

INCIDÊNCIA DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS NÃO FERMENTADORES DE GLICOSE ISOLADOS DE HEMOCULTURAS DE PACIENTES ONCOLÓGICOS

*INCIDENCE OF NON-FERMENTING GRAM NEGATIVE BACILLI ISOLATED FROM
BLOOD CULTURES OF ONCOLOGICAL HOSPITAL*

INCIDÊNCIA DE BGNNF EM HEMOCULTURAS

ARTIGO ORIGINAL

Lanna Sendtko Brzezinski¹
Jannaina Ferreira de Melo Vasco²
Ana Carolina Martins dos Santos¹
Andrea Krelling³
Daiane Cardozo⁴
Bruna Gonçalves¹
Gabriele Sorendino da Silva¹
Luiza Souza Rodrigues⁵

Recebido em 26 de agosto de 2016

Aceito em 04 de abril de 2017

RESUMO

A hemocultura é a principal forma de diagnosticar a etiologia e a gravidade dos microrganismos envolvidos na sepse, permitindo assim a confirmação da suspeita clínica e o direcionamento da antibioticoterapia. O aumento na ocorrência de sepse deve-se, entre outros fatores, ao envelhecimento da população, aumento da realização de procedimentos invasivos, síndrome da imunodeficiência adquirida, doenças crônicas e ao uso de fármacos imunossupressores. Dentre os microrganismos emergentes envolvidos em infecções de corrente sanguínea, estão os bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose (BGNNF), comuns no meio ambiente e pela resistência a variadas classes de antibióticos. Este trabalho teve como objetivo determinar a incidência e o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos desse grupo bacteriano em hemoculturas de pacientes oncológicos durante o período de seis meses. Foram encontrados sete (4,79%) BGNNF, em um total de 146 hemoculturas positivas, três *Pseudomonas aeruginosa*, duas *Stenotrophomonas maltophilia*, um do complexo *Burkholderia cepacia* e um não identificado, com perfis de resistência variados. Esta baixa incidência, bem como a ausência de perfis bacterianos multirresistentes, reforça a importância do conhecimento da epidemiologia local para o aperfeiçoamento das terapias empíricas. Considerando-se que os BGNNF são patógenos oportunistas, a correta conduta profilática no ambiente hospitalar pode minimizar este tipo de infecção.

DESCRITORES: bacteremia, sepsis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*.

¹Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Autônomo do Brasil – UniBrasil.

²Biomédica, especialista em Microbiologista (PUC-PR), mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia (UFPR), coordenadora e professora do curso de Biomedicina do Centro Universitário Autônomo do Brasil (UniBrasil).

³Farmacêutica bioquímica, supervisora do laboratório de análises clínicas do Hospital Erasto Gaertner.

⁴Farmacêutica bioquímica, especialista em atenção hospitalar e saúde da mulher, funcionária do laboratório de análises clínicas do Hospital Erasto Gaertner.

⁵Biomédica, especialista em análises clínicas (HC-FMUSP), mestre em Ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil – UNIBRASIL. Endereço para correspondência: Rua Konrad Adenauer, 442 - Tarumã - 82821-020 - Curitiba – PR - Telefone: 55 (41) 3361 4200 - Email: luizabiomed@hotmail.com.

ABSTRACT

Blood culture is the primary method to diagnose the etiology and severity of microorganisms involved in sepsis, allowing for confirmation of the clinical suspicion and targeting antibiotic therapy. The highest incidence of sepsis due to the aging population, invasive procedures, increased incidence of acquired immunodeficiency syndrome, chronic diseases and, finally, immunosuppressive drugs. Nonfermenting Gram-negative bacilli, which are common microorganisms in the environment and resistant to multiple classes of antibiotics, were among the emerging microorganisms involved in bloodstream infections. The aim of this study was to know the incidence and susceptibility profile of this group of bacteria. We found seven (4,79%) nonfermenting Gram-negative bacilli in a total of 146 isolates, with diverse resistance profiles, including three *Pseudomonas aeruginosa*, two *Stenotrophomonas maltophilia*, and one *Burkholderia cepacia* complex. The low incidence of this group of bacteria and the lack of multidrug-resistant bacterial profiles, supports the importance of the knowledge of the local epidemiology in order to improve empirical therapies used in hospitals. Considering that nonfermenting Gram-negative bacilli are opportunistic pathogen, as consistent with this study population, we know that the correct conduit prophylactic the hospital environment can minimize this type of infection.

