AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ANTIBIÓTICA DE MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS DA CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES DA UTI

Bárbara Zanon da Luz, Shelon Cristina Souza Bandeca, e-mail: shelonsouzap@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia / Ciências da Saúde.

2.12.00.00-9 Microbiologia, 2.12.01.00-5 Biologia, Fisiologia dos Microrganismos.

Palavras-chave: Pneumonia associada à ventilação mecânica, resistência bacteriana, unidade de terapia intensiva

Resumo

Pacientes internados podem apresentar micro-organismos diferentes na cavidade bucal, os quais podem desencadear a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM). A diferença da microbiota bucal pode estar associada ao tipo de micro-organismo e também a sua resistência a antibióticos. É comum observarmos a presença de micro-organismos resistentes em ambientes hospitalares, dificultando o tratamento destes pacientes, e a cavidade bucal pode ser a "porta de entrada" destes agentes infecciosos. Tendo em vista a importância em se eliminar micro-organismos resistentes isolados da cavidade bucal de pacientes da Unidade de Terapia Intensiva, principalmente com o objetivo de se eliminar ou reduzir o risco à PAVM, este estudo tem por objetivo realizar o teste de antibiograma para micro-organismos isolados de amostras de saliva coletadas de pacientes em tratamento na UTI. Os micro-organismos isolados serão semeados em placas de Petri contendo Ágar Muller-Hinton e os antibióticos mais utilizados para o micro-organismo em questão serão inseridos neste meio. As placas serão armazenadas em estufa por 24 hs e a 36ºC. Após este período será realizada a avaliação dos halos de inibição utilizando-se um paquímetro digital.

Introdução

A resistência bacteriana é uma consequência natural da adaptação celular bacteriana à exposição aos antibióticos, tanto na comunidade como no ambiente nosocomial. Dentre os pacientes mais propensos a se tornarem colonizados/infectados por bactérias resistentes estão aqueles que fazem uso de ventilação mecânica nas unidades de terapia intensiva (UTI) (SANTOS 2004; ZARCO et al. 2012). Esta alberga grande variedade de bactérias que, embora normalmente não patogênicas, são capazes de rapidamente excederem a baixa resistência dos pacientes imunossuprimidos e podem causar doenças infecciosas tais como a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM) (OLIVEIRA et al. 2007; SANTOS 2004).

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é a infecção nosocomial mais comum no ambiente de cuidados intensivos. Esta apresenta prevalência variável, com taxas desde 6 até 50 casos por 100 admissões na unidade de terapia intensiva (UTI) (OLIVEIRA E SILVA 2008). O diagnóstico de PAVM à beira do leito leva em consideração uma combinação de achados clínicos, radiológicos e laboratoriais. Dados microbiológicos são utilizados como uma tentativa de refinar a

acurácia diagnóstica, dada a baixa especificidade dos critérios clínicos isoladamente (DALMORA et al. 2013). Além dos dados microbiológicos auxiliarem no diagnóstico, estes dados irão auxiliar também no tratamento. Quando os micro-organismos são isoldos, pode-se avaliar os antibióticos mais eficazes para a resolução daquele quadro em específico (OLIVEIRA E SILVA 2008).
Havendo poucos estudos que avaliam e relacionam a presença dos micro-organismos resistentes na microbiota bucal e sua relação com a PAVM, optou-se pela sugestão deste projeto. Portanto, objetiva-se verificar a resitência antibiótica de micro-organismos: isolados da cavidade bucal de pacientes da UTI.

