

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE BIOMEDICINA

BRUNNA CARVALHO DE MEDEIROS

CULTURA DE VIGILÂNCIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

NATAL

Novembro/2018

CULTURA DE VIGILÂNCIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

por:

BRUNNA CARVALHO DE MEDEIROS

Monografia Apresentada à
Coordenação do Curso de
Biomedicina da Universidade
Federal do Rio Grande do
Norte, como Requisito Parcial à
Obtenção do Título de Bacharel
em Biomedicina.

Orientador: Professor Dr^o Renato Motta Neto

Natal

Novembro/2018

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - Centro de Biociências - CB

Medeiros, Brunna Carvalho de.

Cultura de vigilância: uma revisão bibliográfica / Brunna Carvalho de Medeiros. - Natal, 2018.

32 f.: il.

Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Curso de Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Renato Motta Neto.

1. Bactéria - Monografia. 2. Resistência - Monografia. 3. Culturas de vigilâncias - Monografia. 4. IRAS - Monografia. 5. Unidades de Terapia Intensiva - Monografia. I. Motta Neto, Renato Motta. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 616-008.87

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE BIOMEDICINA

A Monografia **Cultura de vigilância: uma revisão bibliográfica**

elaborada por **Brunna Carvalho de Medeiros**

e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

BACHAREL EM BIOMEDICINA

Natal, 14 de novembro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Motta Neto

Departamento de Microbiologia e Parasitologia-CB/UFRN

(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Cecília Maria de Carvalho Holanda Xavier

Departamento de Microbiologia e Parasitologia-CB/UFRN

(1^o Examinador)

Isabela Maria Fortaleza Neves Bomfim

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – CB/UFRN

(2^o Examinador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, Adriana Margareth Carvalho de Medeiros pela paciência que teve comigo durante essa jornada, pelo amor incondicional, pelo apoio que ela me deu em tempo integral, pelo empréstimo do carro nas idas e vindas da universidade kkkkk, por tudo mesmo, se não fosse você mãe, eu não estaria aqui. Te amo!

Aos meus amigos que sempre estavam lá pra me acalmar e me distrair quando a ansiedade queria tomar conta de mim.

Agradeço também ao professor Renato por me apresentar a uma bacteriologia mais atrativa com rotina de bancada, o que acabou me ajudando a descobrir uma paixão pela área da bacteriologia médica. E, também, por aceitar o convite para ser meu orientador de TCC.

Por ultimo, mas definitivamente não menos importante, a Bela que me ajudou em todas as etapas da construção deste trabalho, me acalmou todas as vezes que eu quis entrar em pânico, se o TCC é real hoje é porque eu segui seu exemplo, obrigado de coração.

RESUMO

A presença de bactérias multirresistentes na pele e mucosas de pacientes internados é motivo de preocupação por aumentar as chances de desenvolvimento de uma infecção grave. As culturas de vigilância são essenciais na identificação precoce desses patógenos, para assim minimizar sua propagação em ambiente hospitalar. Este trabalho teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica através de bases de dados científicos sobre cultura de vigilância e microrganismos com maior relevância clínica encontrados em UTIs, e expor dados que foram coletados de culturas de vigilância feitas em pacientes internados na UTI do Hospital Giselda Trigueiro no período de Agosto a Outubro de 2018. Foram utilizados métodos de identificação fenotípica, de sensibilidade aos antibióticos e testes fenotípicos de indicação de produção de beta-lactamases. As bactérias que predominaram dentre as outras foram *Klebsiella pneumoniae* com 58,3% (14/24) e *Pseudomonas aeruginosa* com 16,6% (4/24). 95,8% (23/24) das bactérias isoladas expressavam algum perfil de multirresistência, 65,2% (15/23) das bactérias eram produtoras de ESBL, 26,08% (6/23) eram produtoras de MBL e 8,69 (2/23) foram identificados com *Staphylococcus* coagulase-negativa resistente à Oxacilina. Estes elevados índices refletem a tendência epidemiológica atual de desenvolvimento e prevalência de bactérias multirresistentes, tornando-se indispensável a implementação de medidas de vigilância, isolamento e racionalização do uso de antibióticos, para que assim a disseminação desses patógenos seja minimizada.

Palavras-chave: Resistência; Culturas de vigilâncias; IRAS, Unidades de Terapia Intensiva.

ABSTRACT

The presence of multiresistant bacteria in the skin and mucous membranes of intern patients is a concern to increase the chances of developing a serious infection. Surveillance cultures are essential in the early identification of these pathogens, and thus minimize their spread in the hospital environment. This work aimed to make a bibliographical review through scientific databases on culture of surveillance and microorganisms with greater clinical relevance found in ICUs, and to expose data that were collected from surveillance cultures made in patients admitted to the ICU of Hospital Giselda Trigueiro in the period from August to October 2018. Phenotypic identification, antibiotic susceptibility and phenotypic tests for the indication of beta-lactamase production were used. The predominant bacteria among others were *Klebsiella pneumoniae* with 58.3% (14/24) and *Pseudomonas aeruginosa* with 16.6% (4/24). 95,8% (23/24) of the isolated bacteria expressed some multiresistance profile, 65.2% (15/23) of the bacteria were ESBL producers, 26.08% (6/23) were MBL producers and 8,69 (2/23) were identified as Oxacillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus*. These high indexes reflect the current epidemiological trend of the development and prevalence of multiresistant bacteria, making it imperative to implement measures of surveillance, isolation and rationalization of the use of antibiotics, so that the dissemination of these pathogens is minimized.

