

**ESTUDO COMPARATIVO DA VIRULENCIA CAUSADA EM RATOS WISTAR IMUNOCOMPETENTES INDUZIDOS À PNEUMONIA GRANULOMATOSA PELAS BACTERIAS: *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* COLHIDAS EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVADE UM HOSPITAL DA FRONTEIRA AMAZONICA.**

\* Elaine de Souza Corrêa

\* Rebecca dos Prazeres Lopes

\* Tulyana Pink Fernandes Praxedes

\*\* Thiago César Reis Pereira

**RESUMO**

Introdução: Estudos apontam uma alta virulência relacionada as bactérias *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae-KPC* e *Pseudomonas aeruginosa*, entretanto ainda não existem estudos suficiente comparando o grau virulento das três bactérias entre si. Pressupõe-se que as bactérias *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae-KPC* tenham um maior tropismo pelo tecido pulmonar assim as mesmas causando mais pneumonias quando comparadas a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Portanto tal estudo tem o objetivo de comparar o grau de virulência das três bactérias gram-negativas em ratos Wistar imunocompetentes. Método: Os animais foram divididos em quatro grupos: Grupo Acineto - 5 animais; Grupo Klebsiella - 5 animais; Grupo Pseudomona - 5 animais; e Grupo Não-Infectado - 3 animais. Os grupos foram infectados por via intra-peritoneal (I.P.) com volume de 50 µl contendo 1.107 bacilos das bactérias mencionas cada uma relacionada ao seu grupo, diluídos em solução PBS 1x. Por nove dias. Aos 10 (dez) dias pós-infecção (DPI), os animais foram submetidos à eutanásia pelo aprofundamento anestésico.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae-KPC*; *Pseudomonas aeruginosa*; Pneumonia; Ratos Wistar;

**COMPARATIVE STUDY OF VIRULENCE CAUSED IN IMMUNOCOMPETENT WISTAR RATS INDUCED BY BACTERIA: Granulomatous Pneumonia: *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* HARVESTING IN AN INTENSIVE THERAPY UNIT A HOSPITAL OF THE AMAZON BORDER.**

**ABSTRACT**

Introduction: Studies show a high virulence related to bacteria *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae-KPC* and *Pseudomonas aeruginosa*, however

\* Graduando do Curso de Fisioterapia da Faculdade Cathedral, Boa Vista – RR

\*\* Doutor em Patologia pela Universidade Paulista, Docente no Curso Superior de Fisioterapia da Faculdade Cathedral, Boa Vista - RR

there are still not enough studies comparing the virulent degree of the three bacteria to each other. It is assumed that the bacteria *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC have a higher tropism for lung tissue thus causing more pneumonia compared to the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. Therefore, this study aims to compare the degree of virulence of the three gram-negative bacteria in immunocompetent Wistar rats. Method: The animals were divided into four groups: Acineto Group - 5 animals; *Klebsiella* Group - 5 animals; *Pseudomonas* Group - 5 animals; and Uninfected Group - 3 animals. The groups were infected intraperitoneally (I.P.) with a volume of 50 µl containing 1,107 bacilli of the mentioned bacteria each related to their group, diluted in 1x PBS solution. For nine days. At 10 (ten) days after infection (IPD), the animals were euthanized by anesthetic deepening.

Keyword: *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC; *Pseudomonas aeruginosa*; Pneumonia; Wistar rats;

## 1 INTRODUÇÃO

A pneumonia é uma infecção aguda que ocorre no parênquima pulmonar podendo manifestar sinais e sintomas respiratórios, como tosse, dispneia, taquipnéia, produção de secreção, febre, dores no tórax, fadiga, dores musculares e falta de apetite.<sup>1</sup> É a segunda causa de infecção adquirida em meio hospitalar, perdendo somente para infecções urinárias.<sup>2</sup> Comumente, as bactérias são os principais agentes causadores deste tipo de infecção.<sup>3</sup>

As bactérias gram negativas são as que mais estão presentes em infecções nosocomiais e isoladas em laboratórios microbiológicos, sendo frequentemente associadas a altas taxas de morbimortalidade e resistência a antimicrobianos, dentre elas estão a *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella Pneumoniae* e *Pseudomonas Aeruginosa*.<sup>4, 5</sup>

Elas apresentam como característica fatores de virulência que as fazem serem consideradas como patógenos nosocomiais de sucesso, esses fatores podem influenciar a capacidade da bactéria de aderir, invadir e colonizar o tecido do seu hospedeiro, tornando- se aptas para sobreviver em longo períodos de tempos em superfícies bióticas e abióticas, tolerantes a dessecação e outras circunstâncias hostis e manifestando habilidades como formação de biofilme, lipopolissacarídeos e absorção do ferro, sendo a formação de biofilme o fator de virulência mais relevante no contexto de resistência do mecanismo aos antimicrobianos.<sup>6, 7</sup>