Material e Métodos
A coleta microbiológica foi realizada no dia do internamento do paciente e a cada 48 horas, sendo feita nos cinco primeiros dias (totalizando no máximo 3 coletas). As coletas foram realizadas antes da higienização bucal do dia. Para tanto, foi friccionada a escova citológica no dorso de língua e após a coleta, foi introduzida no tubo com solução 3 ml de salina tamponada e armazenada em bolsa térmica com gelo.
A pesquisa foi aprovada pela COEP número 1.055.799 de 08/05/2015.
Para cada isolado clinico identificado foi determinada sua susceptibilidade através do método de disco difusão em Agar Mueller-Hinton. Os níveis de susceptibilidade ou resistência foram relatados utilizando-se o percentual de cepas sensíveis ou resistentes aos antimicrobianos testados, conforme preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016). Para o antibiograma as bactérias repicadas foram colocadas em estufa à 35ºC por 24 horas. A seguir, os microrganismos foram diluídos em solução salina estéril até atingir o padrão 0,5 na escala de McFarland (1,0-2,0 x 10^8 UFC/mL). Desta diluição foi semeado com a utilização de um swab em ágar Mueller-Hinton e posteriormente foram colocados discos de papel contendo antibióticos em concentrações conhecidas, que foram incubadas a 35°C por 18-24h e então medidos os halos de inibição.
Para as bactérias identificadas como *Staphylococcus aureus* foram testados os seguintes antibmicrobianos: Clatritromicina, Clindamicina, Oxacilina, Cefoxetina, Penicilina , Azitromicina , Sulfa-Trimetropim, Doxiciclina, Eritromicina, Linezolida, Minociclina, Tetraciclina, Vancomicina, Rifampina, Cloranfenicol, Ciprofloxacina, Levofloxacino, Ofloxacina, Gentamicina. Para as bactérias identificadas como Staphylococcus spp (coagulase negativa) foram testados: Novobiocina, Bacitracina, Clatritromicina, Clindamicina, Oxacilina, Cefoxetina, Penicilina, Azitromicina, Eritromicina, Tetraciclina, Vancomicina e Gentamicina. Para as Enterobactérias: Ampicilina, Ceftadizima, Gentamicina, Tobramicina, Amicacina, Amoxicilina + clavulanato, Ampicilina + Sulbactam, Piperaciclina+ Tazobactam, Ticarciclina + Clavulanato, Cefuroxima, Cefepima, Cefoxetina, Cefotaxima, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Ertapenem, Imipenem, Meropenem (MER), Sulfa-Trimetropim, Aztreonam, Ceftazidima, Clorofenicol, Tetraciclina. Para as Pseudomonas: Ceftazidima, Gentamicina, Tobramicina, Amicacina, Aztreonam, Cefepima, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Imipenem, Piperaciclina + Tazobactam, Meropenem. E por fim, para os Enterococcus: Penicilina, Ampicilina, Vancomicina, Eritromicina, Tetraciclina, Doxiciclina, Minociclina, Norfloxacino, Levofloxacina, Ciprofloxacina, Rifampina, FOOT, Clorofenicol, Linezolida.
Os níveis de sensibilidade/resistência foram relatados utilizando-se o percentual de cepas sensíveis/resistentes aos antimicrobianos testados. Para os critérios de “sensível”, “intermediário” e “resistente” foram utilizados os pontos de corte

ISSN 1676-0093

estabelecidos pelo CLSI (2016).A associação entre a presença de bactérias na cavidade bucal com a alta ou óbito do paciente foi realizado com o teste Exato de *Fisher*.A análise estatística dos resultados dos antibiogramas foi realizada pelo teste de *Tukey*.O nível de significância adotado foi de 5%. Todos os cálculos foram realizados com um software específico para análise de estatística (*GraphPad Prism version 7.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California* USA).

Resultados e Discussão

As taxas de resistência em *Enterobacteriaceae* para Ampicilina e Cefazolina se mantiveram constantes nos tempos 24, 48 e 96 horas, Já as taxas de resistência para Gentamicina e Levofloxacina apresentaram aumento de 8,3% à medida que o tempo de internamento aumentou. Em contrapartida, a Cefalotina apresentou pequena redução da resistência no tempo de 96 horas, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Taxa de resistência antimicrobiana para *Enterobacteriaceae* conforme tempo de hospitalização.