Keywords: Resistance; Active Surveillance; HAI; Intensive Care Units.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Bactérias identificadas por sítio de coleta.....21

Tabela 2: Perfil de resistência encontrado por sítio.....22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Suspensão bacteriana 0,5 na Escala McFarland.....	17
Figura 2: Organização dos discos de antimicrobianos.....	18
Figura 3: Visualização de zona fantasma.....	19
Figura 4: Visualização de aumento no halo de sensibilidade no teste do EDTA.....	19
Figura 5: Visualização de zona de entroncamento próximo ao disco de Meropenem ao centro.....	20

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	10
1.1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)	11
1.2 ENTEROCOCCUS SPP. RESISTENTE À VANCOMICINA (VRE).....	12
1.3 ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO (ESBL)	12
1.4 KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUTORA DE CARBAPENEMASE ...	13
1.5 PSEUDOMONAS AERUGINOSA E ACINETOBACTER SP. PRODUTORAS DE METALO-BETA-LACTAMASES.....	13
2.0 OBJETIVO GERAL	14
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3.0 METODOLOGIA	15
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.0 CONCLUSÕES	24
6.0 REFERÊNCIAS	26

1.0 INTRODUÇÃO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são caracterizadas como toda infecção adquirida após a admissão do paciente no hospital. Ela pode se manifestar durante o período de internação, ou até mesmo após sua alta, quando puder ser relacionada à permanência hospitalar. Já se sabe que cerca de 70% das IRAS são causadas por bactérias provenientes do microbioma do próprio paciente, como os *Staphylococcus spp.*, os *Enterococcus spp.*, as Enterobactérias e os Gram-negativos não fermentadores (MENDES, 2016). A cultura de vigilância tem como objetivo isolar e identificar microrganismos multirresistentes nos pacientes, para que as estratégias de contenção sejam imediatamente implantadas, e desta forma evitar uma situação de surto no ambiente hospitalar (ALMEIDA, 2016).

A resistência bacteriana é resultado da pressão seletiva que ocorre devido ao uso irresponsável de antibióticos de amplo espectro, que irão devastar o microbioma do paciente, selecionando as bactérias mais resistentes. O aumento do tempo de permanência dos pacientes devido à aquisição de uma infecção gera um impacto financeiro considerável, pois em países desenvolvidos calcula-se um prejuízo de cerca de 10 bilhões de dólares por ano. Em países em desenvolvimento é difícil calcular um impacto fidedigno por falta de dados devido a escassez de programas de vigilância epidemiológica, mas mesmo com poucos dados disponíveis já é possível estimar uma incidência de IRAS que chega a ser 19 vezes maior em relação a países desenvolvidos (BRAGA, 2015).

Os principais microrganismos pesquisados em culturas de vigilância são: *Staphylococcus aureus* resistente à Oxacilina (MRSA), *Enterococcus spp.* Resistente à Vancomicina (VRE), *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e Enterobactérias produtoras de carbapenemases (KPC) (GAEDICKE, 2018).

No Brasil, os isolados clínicos mais encontrados em culturas de vigilância na admissão de pacientes são: *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL e MRSA. Um estudo feito em 2017 com pacientes de unidades de terapia intensiva (UTIs) de Natal, no Rio Grande do Norte, mostrou que o Estado segue a tendência nacional, 89% das

amostras encontradas de *Staphylococcus* spp. apresentavam resistência à Oxacilina, 39% da enterobactérias encontradas eram ESBL, 57,5% das *P. aeruginosa* eram produtoras de AmpC e 80% das *Acinetobacter* spp. eram resistentes aos carbapenêmicos (FRANCO, 2017).

O mundo inteiro vem travando uma verdadeira guerra contra as bactérias com perfil de resistência a antimicrobianos, especialmente em ambiente hospitalar onde elas representam uma grande ameaça à saúde do paciente. A cultura de vigilância tem um papel importantíssimo na prevenção da transmissão dessas bactérias, ao alertar a equipe médica se alguma bactéria de relevância clínica estiver presente naquele paciente. Esse estudo tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre culturas de vigilância e demonstrar quais foram os isolados mais frequentes encontrados da unidade de terapia intensiva do Hospital Giselda Trigueiro.

1.1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)

O *Staphylococcus aureus* é um coco Gram-positivo que faz parte do microbioma da pele humana. É encontrado principalmente em dobras de pele, axila, vagina e narinas, podendo se comportar como um patógeno oportunista. Ele é o microrganismo mais importante dos estafilococos, o único com coagulase positiva encontrada em humanos. As primeiras cepas de MRSA surgiram nos anos 1980 com o gene *mecA*, que é o responsável pela alteração na proteína de ligação à penicilina (PBP), causando uma baixa afinidade pela penicilina impedindo sua ação e permitindo que a parede celular bacteriana permaneça íntegra (BOMFIM, 2017).

Em 2011, um gene homólogo ao *mecA* foi encontrado e nomeado como *mecC*, desde então ele vem sendo isolado em diversos países. A detecção desse gene possibilita a identificação de cepas raras que apresentam baixos níveis de resistência a Meticilina devido a alterações na PBP (MODSA - *S. aureus* moderadamente resistente a Meticilina), e superprodução de beta-lactamases (BORSA - *S. aureus* borderline Oxacilina resistente) (OTEO et al., 2017).