Pressupõe-se que as bactérias *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*-KPC tenham um maior tropismo pelo tecido pulmonar, já que os pulmões são mais suscetíveis a microrganismos devido a sua vasta superfície epitelial que está sempre em contato com o ar inspirado, assim as mesmas causando mais pneumonias quando comparadas a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

O estudo tem o objetivo comparar o grau de virulência das três bactérias gram-negativas em ratos Wistar imunocompetentes, observando as lesões sofridas após os dias de infecção de cada Grupo de bactéria, identificando possíveis infecções.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

## 2.1 INFECÇÃO HOSPITALAR E RESISTÊNCIA BACTERIANA

São consideradas infecções hospitalares as manifestações infecciosas que ocorrem após a internação do paciente, podendo estas serem manifestadas durante o período de internação ou até mesmo um mês após a realização de procedimentos intra-hospitalares.<sup>8</sup> Ressalta-se que a má higienização das mãos é o principal responsável pela contaminação de pacientes imunodeprimidos.<sup>9</sup>

Os pacientes das unidades de terapia intensiva se encontram em uma situação com grave risco de contaminação, pois o fato de estarem em estado crítico resulta na necessidade de procedimentos invasivos. Com o emprego destes, torna-se indispensável a prática de manutenções dos aparelhos e objetos utilizados, porém até mesmo estas acarretam aumento no risco de infecções.<sup>10</sup> Com a exposição maior a possíveis infecções, aumenta-se o tempo de internação, o que torna de extrema necessidade a adoção de medidas de controle e/ou prevenção de maneira multidisciplinar.<sup>11</sup>

As bactérias podem possuir mecanismos de ação de resistência natural, geralmente sendo característico do perfil de cada uma delas, ou, mecanismos onde as mesmas sofrem modificações estruturais devido a sua troca de genes no processo de recombinação genética.<sup>12</sup> Os mecanismos de recombinação genética envolvem 1) Conjugação: duas ou mais bactérias se unem e transferem plasmídeos através de pili sexuais; 2) Transformação: uma bactéria absorve DNA disperso no meio ambiente resultante de uma bactéria morta; 3) Transdução: troca de DNA entre bactérias através de um vírus denominado bacteriófago.<sup>13</sup>

Os mecanismos de resistência bacteriana incluem a ação das enzimas  $\beta$ -lactamases, as quais acabam degradando o anel lactâmico impossibilitando-o de ligar-se a proteínas de ligação dos antibióticos, e, conseqüentemente o destruindo;<sup>14</sup> as bombas de efluxo com sua função ativa, conferem a ação de excreção de substâncias tóxicas do meio intracelular da bactéria para o meio extracelular;<sup>15</sup> a membrana pode sofrer uma significativa queda de porinas podendo diminuir a permeabilidade ou até mesmo torna-la impermeável, dificultando a difusão molecular de antimicrobianos.<sup>12</sup> Os padrões de resistências microbianas variam de acordo com a região geográfica do hospital, possibilitando diferentes níveis de resistência de uma mesma bactéria. Cada equipe multidisciplinar em uma unidade de saúde deve conhecer os tipos existentes e os métodos de tratamento microbiano, associando a técnicas de higiene e assepsia adequadas, sem esquecer-se da não medicação excessiva aos pacientes, com o intuito de evitar novas mutações.<sup>16</sup> O aumento na resistência a algumas drogas, está possivelmente relacionado a bactérias do tipo gram negativas, afinal estas contém uma membrana externa com presença de proteínas específicas seletivas que dificultam a entrada de alguns antimicrobianos, além de sofrerem trocas e recombinações genéticas<sup>17</sup> que as fazem possuir melhor proteção mecânica.<sup>18</sup>

## 2.2 PNEUMONIA

Podendo ser classificada em pneumonia nosocomial e em adquirida na comunidade, é uma enfermidade caracterizada por uma infecção no parênquima pulmonar, podendo ser suscitada por bactérias, vírus ou fungos. A pneumonia adquirida na comunidade acomete indivíduos nas primeiras 48 horas de internação ou antes da internação hospitalar, logo, a chamada de nosocomial ou hospitalar é aquela que acomete o indivíduo a partir das 48 horas de internato.<sup>19</sup>

As unidades de terapia intensiva são o setor com maior desenvolvimento de pneumonia nosocomial, podendo alcançar até 20 (vinte) vezes mais que o restante

dos setores e o acometimento de pacientes em ventilação mecânica varia de 7% a 40%. O trato respiratório inferior pode ser acometido pelos microrganismos por quatro vias, sendo elas: infecções no trato gastrointestinal, disseminação hematógena, inalação de aerossóis infectados e inoculação direta por aspiração, sendo esta última a via mais comum.<sup>19</sup>

Sabe-se que a pneumonia nosocomial está associada ao aumento no período de internação e nas taxas de mortalidade, confere-se também que é a infecção hospitalar mais frequente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs).<sup>20</sup>

