fármacos com grandes efeitos adversos aos pacientes.

Apoio: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Piauí - FAPEPI

Referências

GALES AC, TORRES PL, VILARINHO DS et al - **Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital.** *Braz J Infect Dis*, 2004;8:267-271

PAVIANI, E. R.; STADNIK, C. B.; HEINEK, I. **Estudo da Epidemiologia e Perfil de Sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*.** *Infarma*, v.15, n.11-12, 2003/2004.

SADER HS, CASTANHEIRA M, MENDES RE et al - **Dissemination and diversity of metallo-beta-lactamases in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program.** *Int J Antimicrob Agents*, 2005;25:57-61.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*. Infecções nosocomiais. Multirresistência.