1.2 ENTEROCOCCUS SPP. RESISTENTE À VANCOMICINA (VRE)

Os *Enterococcus* fazem parte do microbioma natural do trato gastrointestinal humano, ultimamente tem chamado atenção pelo aumento de sua incidência em IRAS, sendo o *Enterococcus faecium* a espécie mais encontrada em isolados clínicos hospitalar. O VRE foi isolado pela primeira vez no Brasil em uma cultura de vigilância de um paciente com leucemia linfóide aguda em 1998 em um hospital de São Paulo (FURTADO et al., 2005).

Esses cocos Gram-positivos possuem resistência intrínseca a diversos antibióticos, como Cefalosporinas, Clindamicina e Aminoglicosídeos. A resistência à Vancomicina pode ser adquirida por transmissão plasmidial ou transposons, *cluster* do gene vanA. O mecanismo de resistência ocorre por mudança no sítio de ação gerando uma ligação fraca à Vancomicina, impedindo a droga de bloquear a síntese da parede celular (FRAIMOW; TSIGRELIS, 2011).

1.3 ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETALACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO (ESBL)

A família Enterobacteriales é formada por bactérias Gram-negativas que colonizam o trato gastrointestinal humano. São pouco exigentes nutricionalmente, e são caracterizadas por fermentarem glicose, não formam esporos, reduzem nitrato a nitrito, anaeróbias facultativas e são oxidase negativa. Sua identificação é feita por diversas provas bioquímicas (MACEDO, 2016).

As Enterobactérias produtoras de ESBL são bactérias comumente encontradas em ambiente hospitalar. Em UTIs as bactérias produtoras de ESBL encontradas com maior frequência são a *Klebsiella pneumoniae* e a *Escherichia coli*. O mecanismo de resistência ocorre pela ação das enzimas beta-lactamases que rompem o anel beta-lactâmico e inativam o antibiótico. As ESBL hidrolisam Monobactâmicos (como Aztreonam), Cefalosporinas de terceira geração (como Ceftazidima e Ceftriaxona) e na maioria das vezes de quarta geração (como Cefepima) também. Na maioria das vezes são inativadas por inibidores de beta-lactamases, como o Clavulanato, o Sulbactam e o Tazobactam, e são sensíveis aos carbapenêmicos.(SILVA; LINCOPAN, 2012).

1.4 KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUTORA DE CARBAPENEMASE

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa que pode ser encontrada colonizando orofaringe e intestino de indivíduos imunocompetentes. Ela pode apresentar um perfil de resistência preocupante quando produz carbapenemases, podendo expressar resistência a até 95% dos antimicrobianos que normalmente são utilizados no tratamento de doenças infecto-contagiosas (MOREIRA, 2011). A *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é uma enzima que hidrolisa todos os agentes beta-lactâmicos, como Cefalosporinas, Penicilinas, Monobactâmicos e Carbapenêmicos, e são sensíveis apenas aos inibidores de beta-lactamases (ARCANJO, 2015).

O termo “KPC” está associado a *Klebsiella pneumoniae* pois foi nessa espécie de bactéria que a enzima foi encontrada pela primeira vez, em 1996 nos Estados Unidos. Apesar da KPC ainda ser encontrada majoritariamente em *K. pneumoniae*, ela já foi encontrada em quase todas as espécies de importância clínica da família enterobacteriales (SEIBERT et al., 2014).

1.5 PSEUDOMONAS AERUGINOSA E ACINETOBACTER SP. PRODUTORAS DE METALO-BETA-LACTAMASES

Os Gram-negativos não fermentadores, como a *Acinetobacter* sp. e a *Pseudomonas aeruginosa*, estão amplamente distribuídos no ambiente, estando presentes em rochas, no solo, na água, assim como em ambientes hospitalares e em seus equipamentos, como aparelho de ventilação pulmonar. Ambas as bactérias possuem resistência intrínseca a um número considerável de antibióticos, além de possuírem diversos mecanismos que facilitam o surgimento de resistência adquirida a quase todas as classes de antibióticos. Um desses mecanismos é a degradação enzimática dos Carbapenêmicos pelas carbapenemases de classe B, as metalo-beta-lactamases (MBLs), que possuem um metal (normalmente o zinco) como cofator de sua atividade catalítica (FRAIMOW; TSIGRELIS, 2011). As MBLs hidrolisam todos os beta-lactâmicos, menos o Aztreonam, e não são afetadas pelo ácido Clavulânico nem pelo Tazobactam (FRANCO, 2017).

2.0 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão bibliográfica através de bases de dados científicos sobre culturas de vigilância e microrganismos com maior relevância clínica encontrados nas unidades de terapia intensiva e expor dados a partir de culturas de vigilância feitas em pacientes da UTI do Hospital Giselda Trigueiro.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conceituar IRAS e expor seus aspectos epidemiológicos e impacto financeiro;
- Revisar a biologia dos Gram-positivos relacionados às IRAS;
- Revisar a biologia das enterobactérias e dos Gram-negativos não fermentadores relacionados às IRAS;
- Discutir sobre os mecanismos de resistência do VRE, KPC, MBL, ESBL e MRSA;
- Expor dados coletados de culturas de vigilância na UTI do Giselda Trigueiro;