Durante a última década estudos com base nos dados de vigilância epidemiológica têm relatado que um dos maiores problemas das instituições de saúde são as IRAS (Infecções Relacionadas a Assistência de Saúde). Segundo a Organização Mundial de Saúde estima-se que, por ano, hospitais europeus possuem custo de sete bilhões de euros e 37.000 (trinta e sete mil) mortes atribuídas a infecções hospitalares. Dados dos Estados Unidos da América revelam que em 2002, de 100.000 (cem mil) mortes, 36.000 (trinta e seis mil) foram consequentes de pneumonia nosocomial e que esta é responsável por 15 a 20% das infecções hospitalares.<sup>21</sup> Calcula-se que no Brasil entre 14% e 19% dos pacientes internados adquirem IH/IRAS e dependendo do setor hospitalar, essa porcentagem pode alcançar 88%.<sup>22</sup>

### 2.2.1 *Pseudomonas Aeruginosa*

A *Pseudomonas Aeruginosa* é uma espécie de microrganismo pertencente ao gênero *pseudomonas* sp. da família *pseudomonadaceae*.<sup>23</sup> É uma bactéria que atinge pacientes com a imunidade comprometida e possui parcial ou total resistência aos antibióticos de largo espectro de ação.<sup>24</sup> Trata-se de um bacilo gram negativo, aeróbico, não esporulado e não fermentador de carboidrato. Estruturalmente apresenta 0,5 a 1,0 mm de comprimento por 1,5 a 5,0 de largura, podendo ter um formato reto ou curvilíneo.<sup>25</sup> Dispõe da capacidade de crescer em temperaturas variáveis de 4C° a 42C°, tornando-a responsável pela contaminação de aparelhos de respiração, águas destiladas, objetos inanimados e até mesmo materiais cirúrgicos.<sup>27</sup>

Seu esqueleto permite significativa facilidade de se moverem por haver flagelos polares. Uma característica peculiar é que a *Pseudomonas Aeruginosa* possui pigmentos fluorescentes cognominados pioverdina e piocianina, estes contêm fenazila e um composto de Sideróforo, o que torna dificultoso o crescimento de outros microrganismos em seu derredor, facilitando a sua expansão.<sup>28</sup>

### 2.2.2 *Acinetobacter baumannii*

A *Acinetobacter baumannii* possui ampla importância e impacto na comunidade científica, pois está ligada a diversos tipos de infecções como endocardites, meningites e pneumonias. É um cocobacilo aeróbio estrito, Gram negativo, não formador de esporos, não fermentador de glicose, com motilidade negativa<sup>29</sup> e está presente no índice de infecções hospitalares como a quinta maior prevalência no Brasil.<sup>30</sup>

São capazes de sobreviver por longos períodos devido a pouca necessidade nutricional,<sup>31</sup> por possuir a capacidade de adquirir, de forma veloz, resistência a várias classes de antibióticos é considerada um problema significativo de saúde mundial.<sup>30</sup> Seu nível de resistência é preocupante pois Bariani, Mimica<sup>32</sup> mostram que esta apresenta praticamente 100% de resistência à ceftazidima e ciprofloxacina e produtoras de ESBL.

As infecções ocasionadas pela *Acinetobacter baumannii* tendem a se apresentar, na maioria dos casos, nas Unidades De Terapia Intensiva (UTIs) e alcançar indivíduos com co-morbidades. Possuem preferência pelo trato respiratório, porém também acometem o aparelho urinário, corrente sanguínea e sistema nervoso central (SNC). Ao avaliar os dados de mortalidade, notou-se que a permanência hospitalar prolongada, procedimentos invasivos e uso prévio de antibióticos foram frequentes nos pacientes.<sup>30</sup>

### 2.2.3 *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)

É uma bactéria gram-negativa pertencente à família das enterobacteriaceae.<sup>33</sup> Apresenta resistência a 95% dos medicamentos, afinal produz a enzima beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), capaz de inativar diversos agentes microbianos.<sup>34</sup>

A disseminação de enterobactérias produtoras de KPC estabelece um grave problema epidemiológico de forma global nas unidades de saúde.<sup>35</sup> Apesar de ocorrer mais frequentemente na *K. pneumoniae*, essa enzima já foi identificada em praticamente todos os membros de importância clínica da família Enterobacteriaceae.<sup>36</sup>

Tal bactéria é capaz de suscitar enfermidades como pneumonia, rinite crônica atrófica e infecções no trato urinário. Enfermos infectados com KPC tendem a ter quadros mais graves durante a pneumonia, além do agravamento do quadro respiratório pode haver presença de edemas e SEPSE.<sup>33</sup>

## 3 MÉTODO

O presente estudo caracterizou-se como pesquisa experimental, realizada no laboratório de Biologia Molecular da Faculdade Cathedral de Boa Vista-RR, a partir da utilização de Ratos winstar e bacilos gram negativos de *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC e *Pseudomonas aeruginosa*, obtidos a partir de um banco de dados bacteriológico colhido em uma unidade de terapia intensiva e armazenado na faculdade Cathedral.