KEYWORDS: bacteremia, sepsis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*.

INTRODUÇÃO

A hemocultura é um dos principais exames realizado nas rotinas laboratoriais pelo setor de microbiologia, especialmente aqueles que atendem hospitais com unidades de terapia intensiva (UTI), visto que se trata da principal forma de diagnosticar a etiologia, gravidade, extensão e a disseminação dos microrganismos envolvidos em infecções da corrente sanguínea ⁽¹⁾.

Por mais de 100 anos, as bactérias são identificadas por suas propriedades morfológicas e bioquímicas, isto é, pela sua morfologia (microscópica e colonial), arranjo, afinidade aos corantes da coloração de Gram e pela habilidade de consumir diferentes substratos em meios de cultura (atividade metabólica). Embora o cultivo desses microrganismos seja um método eficiente e de baixo custo no diagnóstico de infecções bacterianas, ele pode positivar tanto nas primeiras horas após o processamento da amostra, como demorar semanas, com prejuízo na conduta clínica do paciente ⁽²⁾.

Sepse foi definida pela Conferência de Consenso de 1991, como quando a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) é decorrente de um processo infeccioso comprovado; a bacteremia, como a presença de bactérias viáveis na corrente sanguínea e, finalmente, o termo infecção, está relacionado à presença de um agente agressor em uma localização, seja tecido, cavidade ou fluido corporal, que normalmente é estéril ⁽³⁾.

As principais causas de sepse estão associadas a cirurgias, inserção e manipulação de cateteres vasculares e infecções em outros sítios ^(4, 5). Sua maior incidência, nos últimos anos, deve-se a variados fatores, tais como: imunodeficiência, câncer, HIV, doenças crônicas entre

outros ⁽⁶⁾. Segundo Pontes et al., pacientes de UTI geralmente apresentam pelo menos uma dessas condições que os predis põem a infecções e, por isso, são considerados críticos quanto à ocorrência de sepse, resultando em maior morbidade e mortalidade dos pacientes ⁽⁷⁾.

Segundo Zanon et al., a sepse é uma causa importante de hospitalização e a principal causa de morte em UTI's, sendo as hemoculturas de grande valor diagnóstico e de grande importância para o prognóstico do paciente ⁽⁴⁾.

Pacientes oncológicos, geralmente neutropênicos, em razão da mielossupressão pela infiltração do tumor ou pela quimioterapia citotóxica, têm risco aumentando para infecções bacterianas e fúngicas. Estes pacientes, frequentemente, necessitam de acesso venoso central e, eventualmente, uso de respiradores, o que aumenta o comprometimento da integridade cutânea e da mucosa, aumentando também o risco de infecções ⁽⁸⁾.

Algumas das bactérias mais isoladas em hemoculturas de pacientes hospitalizados são: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii* ⁽⁹⁾.

Os bacilos Gram-negativos classificados como não fermentadores de glicose (BGNNF) são aeróbios, não esporulados e se caracterizam pelo fato de serem incapazes de utilizar a glicose como fonte de energia pelo processo de fermentação, degradando-a pela via oxidativa ⁽¹⁰⁾. São raros na microbiota humana e, na maioria das vezes, são considerados patógenos oportunistas. Apesar da diversidade de gêneros e espécies nesse grupo, os mais frequentes em hemoculturas são: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* e o complexo *Burkholderia cepacia* ⁽¹¹⁾. A identificação desse grupo de bactérias é importante em ambiente hospitalar, pois muitas delas têm elevada resistência a uma grande variedade de antibióticos ⁽¹²⁾.