3.0 METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre cultura de vigilância e os microrganismos de maior relevância clínica encontrados através de base de dados científicos como artigos, teses e dissertações. As palavras-chave usadas para pesquisa foram: IRAS, cultura de vigilância, MRSA, VRE, enterobactérias, MBL, ESBL, KPC. As palavras-chave em inglês usadas para pesquisa foram: HAI, surveillance culture, MRSA, VRE, ESBL, KPC e MBL. Os espécimes clínicos foram coletados no período de Agosto de 2018 a Outubro de 2018 seguindo a seguinte metodologia:

Local de estudo: Hospital Giselda Trigueiro - Unidades de Terapia Intensiva

Critério inclusão: Pacientes internados nas UTIs (período superior a 1 semana)

Período de coleta: Agosto de 2018 a Outubro de 2018

Coleta do espécime clínico:

- *Swab* nasal: Foi inserido um *swab* pelo menos 1cm dentro das narinas, fazendo movimentos rotatórios na mucosa nasal por pelo menos 10 a 15 segundos. Após isso o *swab* foi colocado em meio de transporte específico (meio Cary-Blair) e encaminhado ao laboratório.
- *Swab* retal: Foi utilizado *swab* de algodão, certificando-se de que a ponta da haste que suporta o algodão está bem revestida. O *swab* foi umedecido com salina estéril e inserido no esfíncter retal, fazendo movimentos rotatórios. Ao retirar, certificou-se a presença de coloração fecal no algodão. A amostra foi identificada e colocada em meio de transporte (Cary-Blair) e encaminhada ao laboratório.
- *Swab* axilar: O *swab* foi umedecido com soro fisiológico estéril e passou-se na região da axila, fazendo movimentos rotacionais. A amostra foi identificada e colocada no meio de transporte (Cary-Blair) e encaminhada ao laboratório.

Após coleta os *swabs* foram encaminhados ao Laboratório de Micobactérias (LABMIC) – DMP – CB -UFRN, onde foram processados. O tempo de coleta e semeio não ultrapassou duas horas.

Isolamento e Identificação de Bactérias Aeróbias e Anaeróbias

Facultativas: Para o isolamento de bactérias aeróbias estritas e anaeróbias facultativas foram utilizados meios e procedimentos recomendados por Murray, 2009. Os 3 *swabs* coletados em meio para transporte Cary-Blair foram semeados em tubos separados de BHI caldo (Brain Heart Infusion Broth), e deixados na estufa por 2h, a fim de obter um crescimento bacteriano significativo para o sucesso do isolamento. Após isso foi feito o semeio deste caldo BHI em Ágar Sangue (BHI ágar suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro) e Ágar Mac Conkey, com o intuito de isolamento primário. Após a semeadura, todo esse material foi incubado em estufa bacteriológica a 35/37°C durante 24 à 48h.

Identificação de Cocos Gram-positivos: Após a confirmação das características coloniais e morfotintoriais (coloração de Gram Kopff-beerman), e afinidade de crescimento em meios de cultura, foram realizadas provas como: catalase, coagulase em lâmina e tubo, teste do caldo hipercloretado, com objetivo de identificação dos gêneros e espécies bacterianas.

Identificação de Bacilos Gram-negativos: Após a confirmação das características coloniais e morfotintoriais (coloração de Gram Kopff-Beerman), e afinidade de crescimento em meios de cultura, foram realizadas provas bioquímicas de identificação.

Estudo do Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos: O estudo do perfil de sensibilidade a antimicrobianos foi realizado com as cepas isoladas e identificadas, constituídas por bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. Para cada cepa foi realizado um antibiograma utilizando a técnica de disco difusão em ágar (CLSI, 2018) (BrCAST, 2018). Com uma alça microbiológica tocou-se a superfície de 4 a 5 colônias bacterianas de aspecto similar, que se desenvolverão bem isoladas no respectivo meio. Após isto o inóculo foi transferido para um tubo contendo 5ml de solução salina ajustando a turvação para 0,5 da escala MacFarland, como pode ser visto na figura 1, que corresponde a uma quantidade de 10^8 ufc/ml.

Figura 1: Suspensão bacteriana 0,5 na Escala McFarland.



Fonte: Laboratório de Micobactérias, DMP, UFRN.

Foi então submergido a esta suspensão bacteriana um *swab* de algodão estéril e antes de retirá-lo eliminou-se todo o excesso de líquido agitando-o contra a parede interna do tubo. Após este procedimento o *swab* foi inoculado à superfície seca do meio de cultura ágar Müller-Hinton contido em uma placa mantido à temperatura ambiente. Com o objetivo de distribuir uniformemente o inóculo, o ágar foi estriado com o *swab* em pelo menos três direções, girando a placa em ângulos de aproximadamente 60 graus após cada estria. Passado este procedimento, a tampa foi recolocada na placa e deixada em repouso durante 5 minutos, para a secagem do ágar Muller-Hinton, antes da colocação dos discos. A escolha dos discos obedeceu aos critérios estabelecidos pelo manual CLSI 2018 e BrCAST 2018. Os discos de antibióticos foram colocados manualmente sobre a superfície do meio (figura 2), com o auxílio de pinça estéril; colocados aproximadamente 20 mm um do outro e a 15 mm da parede da placa evitando assim que as zonas de inibição de crescimento se sobreponham ou se estendam até a margem do ágar.

Figura 2: Organização dos discos de antimicrobianos.