Foram manipulados ratos winstar, do gênero masculino specific pathogen-free (SPF), com quatro semanas de idade, foram infectados pela via intra-peritoneal (I.P.) com volume de 50 µl contendo  $1.10^7$  bacilos de *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC e *Pseudomonas aeruginosa* diluídos em solução PBS 1x. Foram utilizadas seringas e agulha de insulina estéreis e descartáveis. Os experimentos foram conduzidos no biotério da Faculdade Cathedral de Boa Vista-RR, que possui estrutura bem como certificação para manutenção de animais SPF. Todos os animais foram alimentados com ração e água estéreis. A maravalha estéril foi trocada duas vezes por semana.

Os bacilos de *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC e *Pseudomonas aeruginosa* utilizados para a infecção foram obtidos na UTI do hospital geral de Roraima. As culturas foram incubadas a 37°C, com 5% de CO<sub>2</sub> no Laboratório de Cultura Celular da Faculdade Cathedral. A cada 07 (sete) dias, o sobrenadante da cultura foi coletado e centrifugado por 30 minutos a 1500 rpm para obtenção dos esporos contidos no sedimento, que foram ressuspenso em PBS com 0,1% de Tween 20 e centrifugado com Percoll a 50%. Os bacilos coletados do sobrenadante foram lavados 3 vezes em solução tampão fosfato-salina (PBS) armazenados a 4°C. Para contagem dos bacilos foi utilizada a câmara de Neubauer.<sup>37</sup>

Os animais foram divididos em 4 grupos: Grupo *Acineto* (GA) – ratos inoculados com *bacilos de Acinetobacter baumannii* com 5 animais; Grupo *krebsiella* (GK) – ratos inoculados com *bacilos de Klebsiella pneumoniae-KPC*, com 5 animais; Grupo *Pseudomonas* (GP)– ratos inoculados com *bacilos de Pseudomonas aeruginosa*; e Grupo *Não-Infestado* (GC) – ratos não inoculados com 3 animais, foram mantidos sob as mesmas condições.<sup>38</sup>

Por nove dias os animais dos grupos GA; GK; GP foram inoculados via intraperitoneal (I.P.) com volume de 50 µl contendo  $1.10^7$  com suas respectivas bactérias.

Aos 10 (dez) dias pós-infecção (DPI), os animais foram submetidos à eutanásia pelo aprofundamento anestésico para tal foi administrado por via intraperitoneal utilizando-se mistura de quetamina (40 mg/Kg), xilazina (8 mg/Kg) e fentanil (4 mg/Kg). Em seguida, foi realizado pinçamento até a verificação da ausência de sensibilidade. Posteriormente, a necropsia foi iniciada com a punção cardíaca através da abertura do tórax com tesoura, coletando-se até 1 (um) mL de sangue, que foi posteriormente dividido em 2 (duas) alíquotas para determinação da carga parasitária (dados não demonstrados) e obtenção do soro após centrifugação. Em seguida, foram injetados 50mL de solução PBS 1x estéril pela via intracardíaca. Os pulmões e o coração foram colhidos e processados para análise histológica.

Os fragmentos foram coletados do pulmão para fixação em solução de formol tamponado a 10% por até 48 horas, que foram clivados e processados rotineiramente, e finalmente embebidos em parafina para análise histopatológica. Posteriormente, fragmentos teciduais foram rotineiramente cortados em fragmentos de 03 (três) µm de espessura. Os cortes foram dispostos em lâminas de vidro, corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE) e coloração de Gram-Cromotrope e examinados pela microscopia de luz - Nykon Eclipse E200, Tokio, Japão.<sup>39</sup>

Este estudo foi desenvolvido considerando-se os aspectos éticos pertinentes a pesquisas envolvendo animais conforme a lei 6.638, de 08 de maio de 1979, que estabelece normas para a prática da vivissecção de animais, bem como os Princípios Éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) de 1991, entidade filiada ao *International Council of Laboratory Animal Science* (ICLAS).<sup>40</sup> Todos os experimentos foram aprovados pelo comitê de ética da UNIP (CEUA 043-18).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análise Macroscópica

#### 4.1.1 Grupo *Acineto* (GA):

Figuras 1, 2 e 3 - Rato. Grupo *Acineto*, onde não mostram lesões macroscópicas em pulmão, baço ou cérebro.

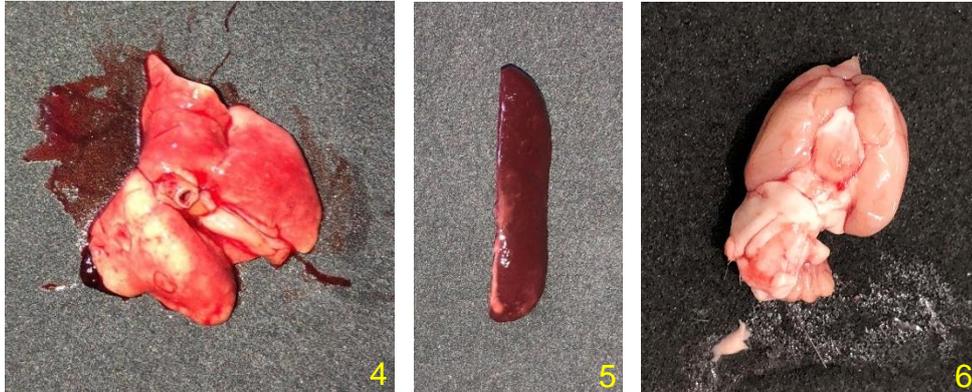


FONTE: autores

No grupo *Acinetobacter* não foi observado processo inflamatório agudo ao qual não sugere pneumonia, nem qualquer outra infecção, associada aos bacilos de *Acinetobacter baumannii*.