Considerando a importância do conhecimento da epidemiologia bacteriana local para o correto direcionamento da terapia empírica, com impacto positivo na morbidade e mortalidade dos pacientes e na redução dos gastos hospitalares destinados a esse fim. Este trabalho teve como objetivo conhecer a incidência e o perfil de suscetibilidade dos BGNNF isolados de hemoculturas de pacientes atendidos em um hospital oncológico de Curitiba, Paraná.

METODOLOGIA

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Erasto Gaertner sob o parecer 1.181.747 no dia 11 de agosto de 2015 e é classificada como um

estudo experimental e prospectivo. Os experimentos foram realizados nas instalações do Centro Universitário Autônomo do Brasil (UniBrasil), com microrganismos isolados em um hospital oncológico da cidade de Curitiba, Paraná, no período de setembro de 2015 a fevereiro de 2016.

Durante o estudo, as hemoculturas positivas foram submetidas à coloração de Gram e repicadas em meio de cultura ágar chocolate. Após a liberação do resultado parcial (Gram) e incubação do meio de cultura a 35°C por até 48 horas em estufa bacteriológica, seguia-se a identificação da espécie bacteriana de acordo com o Manual da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e do antibiograma de acordo com o manual da *Clinical and Laboratory Standards Institute*, todas estas etapas supracitadas foram de responsabilidade do laboratório de microbiologia que atende o hospital em questão ^(10, 11, 13).

Todos os isolados foram encaminhados ao UniBrasil, onde foram armazenados em microtubos contendo 1,0 mL de caldo BHI (*brain heart infusion*) e 50 µL de glicerol autoclavado e congelados à -20°C até o momento das análises ⁽¹⁴⁾.

Ao final dos seis meses de coleta, os microrganismos foram submetidos novamente à coloração de Gram, às provas bioquímicas específicas para determinação do gênero e espécie bacteriana, tais como: oxidase, OF glicose (Newprov[®]) e kit de identificação de bactérias não fermentadoras de glicose (Newprov[®]). Paralelamente às provas bioquímicas foram realizados os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) pelo método de disco-difusão, também conhecido como *Kirby-Bauer* ⁽⁵⁾.

Os antibióticos testados para *Pseudomonas aeruginosa* foram: amicacina (30µg), gentamicina (10µg), meropenem (10µg), imipenem (10µg), cefepime (30µg), piperacilina/tazobactam (100/10µg), ceftazidima (30µg) e levofloxacina (5µg). Para o complexo *Burkholderia cepacia*: meropenem (10µg), sulfametoxazol/trimetoprim (1,25/23,75µg) e ceftazidima (30 µg), e, finalmente, para *Stenotrophomonas maltophilia*, foram testados os discos de sulfametoxazol/trimetoprim (1,25/23,75µg) e levofloxacina (5µg), conforme preconizado pelo CLSI ⁽¹³⁾.

RESULTADOS

Os resultados obtidos no período de setembro de 2015 a fevereiro de 2016 estão descritos **nas figuras 1, 2 e 3**, a seguir:

Figura 1. Divisão dos microrganismos por meio da classificação morfotintorial da coloração de Gram dos isolados obtidos no estudo.

