



Universidade Federal Fluminense

ESCOLA DE ENFERMAGEM
AURORA DE AFONSO COSTA



Aspectos fenotípicos e genotípicos de *Pseudomonas aeruginosa* em feridas crônicas: estudo descritivo

Fernanda Soares Pessanha¹, Bruna Maiara Ferreira Barreto¹,
Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira¹, Geraldo Renato de Paula¹,
Lenise Arneiro Teixeira¹, Ana Clara Silveira Marques¹

¹ Universidade Federal Fluminense

RESUMO

Infecções nas feridas podem prolongar a fase inflamatória do processo de cicatrização. A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é comumente encontrada em ferimentos crônicos e colabora para a cronicidade, além de apresentar resistência natural aos antimicrobianos, o que dificulta o tratamento e pode variar conforme os produtos empregados nas lesões. **Objetivo:** analisar as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* encontradas nas feridas crônicas de pacientes ambulatoriais tratados com gel de carboximetilcelulose a 2% ou placa de poliuretano. **Método:** estudo descritivo, com abordagem quantitativa, por meio da coleta de material biológico das feridas por *swab*, cultura, identificação e caracterização molecular dos microrganismos encontrados.-

Descritores: Úlcera; Infecção dos Ferimentos; *Pseudomonas Aeruginosa*; Enfermagem.

SITUAÇÃO-PROBLEMA E SIGNIFICÂNCIA

O processo de cicatrização de feridas pode ser acelerado ou retardado por diversos fatores, tais como a presença de microrganismos e os produtos empregados. Feridas crônicas levam, em média, quinze semanas para cicatrizar⁽¹⁾ e apresentam um estado de inflamação prolongado⁽²⁾. O patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa* é um comumente encontrado nesses casos e de difícil tratamento, por apresentar resistência natural aos antimicrobianos⁽²⁾.

Por isso, a relevância desta pesquisa está na compreensão dos mecanismos de resistência aos antimicrobianos dessas bactérias para orientar antibioticoterapias específicas, diminuir o tempo de tratamento dos pacientes e reduzir custos no sistema de saúde.

A aplicação de análises moleculares das bactérias é o principal fator que justifica este estudo, tendo em vista que a exclusiva caracterização fenotípica⁽²⁾ limita a especificidade das análises microbiológicas.

HIPÓTESE

As feridas crônicas de pacientes ambulatoriais apresentam *Pseudomonas aeruginosa* com diferentes perfis de resistência aos antimicrobianos quando tratadas com gel de carboximetilcelulose a 2% ou com placa de poliuretano.

OBJETIVOS

Objetivo geral: analisar as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* encontradas nas feridas crônicas.

Objetivos específicos: identificar fenotipicamente as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*;

descrever a suscetibilidade dessas aos antimicrobianos; detectar genes envolvidos na resistência aos antimicrobianos através da reação em cadeia da polimerase; verificar a diversidade genética por meio da eletroforese em gel de campo pulsado; discutir a influência dos produtos nas características das cepas encontradas.

MÉTODO

Pesquisa descritiva, de abordagem quantitativa, com coleta de dados realizada no Ambulatório de Reparo de Feridas, do Hospital Universitário Antônio Pedro, e na Policlínica Regional da Engenhoca, ambos no Rio de Janeiro. A população atendida é de aproximadamente 200 pacientes por ano, prioritariamente mulheres acima de 50 anos, com úlceras venosas crônicas⁽³⁾. A amostra final será determinada por conveniência, com 70 pacientes ou quatro meses de coleta de dados (novembro de 2014 a fevereiro de 2015), o que for alcançado primeiro.

Critérios de inclusão: ter idade acima de 18 anos; apresentar ferida crônica; usar gel de carboximetilcelulose a 2% ou placa de poliuretano no curativo. Critérios de exclusão: apresentar úlcera crônica coberta totalmente por necrose; usar medicamentos imunossupressores. Critério de descontinuidade: mudar de produto durante os quinze dias de acompanhamento.

São realizadas duas consultas de enfermagem (D0 e D15) com coleta de dados de identificação e clínicos dos pacientes por intermédio de um protocolo próprio para avaliação dos clientes com lesões tissulares. A descrição da lesão inclui cálculo da área por planimetria, fotografia e coleta do *swab* no tecido de granulação.