#### 4.1.2 Grupo *Klebsiella* (GK):

Figuras 4, 5 e 6 - Rato. Grupo *Klebsiella*, onde não revelou lesões macroscópicas em pulmão, baço ou cérebro.



FONTE: autores

No grupo *Klebsiella* não foi observado processo inflamatório agudo ao qual não sugere pneumonia, nem qualquer outra infecção, associada aos bacilos de *Klebsiella pneumoniae-KPC*.

#### 4.1.3 Grupo *Pseudomona* (GP):

Figuras 7 - Rato. Grupo *Pseudomona*, onde revelou múltiplas áreas de inflamações tanto na parte anterior (A) quanto posterior (B) dos pulmões.



FONTE: autores

Figura 8 - Rato. Grupo *Pseudommona*, onde revelou uma coloração opaca e escurecida do baço.



FONTE: autores

Figura 9 - Rato. Grupo *Pseudommona*, onde não revelou alteração macroscópica em cérebro.



FONTE: autores

Em relação ao grupo *Pseudommona*, nos pulmões foram observados processos inflamatórios agudos ao qual sugere pneumonia, no baço sua coloração estava mais opaca e pálida, demonstrando que o mesmo, provavelmente, teria poucas células de defesas e no cérebro não foram observadas alterações macroscópicas ou qualquer outra infecção.

#### 4.1.4 Grupo Não-Infectado (GC):

Nos pulmões, baço, e cérebro do grupo *Não Infectado* não foi observado processo inflamatório agudo como já esperado por ser um grupo controle.

**Tabela 1**  
**Grupo ACINETO**

DIA	DATA	ALTERAÇÕES
1°	11/02/2019	
2°	12/02/2019	
3°	13/02/2019	
4°	14/02/2019	
5°	15/02/2019	
6°	16/02/2019	
7°	17/02/2019	

8°	18/02/2019	
9°	19/02/2019	
10°	20/02/2019	

**OBS:** A bactéria foi diluída em 10 ml de água destilada durante 9 dias sendo aplicado 30µm no quadrante inferior esquerdo do abdome do rato 001, e no 10° dia foi realizada a eutanásia.

**Tabela 2**  
**Grupo Klebsiella**

<b>DIA</b>	<b>DATA</b>	<b>ALTERAÇÕES</b>
1°	13/02/2019	
2°	14/02/2019	
3°	15/02/2019	
4°	16/02/2019	
5°	17/02/2019	
6°	18/02/2019	
7°	19/02/2019	
8°	20/02/2019	
9°	21/02/2019	
10°	22/02/2019	

**OBS:** A bactéria foi diluída em 10 ml de água destilada durante 9 dias sendo aplicado 30µm no quadrante inferior esquerdo do abdome, e no 10 dia foi realizada a eutanásia.

**Tabela 3**  
**Grupo PSEUDOMONAS**

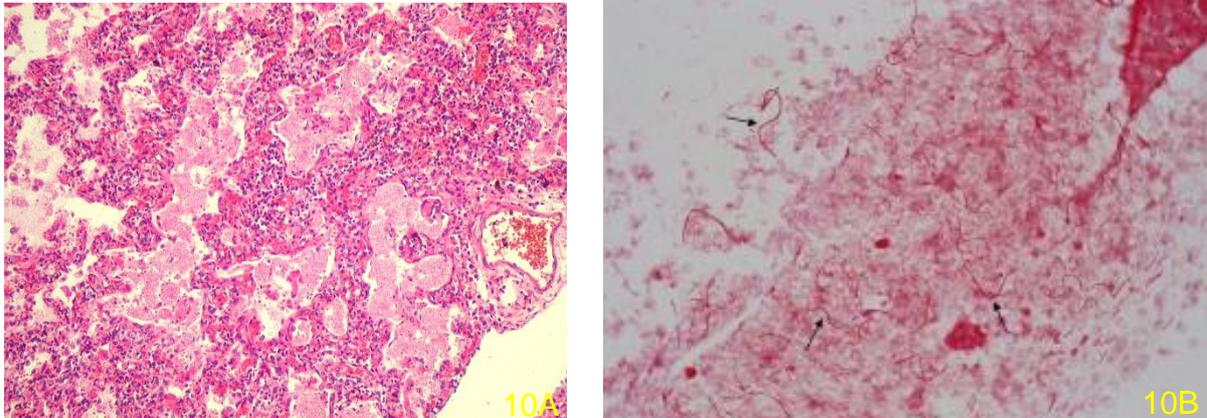
<b>DIA</b>	<b>DATA</b>	<b>ALTERAÇÕES</b>
1°	11/02/2019	
2°	12/02/2019	
3°	13/02/2019	
4°	14/02/2019	Sangramento nasal
5°	15/02/2019	Sangramento nasal
6°	16/02/2019	Sangramento nasal
7°	17/02/2019	Fezes pastosas com odor acentuado e urina turva (abatido)
8°	18/02/2019	Fezes pastosas com odor acentuado e urina turva (abatido)
9°	19/02/2019	Fezes pastosas com odor acentuado e urina turva (abatido)