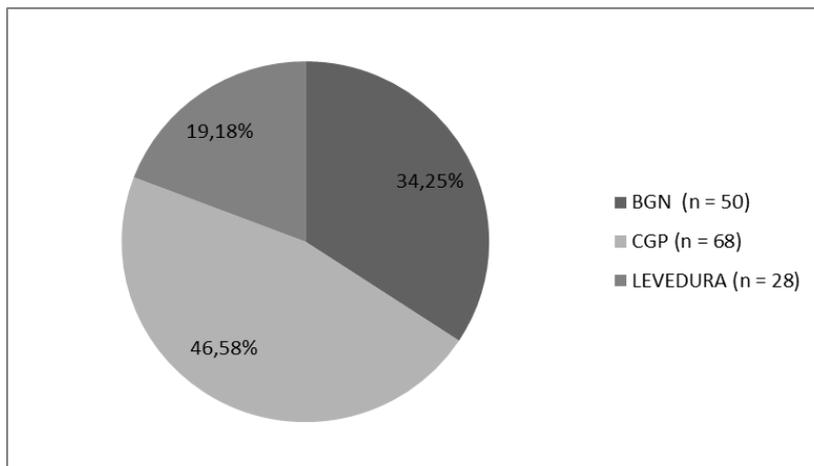
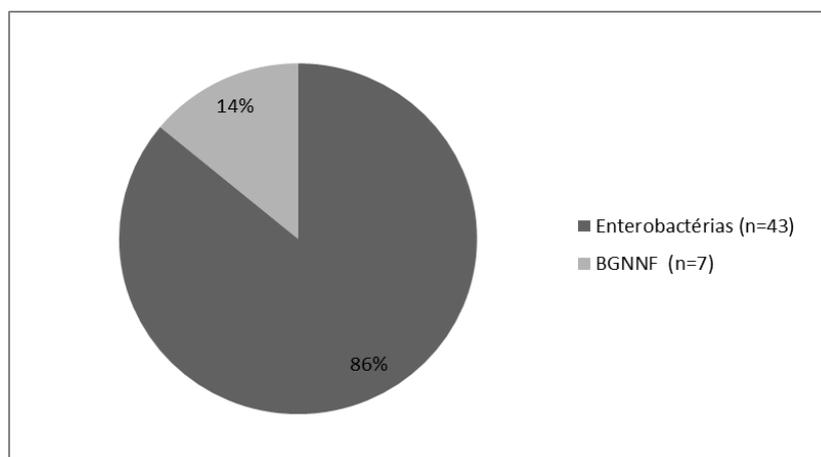


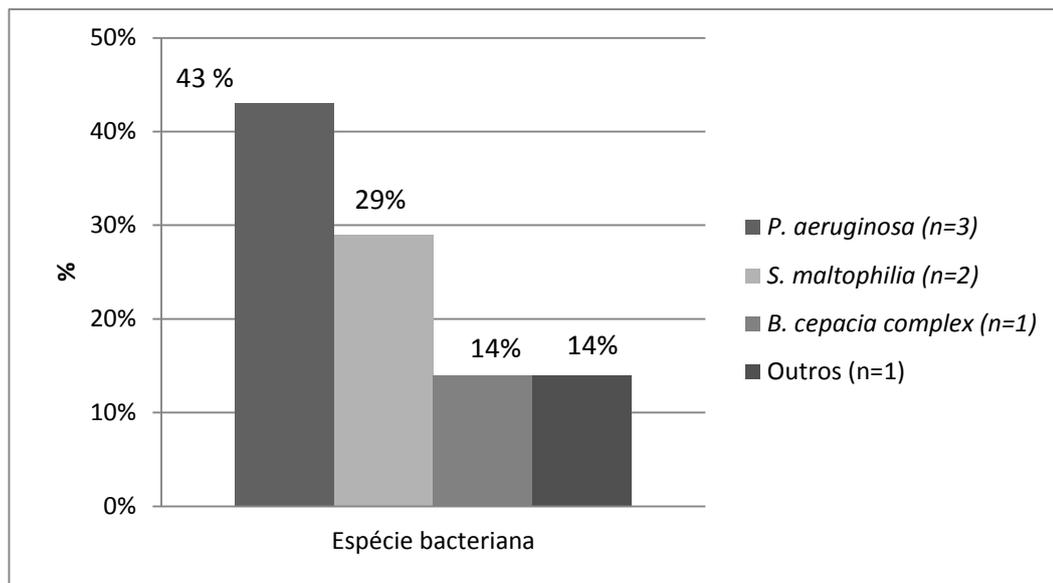
Figura 2. Distribuição dos bacilos Gram-negativos isolados no estudo, pela da prova da Oxidase e do teste de OF glicose® em enterobactérias e BGNNF.



Foram identificados sete bacilos Gram-negativos não fermentadores: três *Pseudomonas aeruginosa*, duas *Stenotrophomonas maltophilia*, um do complexo *Burkholderia cepacia* e um do qual não foi possível discriminar o gênero e espécie por provas fenotípicas manuais. Não foi possível a identificação utilizando apenas provas fenotípicas manuais de um dos BGNNF recuperado no estudo.