As análises laboratoriais são feitas na Faculdade de Farmácia da UFF/RJ, onde os *swabs* são processados para desenvolvimento em caldo de soja trifosfato e em ágar cetrimida,

específico para crescimento de *P. aeruginosa*. Os crescimentos microbianos sugestivos serão submetidos primeiramente a testes de identificação fenotípicos.

Os antimicrobianos empregados nos testes de susceptibilidade por disco-difusão e concentração mínima inibitória serão determinados de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Os resultados desses testes direcionarão as buscas de genes específicos determinantes das resistências aos antimicrobianos encontradas, empregando *primers* específicos em reações de amplificação da polimerase (PCR). Os amplicons serão submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, impregnados com solução de brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta.

A análise da diversidade genética será determinada pela fragmentação do DNA total bacteriano com enzimas de restrição *SpeI* e submissão à eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) utilizando o sistema CHEF-DR III. Os géis serão inspecionados visualmente sob luz ultravioleta após impregnação com solução de brometo de etídio.

A análise dos dados será feita em duas etapas. A primeira será de avaliação dos dados clínicos e das feridas, os quais serão tabulados em planilhas no software Microsoft Excel (Número de série KGFVY-7733B-8WCK9-KTG64-BC7D8). Posteriormente, serão submetidos à avaliação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, caso a amostra final tenha menos de 50 sujeitos, ou Kolmogorov-Smirnov, se for composta por mais de 50 participantes, e analisados por estatística descritiva no software BioStat 5.3 (licença de uso gratuita).

A segunda etapa de análise será composta por correlações dos resultados dos testes microbiológicos em relação ao uso dos produtos. Algumas das variáveis analisadas: perfil de

suscetibilidade aos antimicrobianos e avaliação de determinantes genéticos de resistência; diversidade genética das *P. aeruginosa* inter e intra-pacientes; perfil de tempo de uso do produto em semanas. Esses dados também serão submetidos à avaliação da normalidade conforme tamanho da amostra. Os pesquisadores utilizarão teste de Pearson (dados normais) ou de Spearman (dados não normais), com nível de significância de 0,05.

REFERÊNCIAS

1. Fife CE, Carter MJ, Walker D, Thomson B. Wound Care Outcomes and Associated Cost Among Patients Treated in US Outpatient Wound Centers: Data From the US Wound Registry. Wounds (Online) [internet]. 2012 [Cited 2015 Jan 20] 24(1). Available from: <http://www.medscape.com/viewarticle/758216>
2. Holmes CJ, Plichta JK, Gamelli RL, Radek KA. Dynamic Role of Host Stress Responses in Modulating the Cutaneous Microbiome: Implications for Wound Healing and Infection. Adv Wound Care (Online) [internet]. 2015 [Cited 2015 Jan 20] 4(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4281854/> doi: 10.1089/wound.2014.0546
3. Oliveira BGRB, Castro JBA, Granjeiro JM. Panorama epidemiológico e clínico de pacientes com feridas crônicas tratados em ambulatório. Rev enferm UERJ (Online) [internet]. 2013 [Cited 2015 Jan 20] 21(1). Available from: <http://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/enfermagemuerj/article/view/10035/7820>

Detalhes do Projeto: Projeto de Dissertação do Mestrado Acadêmico em Ciências do Cuidado em Saúde - UFF

Orientadora: Prof^a. dr^a. Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira

Coorientador: Prof. dr. Geraldo Renato de Paula

Todos os autores participaram das fases dessa publicação em uma ou mais etapas a seguir, de acordo com as recomendações do International Committe of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013): (a) participação substancial na concepção ou confecção do manuscrito ou da coleta, análise ou interpretação dos dados; (b) elaboração do trabalho ou realização de revisão crítica do conteúdo intelectual; (c) aprovação da versão submetida. Todos os autores declaram para os devidos fins que são de suas responsabilidades o conteúdo relacionado a todos os aspectos do manuscrito submetido ao OBJN. Garantem que as questões relacionadas com a exatidão ou integridade de qualquer parte do artigo foram devidamente investigadas e resolvidas. Eximindo, portanto o OBJN de qualquer participação solidária em eventuais imbróglis sobre a materia em apreço. Todos os autores declaram que não possuem conflito de interesses, seja de ordem financeira ou de relacionamento, que influencie a redação e/ou interpretação dos achados. Essa declaração foi assinada digitalmente por todos os autores conforme recomendação do ICMJE, cujo modelo está disponível em http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE_final_13-06-2013.pdf

Recebido: 11-29-2014
Revisado: 01-26-2015
Aprovado: 01-26-2015