10°	20/02/2019	
-----	------------	--

**OBS:** A bactéria foi diluída em 10 ml de água destilada durante 9 dias sendo aplicado 30µm no quadrante inferior esquerdo do abdome, e no 10° dia foi feita a eutanásia.

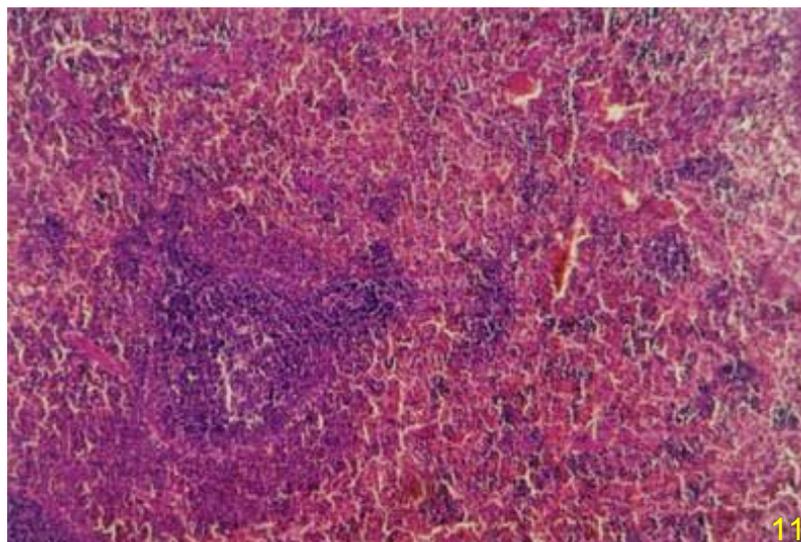
#### 4.2 Análise Histopatológica

Figura 10 - Rato. pulmão. Grupo Pseudomona: A) evidenciando Pneumonia granulomatosa multifocal leve a moderada: Histopatologia das lesões microscópicas granulomatosas, predominantemente compostas por macrófagos. B) bacilos de *Pseudomonas aeruginosa* em alvéolos dos ratos do Grupo GP.



FONTE: autores

Figura 11 - Rato. baço. Grupo PA: tecido esplênico evidenciando proliferação fibroblástica e polpa branca mais desenvolvida.



FONTE: autores

## 5 DISCUSSÃO

Estudos<sup>41,42</sup> apontam que a *Pseudomonas Aeruginosa* é a bactéria gram-negativa multirresistente que mais causa pneumonias em indivíduos imunocomprometidos internados em unidades hospitalares com uso de suporte ventilatório. Embora seja comum dessas cepas obterem maior predominância de infecção no trato respiratório inferior, podem também estar associadas a bacteremias, queimaduras, infecções urinárias hospitalares, infecções em

portadores de fibrose cística e, em certas condições, surtir meningites.

Infecções causadas por *Pseudomonas Aeruginosa* são complexas de tratar, dado a que esses microrganismos possuem altos níveis de resistência por apontarem diversos fatores de virulência, como o pili, flagelos, lipolissacarídeos e alginatos, fatores esses que favorecem a persistência dessas infecções.<sup>43</sup> Outros fatores de relevância para sua virulência são as toxinas, pigmentos e formação de biofilme, sendo estes colaboradores para o agravamento do processo infeccioso e destruição das células de defesa do seu hospedeiro, aspectos que podem vir a explicar a opacidade e coloração escurecida do baço<sup>44</sup>.

De acordo com o presente estudo, o Grupo *Pseudomona (GP)*, foi o que evidenciou macroscopicamente lesões características inflamatórias no tecido pulmonar, além de ter obtido episódios de sangramentos nasais típicos de inflamação no trato superior e inferior respiratório. Achados distintivos de infecções no trato gastrointestinal e urinário vieram mostrando alterações na tonalidade e espessura da urina e fezes.