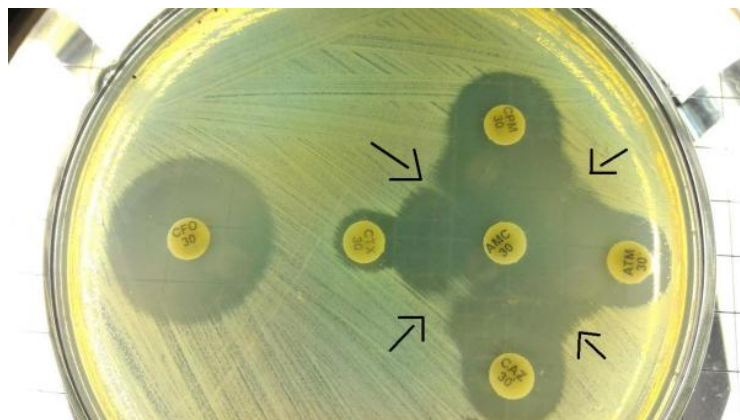


Fonte: Laboratório de Micobactérias, DMP, UFRN.

Cada disco foi pressionado à superfície do ágar com a ponta da pinça. Após esta etapa as placas foram incubadas a 35°C em estufa bacteriológica por aproximadamente 18/24hs. Após este período, realizou-se a medição do diâmetro da zona de inibição do crescimento ao redor de cada disco de antibiótico, com o auxílio de uma régua. Esta medição foi realizada utilizando-se uma fonte de luz refletida observada contra um fundo negro e opaco.

Identificação de ESBL: A avaliação de ESBL em enterobactérias foi feita com o teste de disco aproximação. Em uma placa de ágar Müller-Hinton, à temperatura ambiente, o inóculo foi semeado da mesma maneira que o teste anterior. Após isso, foi colocado um disco de Amoxicilina/Ácido Clavulânico (30 µg) no centro da placa, ao seu redor foram colocados discos de Ceftriaxona (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefepime (30 µg) e Aztreonam (30 µg) a 20mm de distância. A placa foi incubada a 35° por 16 a 18 horas. O teste é considerado positivo quando há distorções nos halos ou zonas fantasma entre o disco contendo o inibidor de beta-lactamase e os discos contendo substrato (figura 3).

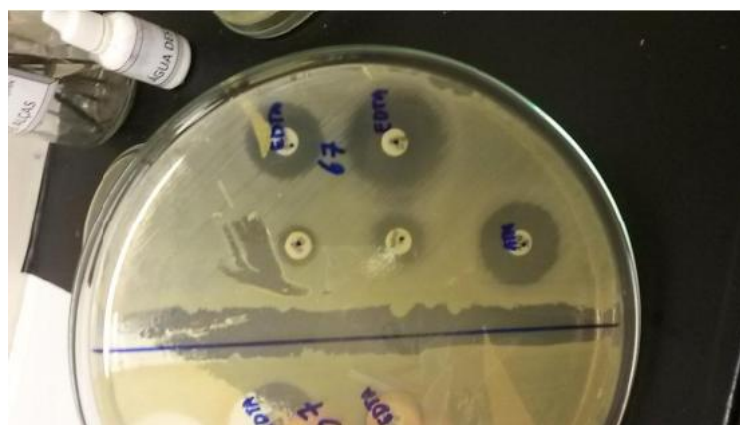
Figura 3: Visualização de zona fantasma (setas) em relação ao disco de Amoxicilina + Ácido Clavulânico ao centro.



Fonte: Laboratório de Micobactérias, DMP, UFRN.

Identificação de MBL: Para a avaliação de carbapenemases, inicialmente realizou-se o antibiograma do inóculo com discos de Imipenem e Meropenem com interpretação de sensibilidade de acordo com o CLSI 2018. As bactérias que apresentaram resistência a pelo menos um deles foi submetida ao teste de triagem de metalo-beta-lactamase (teste do EDTA). Em uma placa de ágar Mueller-Hinton, à temperatura ambiente, semeou-se a suspensão bacteriana e foi colocado um disco de Imipenem (10 µg) e Meropenem (10 µg) de forma paralela a outros dois discos de Imipenem e Meropenem embebidos em 10 µg de EDTA. Se houver aumento do halo de sensibilidade no disco com EDTA em relação ao disco sem a substância, trata-se de uma cepa produtora de metalo-beta-lactamase (figura 4).

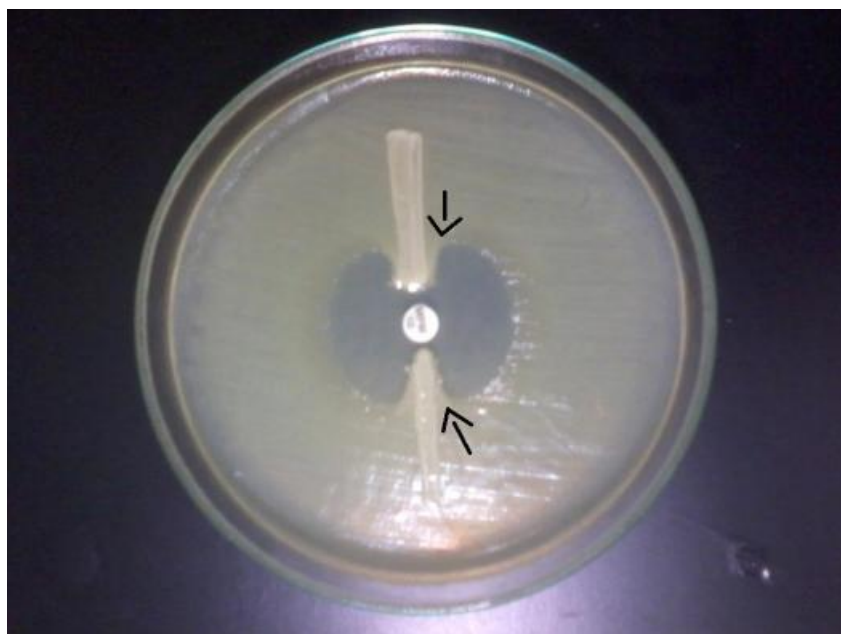
Figura 4: Visualização de aumento no halo de sensibilidade no teste do EDTA.