Todas as *Pseudomonas aeruginosa* identificadas foram resistentes apenas à gentamicina, com sensibilidades a todos os demais antibióticos. As *Stenotrophomonas maltophilia* foram resistentes à sulfametoxazol/trimetoprim e sensíveis à levofloxacina e o microrganismo pertencente ao complexo *Burkholderia cepacia*, apresentou-se sensível ao meropenem e ao sulfametoxazol/trimetoprim, porém, resistente à ceftazidima.

Figura 3. Discriminação dos BGNNF identificados no estudo.



DISCUSSÃO

A hemocultura é considerada um dos mais importantes exames laboratoriais para o auxílio do diagnóstico da sepse sendo o resultado microbiológico capaz de confirmar a suspeita clínica e direcionar a antibioticoterapia ⁽¹⁵⁾.

Nesse estudo 34,25% das infecções de corrente sanguínea foram causadas por microrganismos Gram-negativos, 46,58% por Gram-positivos e 19,18% por leveduras, em comparação com a literatura, em um estudo realizado em 16 hospitais brasileiros, Pereira *et al* verificou uma maior incidência de bactérias Gram-negativas, valores próximos ao reportado neste estudo para Gram-positivos e uma menor ocorrência de fungos, com índices de 49,0%, 42,6% e 8,4%, respectivamente ⁽¹⁶⁾. Já dentro da categoria dos BGNNF, foram encontrados 18,85% de *Acinetobacter baumannii* e 8% de *Pseudomonas aeruginosa* em um total de 357 isolados. Embora o número de amostras incluídas tenha sido maior, bem como a diversidade de hospitais, destaca-se a ocorrência do *A. baumannii* que não foi encontrado no presente trabalho. Em outro estudo brasileiro realizado por Marra *et al*, 58,5% das infecções de corrente sanguínea foram causadas por bactérias Gram-negativas, 35,4% por Gram-positivas e 6,1% por fungos, demonstrando que a epidemiologia hospitalar pode sofrer variações significativas quanto a frequência e a diversidade de microrganismos ^(16, 17).

Considerando que os BGNNF tem alta ocorrência ambiental e são considerados patógenos oportunistas, acreditamos que a baixa incidência em nosso estudo possa ter relação com o menor número de amostras positivas durante o período avaliado e também pelo

cuidado dos profissionais neste contexto hospitalar. A alta incidência de cocos Gram-positivos, por sua vez, pode estar relacionada à contaminação no momento da coleta, visto que o gênero *Staphylococcus* pertence à microbiota residente da pele e de mucosas ou por infecções oportunistas pelo caráter imunossuprimidos da população estudada^(9, 15).

O perfil de suscetibilidade dos BGNNF identificados neste estudo parece ter relação com sua baixa incidência, sugerindo uma não seleção pela ação de antimicrobianos de amplo espectro, comuns em ambientes hospitalares. Perfil este diferente do que vem sendo reportado na literatura nacional como, por exemplo, por Garcia *et al* que identificou, em 2013, *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (com resistência ao imipenem, meropenem, gentamicina amicacina, ciprofloxacina, cefepime e piperacilina/tazobactam) e um microrganismo do complexo *Burkholderia cepacia* resistente a todos os antibióticos testados, enquanto que, em nosso estudo, este foi somente resistente à ceftazidima⁽¹⁸⁾.

A resistência de *Stenotrophomonas maltophilia* ao sulfametoxazol/trimetoprim, embora ainda não atinja grandes percentuais, é emergente e relevante, pois é o medicamento de escolha para infecções causadas por este microrganismo. Em caso de resistência, como reportado neste estudo, a levofloxacina seria a terapia alternativa^(14, 19, 20).

CONCLUSÃO

Conhecer a epidemiologia dos microrganismos envolvidos nos casos de infecção de corrente sanguínea em hospitais e unidades de saúde, bem como o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos desses microrganismos, é de extrema importância no direcionamento da terapia empírica local podendo contribuir na menor morbidade e mortalidade dos pacientes, bem como na redução dos gastos hospitalares.