*Acineto Baumannii* pouco se difere da *pseudomonas Aeruginosa* em relação aos seus achados infecciosos e de virulência, é uma bactéria citada frequentemente em estudos comparativos desses microrganismos, como um dos patógenos mais prevalentes causadores de pneumonias graves adquiridas em ambiente intra-hospitalar<sup>45,46</sup>. Cepas de *Acineto Baumannii* tem a capacidade de sobreviver em locais secos e com déficit de ferro, e aderir-se a células do epitélio respiratório pela formação de biofilmes, além desses fatores, na sua membrana externa está presente a proteína Ompa que é responsável pelo apoptose da célula humana, aumentando mais ainda o seu grau de virulência<sup>47</sup>. Dado a que, a bactéria *Acinetobacter baumannii* apresenta fatores de virulência relevantes, o presente estudo não evidenciou lesões inflamatórias macroscópicas significativas no tecido pulmonar, cérebro e baço do Grupo Acineto (GA). Não houve alterações de foco urinário e fecal durante os dias de inoculação das cepas no grupo.

O microrganismo *Klebsiella pneumoniae - KPC* é normalmente encontrado na microbiota do intestino com fácil identificação em via oral de seres humanos e animais, o que possivelmente pode vir a determinar um quadro de foco infeccioso em pacientes imunossuprimidos internados em UTI's fazendo o uso de suporte ventilatório, visto que, essa condição leva ao acúmulo de secreções e consequentemente a proliferação bacteriana deste<sup>48</sup>.

A *Klebsiella Pneumoniae* conta com a produção de diferentes tipos de virulência, como Fímbrias, adesinas, lipolissacarídeos, bombas de efluxo, biofilmes, sistema de secreção de toxinas, uréases e sideróforos<sup>6</sup>, fatores que auxiliam diretamente na patogenicidade deste microrganismo. Históricos clínicos como idade avançada, alcoolismo e diabetes, possuem maior suscetibilidade para adquirir infecções hospitalares e comunitárias oportunistas causadas pela *KPC*, como a pneumonia, que conta com a tosse, infiltrados pulmonares unilaterais, febre e leucocitose como sinais e sintomas<sup>49</sup>.

Apesar da *KPC* obter potentes fatores de virulência para aderir-se em seu hospedeiro e estarem relacionadas com bacteremias, o Grupo *Klebsiella (GK)* não apresentou nenhum infiltrado pulmonar, ou em qualquer outro órgão como o cérebro, baço e coração, podendo anular qualquer tipo de infecção focal ou generalizada. Essas cepas também estão relacionadas como causa comum de infecções do sistema urinário<sup>50,51</sup>, dado que, também não foi apresentado qualquer tipo de achado de infecção urinária.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que a virulência foi maior no grupo em que estava a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* quando comparada com os achados patológicos dos grupos que continham *Acinetobacter baumannii*; *Klebsiella pneumoniae*-KPC. A corrente sanguínea e o trato respiratório foram os principais sítios de infecção. O perfil de susceptibilidade revelou que as bactérias estudadas não foram tão agressivas com os animais imunocompetentes, com exceção da *Pseudomonas aeruginosa*. Não houve mudanças significativas na evolução dos Grupos GA e GK, exceto para o grupo GP, que apresentou infiltrado inflamatório em pulmão e baço. A relação entre o consumo de antimicrobianos e o aumento da resistência bacteriana tem sido de alto valor significativo para evolução destes patógenos, o que demanda novas investigações com o objetivo de identificar quais fatores são determinantes para o que padrão de resistência permaneça tão elevado nas UTI'S estudadas. Em face da epidemiologia das infecções por *P. aeruginosa* multirresistentes, em unidade de terapia intensiva, é necessário que o uso de antimicrobiano empírico deva ser instituído, com base em critérios clínico, epidemiológico e microbiológico.

## REFERÊNCIAS

- 1 Raghavendran K, Mylotte JM, Scannapieco FA. Nursing home-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: the contribution of dental biofilms and periodontal inflammation. *Periodontol 2000* 2007; 44:164-77.
- 2 Netto RF, Quaresma JAS. Pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes de uma unidade de terapia intensiva. *Revista Paraense de Medicina – Vol 28 (3) 2014.*
- 3 Rufino R, Pugliese JG, Kirk K, Bartholo TP, Mafort TT. Pneumonia adquirida no hospital – visão crítica. *BRAZILIAN JOURNAL BJHBS OF HEALTH AND BIOMEDICAL SCIENCES*. Vol 9, N.2- infecções respiratórias. 2010.
- 4 Mehrad B, Clark NM, Zhanel GG, Lynch JP 3rd. Antimicrobial resistance in hospital-acquired gram-negative bacterial infections. *Chest*. 2015.
- 5 Le NK, Hf W, Vu PD, et al. High prevalence of hospital-acquired infections caused by gram-negative carbapenem resistant strains in Vietnamese pediatric ICUs: A multi-centre point prevalence survey. *Medicine (Baltimore)*. 2016.
- 6 Carvalho MML, caracterização do papel da proteína PLDkp na Virulência de *Klebsiella pneumoniae*. Dissertação (mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, pós-graduação em biologia celular e molecular. Rio de Janeiro, 2018.
- 7 Santos MDV, Tipagem molecular de isolados clínicos de *acinetobacter baumannii* e *pseudomonas aeruginosa* por meio de análise do número variável de repetições em tandem (VNTR). Dissertação (mestrado) – Universidade federal de Pernambuco, 2013.