Fonte: Laboratório de Micobactérias, DMP, UFRN.

Identificação de KPC: A identificação foi feita pelo Teste de Hodge Modificado (MHT), onde foi inoculada a *Escherichia coli* ATCC 25922 e colocado um disco de Meropenem no centro da placa. Ao redor dela, foi feita varias estrias verticais com a amostra e com uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* CCBH4955, produtora de KPC, que serve como controle positivo. Se houver um alargamento de crescimento bacteriano na área de inserção (zonas de entroncamento), ou seja, próxima ao disco, a cepa é considerada produtora de carbapenemase (figura 5).

Figura 5: Visualização de zona de entroncamento (setas) próximo ao disco de Meropenem ao centro. Técnica para detecção de carbapenemases em enterobactérias.



Fonte: Laboratório de Micobactérias, DMP, UFRN.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As IRAS são uma das complicações mais comumente encontradas em paciente hospitalizados, representam um grande problema de saúde pública causando um aumento no tempo de permanência internado, ocasionando uma elevação de custos assistência a saúde, e ameaçando o curso do tratamento. A utilização rotineira e indiscriminada de antimicrobianos observada em UTIs com o intuito de combater as IRAS vem contribuindo com o aparecimento de bactérias multirresistentes ao redor do planeta (FRANCO, 2017), assim como demonstrado também neste trabalho.

Foram isoladas e identificadas 24 bactérias, sendo 23 resistentes, originadas de 10 pacientes internados na UTI do Hospital Giselda Trigueiro. Dos espécimes isolados, 14 foram *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL, 04 *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de MBL, 01 *Citrobacter freudii* produtora de ESBL, 2 *Acinetobacter* spp. produtoras de MBL, e 02 *Staphylococcus* Coagulase-negativa resistentes à Oxacilina, como mostrado na Tabela 1, a seguir:

Tabela 1: Bactérias identificadas por sítio de coleta. Foram isoladas 24 bactérias.

Bactérias	Nasal	Retal	Axilar
<i>Staphylococcus</i> Coagulase-negativa	0	0	2
<i>Enterococcus</i> spp.	0	0	1
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	0	0
<i>Citrobacter freudii</i>	1	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	2	6
Total	13	2	9

Dentre os espécimes clínicos isolados durante a realização desse trabalho, a *Klebsiella pneumoniae* chamou atenção por ter sido de longe a bactéria mais isolada. Em seguida veio a não fermentadora *Pseudomonas aeruginosa*. Uma etiologia parecida foi observada em um estado vizinho, na cidade de João Pessoa (PB), onde foram analisados resultados de culturas de vigilância realizadas em pacientes internados na UTI de um hospital da cidade. O estudo apontou *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* como os achados mais incidentes (SARMENTO, 2016).

Em países desenvolvidos é observado outro perfil etiológico bacteriano, bem como demonstrado em um recente levantamento dos patógenos mais encontrados em cultura de vigilância de diversas regiões dos Estados Unidos da América, nele foi constatada a prevalência de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (MAGILL et al., 2014). O mesmo padrão foi observado na Itália, onde um estudo apontou a predominância de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* em culturas de vigilância feita em pacientes de UTI (STICCHI et al., 2018). Apesar de estarem geograficamente distante um do outro, ambos os países possuem hospitais com um eficiente programa de vigilância e combate às IRAS, característica comumente encontrada em países desenvolvidos.

No total foram isoladas 23 bactérias com perfil de resistência, sendo 15 bactérias produtoras de ESBL, 6 bactérias produtoras de MBL e 2 Gram-positivas resistentes a Oxacilina, como demonstrado na Tabela 2, a seguir:

Tabela 2: Perfil de resistência encontrado por sítio. Foram encontrados 3 tipos de perfil de resistência.

Perfil de resistência	Nasal	Retal	Axilar
OXA-R	0	0	2
MBL	6	0	0
ESBL	7	2	6
Total	13	2	8

Segundo um artigo publicado em 2017 na revista científica Nature, infecções causadas por bactérias multirresistentes causam cerca de 700.000 mortes por ano (WILLYARD, 2017). A alarmante estatística chamou atenção da Organização Mundial de Saúde (OMS), que elaborou um ranking das bactérias que mais ameaçam a saúde humana. As bactérias que aparecem nos 3 primeiros lugares (Enterobactérias ESBL (beta-lactamases de espectro estendido), *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de carbapenemases) foram encontradas em amostras coletadas neste trabalho.

A produção ESBL foi o perfil de resistência mais encontrado neste estudo, sendo expresso por 15 bactérias (65,2%). Uma porcentagem bem maior foi apresentada em um artigo publicado esse ano no *American Journal of Infection Control*, no qual se destaca a predominância de 98,6% de ESBL sobre os outros perfis de resistência encontrados em UTIs espalhadas pela França (COPPÉRÉ et al., 2018).