No nosso estudo, os achados microbiológicos foram compatíveis com a literatura, considerando as variações anteriormente descritas na incidência de microrganismos em amostras de corrente sanguínea, sendo relevante o não aparecimento de *Acinetobacter baumannii* e a menor incidência de BGNNF. Além disso, o perfil de resistência diferenciado da literatura comprova a importância de conhecer a epidemiologia local, visto que ela pode variar entre os hospitais, com consequente impacto na escolha da terapia empírica.

REFERÊNCIAS

1. Gir E, Stuchi RAG, Macedo RFC, Dresler DE. Ações de enfermagem em hemocultura. *R gaúcha Enferm.* 1998;95-105.
2. Pasternak J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. *Einstein medical journal.* 2012;10(1):118-9.
3. Matos GFJ, Victorino JA. Critérios para o Diagnóstico de Sepses, Sepses Grave e Choque Séptico. *Revista Brasileira Terapia Intensiva.* 2004;102-4.
4. Zanon F, Caovilla JJ, Michel RS, Cabeda EV, Ceretta DF, Lucheleyer GD, et al. Sepses na Unidade de Terapia Intensiva: Etiologias, Fatores Prognósticos e Mortalidade. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva.* 2008;128-34.
5. Koneman EW, Allen S, Janda W, Jr WW, Procop G, Schreckenberger P, et al. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido.* 6, editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
6. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B, Network CU-R. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2003 Jul 15;168(2):165-72. PubMed PMID: 12851245.
7. Ricas RV, Marques TC, Yamamoto ACA. Perfil de resistência de *Acinetobacter baumannii* a antimicrobianos em um hospital universitário de Cuiabá-MT. *Infarma Ciências Farmacêuticas.* 2013;178-81.
8. Staudinger T, Pène F. Visões atuais a respeito da sepses grave em pacientes com câncer. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2014;335-8.
9. Alves LNS, Oliveira CR, Silva LAP, Gervásio SMD, Alves SR, Sgavioli GM. Hemoculturas: estudo da prevalência dos microrganismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos utilizados em Unidade de Terapia Intensiva. *J Health Sci Inst.* 2012;30(1):44-7.
10. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Módulo V2004.
11. Santos LF. *Manual de Microbiologia Clínica. Identificação de bastonetes Gram-negativos não fermentadores* 2006. p. 221-3.
12. Salomão R, Diamant D, Rigatto O, Gomes B, Silva E, Machado FR. Diretrizes para tratamento da sepses grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso - controle do foco infeccioso e tratamento antimicrob. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2011;145-57.

13. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Third Informational Supplement CLSI document M100-S232013.
14. Rodrigues LS, Di Gioia TSR, Rossi T. *Stenotrophomonas maltophilia*: resistência emergente ao SMX-TMP em isolados brasileiros. Uma realidade? . *J Bras Patol Med Lab*. 2011;47(5):511-7.
15. Araujo MRE. Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados. *J Infect Control*. 2012;1(1):08-19.
16. Pereira CA, Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology, and clinical features. *PloS one*. 2013;8(7):e68144. PubMed PMID: 23861860. Pubmed Central PMCID: 3701648.
17. Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, Medeiros EA, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Journal of clinical microbiology*. 2011 May;49(5):1866-71. PubMed PMID: 21411591. Pubmed Central PMCID: 3122653.
18. Garcia LM, Cesar ICO, Braga CA, Souza GAAD, Mota EC. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*. 2013:45-9.
19. Garcia DO, Timenetsky J, Martinez MB, Francisco W, Sinto SI, Yanaguita RM. Proteases (caseinase and elastase), hemolysins, adhesion and susceptibility to antimicrobials of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates obtained from clinical specimens. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2002;33:157-62.
20. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Linares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging Importance of Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Species and *Stenotrophomonas maltophilia* as Pathogens in Seriously Ill Patients: Geographic Patterns, Epidemiological Features, and Trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–1999). *Clinical Infectious Diseases* 2001:104-13.