Antibiograma *Enterobacteriaceae*	24 horas	48 horas	96 horas
Ampicilina	100	100	100
Cefazolina	100	100	100
Gentamicina	25	0	33,3
Levofloxacina	25	0	33,3
Cefalotina	100	100	83,3

A tabela 2 demonstra as taxas de resistência antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa* (testados Ceftazidina, Gentamicina, Tobramicina e Piperacilina-tazobactam) e apresentaram aumento entre os tempos 48 e 96 horas.

Tabela 2 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa* conforme tempo de hospitalização.

Antibiograma *Pseudomonas aeruginosa*	24 horas	48 horas	96 horas
Ceftazidina	0	100	100
Gentamicina	0	100	0
Tobramicina	0	100	0
Piperacilina-tazobactam	0	100	100

As taxas de resistência antimicrobiana ao *Staphylococcus aureus* são demonstradas na Tabela 3, sendo possível observar aumento da resistência à Oxacilina diretamente proprocional em relação ao tempo de hospitalização . Eritromicina e Clindamicina também apresentaram aumento da resistência em relação aos tempos inicial e final. O cotrimazol apresentou apenas sensibilidade nos tempos 24 horas e 96 horas e diferença de resistência no tempo 48 horas.

Tabela 3 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* conforme o tempo de hospitalização.

Antibiograma *Staphylococcus aureus*	24 horas	48 horas	96 horas
Eritromicina	57,1	33,3	75
Clindamicina	42,9	83,3	50
Penicilina	100	33,3	75
Oxacilina	14,3	66,7	75
Cotrimazol	0	16,7	0

As análises para Enterococcus sp demonstraram predominância da resistência aos antimicrobianos testados (Ampicilina, Penicilina, Levofloxacina, Vancomicina, Linezolida) nos primeiros tempos em relação ao último, conforme a tabela 4.

Tabela 4 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Enterococcus sp*. conforme o tempo de hospitalização.

Antibiograma para *Enterococcus sp.*	24 horas	48 horas	96 horas
Ampicilina	40	100	0
Penicilina	40	50	33,3
Levofloxacina	20	0	0
Vancomincina	40	0	0
Linezolida	60	0	0

Como demonstrado no gráfico 1, quando comparadas as taxas de resistência aos antibióticos para todas as bactérias analizadas nos diferentes tempos, não houve diferença estatisticamente significante.

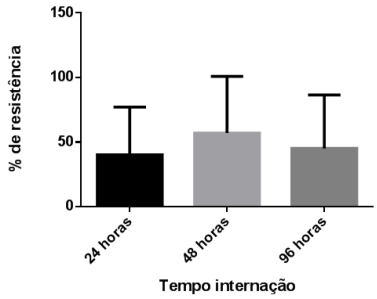


Gráfico 1 – Comparação das taxas de resistência observada para todas as bactérias isoladas nos diferentes tempos.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos dentro das condições estabelecidas na metodologia empregada, pôde-se concluir que a resistência bacteriana de todos os microrganismos avaliados não demonstrou alteração significativa nos diferenteS tempos de coleta. Além disso, são necessários mais estudos para a definição de variáveis que influenciam no aumento da resistência bacteriana em pacientes com pneumonia associada a ventilação mecância.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq, Fundação Araucária e UEPG, aos técnicos de laboratório, à Dra Shelon Cristins Souza Bandeca e Me. Fernanda Couto Mileo.

Referências

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. *Rev eletr de enferm, v. 10, n. 1, p. 189-197, 2008.*

OLIVERIA, A. C.; HORTA, B.; MARTINHO, G. H.; DANTAS, L. V.; RIBEIRO, M. M. Nosocomial infection and bacterial resistance in patients from a teaching hospital intesive care unit. *Braz J Nursing*, v. 6, n. 2, p. 1-14, 2007.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. *Redalyc*, v. 13, n. 1, p. 64-70, 2004.

ZARCO, M. F.; VESS, T. J.; GINSBURG, G. S. The oral microbiome in health and disease and the potential impacto on personalized dental medicine. *Oral Dis,* v. 18, n. 1, p. 109-20, 2012.