Em 2015 foi realizado um estudo em diversos países da Europa e América do Norte foi observada a prevalência da *Klebsiella pneumoniae* dentre as outras bactérias produtoras de ESBL. Na Europa e na América do Norte foram detectadas as porcentagens de 45,6% e 13,3% respectivamente (LOB et al., 2015). No presente trabalho verificou-se que a *Klebsiella pneumoniae* sobressaiu sobre as outras espécies, tendo uma porcentagem mais significativa de 93,3% (14/15).

Das 6 bactérias produtoras de MBL vistas neste trabalho, 4 eram *Pseudomonas aeruginosa* e 2 eram *Acinetobacter* spp., juntas elas representaram 26,08% do total dos perfis de resistência encontrados. Um número maior de não fermentadoras resistente aos Carbapenêmicos foi relatada em um recente estudo feito em Minas Gerais, no qual foi evidenciado uma porcentagem de 47,1% de bacilos Gram-negativos não fermentadores resistentes aos Carbapenêmicos, quase metade dos perfis de resistência encontrados (BRAGA et al., 2018).

Das 24 bactérias coletadas e identificadas, foram encontradas apenas 3 Gram-positivas, sendo 2 *Staphylococcus* coagulase-negativa e 1 *Enterococcus* spp., todos as 3 se mostraram resistentes a Cefoxitina no teste de disco-difusão. O *Enterococcus* spp. já possui resistência intrínseca a Cefoxitina, e o *Staphylococcus* coagulase-negativa por não apresentar esse tipo de resistência de forma intrínseca, evidencia a presença de uma resistência adquirida. Diversos trabalhos têm

demonstrado bons resultados no uso do disco de Cefoxitina para o diagnóstico de resistência à Oxacilina. O fato de a bactéria apresentar resistência a Oxacilina é um fenômeno preocupante, pois é um indicativo de resistência a todas as penicilinas penicilinase-estáveis, como a Meticilina, Cloxacilina, Dicloxacilina (MIMICA; MENDES, 2007).

Os *Staphylococcus* coagulase-negativa resistentes à Oxacilina encontrados representam 8,6% (2/24) dos perfis de resistência, um valor um pouco mais alto do que o encontrado em um estudo feito no Japão, onde foi pesquisado os patógenos mais prevalentes em IRAS nas UTIs de 4 hospitais universitários. Como resultado dessa pesquisa foi visto que os *Staphylococcus* coagulase-negativa resistentes à Oxacilina representaram apenas 6,2% do total de 159 patógenos resistentes detectados (MORIOKA et al., 2018).

5.0 CONCLUSÕES

- A cultura de vigilância é indispensável no monitoramento e identificação de microrganismos com perfil de resistência.
- Estudos recentes mostram que os isolados clínicos mais encontrados em culturas de vigilância no Brasil são: *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL e MRSA.
- Dentre as 24 bactérias encontradas neste trabalho, 62,5% eram enterobactérias, 25% em bacilo Gram-negativos não fermentadores e 12,5% eram cocos Gram-positivos.
- Das 23 bactérias com perfil de resistência encontradas, 65,2% eram produtoras de ESBL, 26% eram produtoras de MBL, e 8,6% eram resistentes à Oxacilina.

6.0 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Marília Virgo Silva. **PERFIL ETIOLÓGICO DE COCOS GRAM POSITIVOS ISOLADOS DE CULTURA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE RESISTÊNCIA**. 2016. 57 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biomedicina, Ufrn, Natal, 2016. Disponível em: <https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/3567/1/PerfilEtiol%C3%B3gico_Almeida.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2018.

ARCANJO, Rafaela Alves. **MONITORIZAÇÃO DE PACIENTES PARA MICRORGANISMOS RESISTENTES EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA: UMA ANÁLISE DA INCIDÊNCIA E DOS FATORES ASSOCIADOS**. 2015. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Enfermagem, Ufmg, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/ANDO-9TLHPA/disserta__o_rafaela_alves_arcanjo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 out. 2018.

BOMFIM, Isabela Maria Fortaleza Neves. **RESISTÊNCIA BACTERIANA EM COCOS GRAM-POSITIVOS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**. 2017. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Ufrn, Natal, 2017. Disponível em: <https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/5714/1/TCC_Isabela_Bomfim_FC.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2018.

BRAGA, I.a. et al. Multi-hospital point prevalence study of healthcare-associated infections in 28 adult intensive care units in Brazil. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 99, n. 3, p.318-324, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2018.03.003>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670118301415?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 out. 2018.

BRAGA, Maria Aparecida. **Influência das infecções relacionadas à assistência no tempo de permanência e na mortalidade hospitalar utilizando a classificação do Diagnosis Related Groups como ajuste de risco clínico**. 2015.

145 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Ufmg, Belo Horizonte, 2015.
Disponível em:

<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUBD-AW2E9T/tese_maria_aparecida_braga.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 out. 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI).
Supplement M100-S21, 31:1; M100-S22, 32:3. Performance standards for
antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Second Informational, 2018.

COPPÉRÉ, Zoé et al. Disparity of the “screen-and-isolate” policy for multidrug-
resistant organisms: a national survey in French adult ICUs. **American Journal Of
Infection Control**, [s.l.], p.50-57, jul. 2018. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2018.05.025>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655318306783?via%3Dihub>
>. Acesso em: 12 out. 2018.

FRAIMOW, Henry S.; TSIGRELIS, Constantine. Antimicrobial Resistance in
the Intensive Care Unit: Mechanisms, Epidemiology, and Management of Specific
Resistant Pathogens. **Critical Care Clinics**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.163-205, jan. 2011.
Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccc.2010.11.002>. Disponível em:

<[https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704\(10\)00099-
0/fulltext#sec3.2](https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704(10)00099-0/fulltext#sec3.2)>. Acesso em: 14 ago. 18.

FRANCO, Mayara Maria Bastos. **Etiologia e resistência bacteriana em
unidades de terapia intensiva através de culturas de vigilância**. 2017. 97 f. Tese
(Doutorado) - Curso de Biomedicina, Ufrn, Natal, 2017. Disponível em:
<[https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23573/1/MayaraMariaBastosFr
anco_DISSERT.pdf](https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23573/1/MayaraMariaBastosFranco_DISSERT.pdf)>. Acesso em: 14 ago. 18.

FURTADO, Guilherme Henrique Campos et al. Incidência de Enterococcus resistente à vancomicina em hospital universitário no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.41-46, jan. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-89102005000100006>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102005000100006>. Acesso em: 14 ago. 18.

GAEDICKE, F. L. **O CONTROLE DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES ATRAVÉS DO PROTOCOLO DE CULTURA DE VIGILÂNCIA**.2018. 20 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biomedicina, Ac&t – Academia de Ciência e Tecnologia, Campo Grande, 2018. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/Artigos_cientificos/1%20-%20O%20CONTROLE%20DE%20BACTERIAS.pdf>. Acesso em: 02 out. 2018.

LOB, S.H. et al. Antimicrobial resistance and resistance mechanisms of Enterobacteriaceae in ICU and non-ICU wards in Europe and North America: SMART 2011–2013. **Journal Of Global Antimicrobial Resistance**, [s.l.], v. 3, n. 3, p.190-197, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2015.05.005>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716515000612?via%3Dihub>>. Acesso em: 16 out. 2018.

MAGILL, Shelley S. et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 370, n. 13, p.1198-1208, 27 mar. 2014. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1306801>. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1306801>>. Acesso em: 12 out. 2018.

MACEDO, Camila Avelino de. **Estudo de vigilância em resistência bacteriana com ênfase em bacilos Gram negativos multirresistentes isolados de hospitais de referência no estado do Rio Grande do Norte**. 2016. 60 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Ufrn, Natal, 2016. Disponível em: <https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/4529/1/EstudodeVigilancia_Macedo_2016.pdf>. Acesso em: 21 out. 2018.

MENDES, R.R. <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/1946>. **Revista de Patologia do Tocantins**, Palmas, v. 3, n. 01, p.44-60, 18 mar. 2016. Disponível em: <<https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/1946>>. Acesso em: 01 out. 2018.

MIMICA, Marcelo J.; MENDES, Caio M. F.. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 43, n. 6, p.399-406, dez. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442007000600003>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442007000600003&script=sci_abstract&tlng=es>. Acesso em: 12 out. 2018.

MOREIRA, Vanessa Carvalho. **Klebsiella pneumoniae e sua resistência a antibióticos**. 2011. 16 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biomedicina, Puc-Goiás, Goiânia, 2011. Disponível em: <<http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/VANESSA%20CARVALHO%20MOREIRA.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2018.

MORIOKA, H. et al. The first multi-centre point-prevalence survey in four Japanese university hospitals. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 99, n. 3, p.325-331, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2018.03.005>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670118301439?via%3Dihub>>. Acesso em: 12 out. 2018.

MURRAY, P. R. et al. Manual of clinical microbiology. 7 ed. Washington: ASM Press, 2009.

OTEO, Jesús et al. Microbiological methods for surveillance of carrier status of multiresistant bacteria. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (english Ed.)**, [s.l.], v. 35, n. 10, p.667-675, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimce.2017.11.003>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2529993X17302629>>. Acesso em: 19 out. 2018.

SARMENTO, Thiago Ferreira. **Importância da identificação de bactérias multirresistentes pelas culturas de vigilância no controle das infecções hospitalares**. 2016. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmacia, Ufpb, João Pessoa, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/1010>>. Acesso em: 12 out. 2018.

SEIBERT, Gabriela et al. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.282-286, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082014ao3131>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1679-45082014000300282&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 19 out. 2018.

SILVA, Ketrin Cristina da; LINCOPAN, Nilton. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 48, n. 2, p.91-99, abr. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442012000200004>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442012000200004>. Acesso em: 14 ago. 18.

STICCHI, C. et al. Regional point prevalence study of healthcare-associated infections and antimicrobial use in acute care hospitals in Liguria, Italy. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 99, n. 1, p.8-16, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2017.12.008>. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0195670117306795?token=EC88AF83F1F27B19FC4EB65E22F7813B0C34EE9ED53CF991FE54E6BA2E86A89BF264B551D4A9753653AD0E6EEA8696C8>>. Acesso em: 12 out. 2018.

WILLYARD, Cassandra. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. **Nature**, [s.l.], v. 543, n. 7643, p.15-15, 28 fev. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nature.2017.21550>. Disponível em: <<https://www.nature.com/news/the-drug-resistant-bacteria-that-pose-the-greatest-health-threats-1.21550>>. Acesso em: 12 out. 2018.