8 Duran RS, Costa BBF, Santos GA, Zangarino S jr. A responsabilidade civil por infecção hospitalar. Rev Cient Intraciência 2018 Jul; Edição (14): 13-1. 2018.

9 Ferreira JV. Infecção hospitalar na unidade de terapia intensiva: revisão bibliográfica. 2017.

10 Sousa AFLD, Oliveira LBD, Moura MEB. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares causadas por procedimentos invasivos em terapia intensiva. Rev Pre Infec e Saúde 2016; 2 (1-2): 11-7.

11 Silva PLN, Paiva PA, Cruz PKR, Magalhães FR, Souto SGT, Gonçalves RPF, et al. Prevenção de Infecções Hospitalares em pacientes internados em Unidade de Terapia intensiva. 2015.

12 Costa ALP, Silva ACS jr. Resistência Bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. 2017

13 Lima CC, Benjamin SCC, Santos RFS. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. Rev CuidArt Enf 2017 Jan-Jun;11(1): 113-105. 2017

14 Nogueira HS, Xavier AREO, Xavier MAS, Carvalho AA, Monção GA, Barreto NAP. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. Rer Unimontes Cient 2016 Jul; Vol (18), N (2): 108-97.

15 Dini VSQ. Análise da resistência antimicrobiana em cepas de pseudomonas aeruginosa isoladas em unidades de tratamento intensivo em Manaus. Manaus. Dissertação [Mestrado em Microbiologia aplicada a Biotecnologia] – Universidade Federal do Amazonas 2016.

16 Basso ME, Pulcinelli RFR, Aquino ARDC, Santos KF. Prevalência de infecções bacterianas em pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI). [Internet]. 2016.

17 Lima EMG, Marins EF, Hildegardes, RE, Soares RDS, Rodrigues AA. Incidência bacteriana e perfil de susceptibilidade de microrganismos isolados em hemoculturas de pacientes da unidade de terapia intensiva (UTI) Da santa Casa de misericórdia de Anápolis, Goiaás, no ano de 2013. Enciclopédia Bioesfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; 2015

18 Villalba MA. Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacterianas. Monografia [Pós-graduação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais]. 2015.

19 Carvalho PA, Rotbland M, Nogueira ACO. A DOENÇA PERIODONTAL COMO FATOR DE RISCO PARA A PNEUMONIA NOSOCOMIAL. Rev. Fluminense de odontologia, Rio de Janeiro. 2018.

20 Moraes LD, Cândido LS, Ferreira LL, Carvalho KC, Brandão DA, Marães GS. CONHECIMENTO DOS ACADÊMICOS DE MEDICINA EM RELAÇÃO A

PREVENÇÃO DE PNEUMONIAS POR ASPIRAÇÃO EM UTI. Rev. UniEVANGÉLICA. 2019-01-22.

21 Ferreira SAL, Ziegelmann PK, Kuchenbecker RS. Fatores Preditores para o Desenvolvimento de Pneumonia Hospitalar não Associada à Ventilação Mecânica: Revisão Sistemática e Metanálise. UFGRS LUME Repositório Digital. 2018.

22 Lima MFP, Borges MA, Parente RS, Júnior RCV, Oliveira ME. Staphylococcus aureus E AS INFECÇÕES HOSPITALARES – REVISÃO DE LITERATURA. Rev. UNINGÁ Review. 2015, Vol.21, n.1, pp.32-39.

23 Magalhães MJTL. Caracterização fenotípica e similaridade genética de isolados de pseudomonas aeruginosa provenientes de efluentes hospitalares e água superficial do igarapé do Mindu/Manaus-AM. Dissertação [ Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia. 2013.

24 Santos AV, Sailva MRPD, Carvalho MDM, Carvalho LRB, Moura MEB, Landim CAP. Perfil das Infecções Hospitalares nas Unidades de Terapia Intensiva de um Hospital de Urgência. Rev. de Enf. 2016 Jan; Vol (10 Supl.1): 201-194.

25 Castro JDNF. Perfil de resistência de cepas de pseudomonas aeruginosa em três centros de saúde do estado de RN. Dissertação [ mestrado em ciências biológicas] – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2015.

26 Santos ICDO. Estudo evolutivo da diversidade genética e resistência aos antimicrobianos em pseudomonas aeruginosa ao longo de 21 anos (1995-2015) no Rio de Janeiro. Dissertação [ mestrado em biologia celular e molecular]- Instituto Oswaldo Cruz. 2016.

27 Durães DD. Perfil epidemiológico dos pacientes críticos em tudo endotraqueal em unidade de terapia intensiva adulto. Monografia. 2016.

28 Bédard E, Prévost M, Déziel E. Pseudomonas Aeruginosa in premise plumbing of large buildings. Rev. Microbiology open. 2015.

29 Silveira M. FATORES DE RISCO, CLONALIDADE, SAZONALIDADE E PROGNÓSTICO DE COLONIZAÇÃO E/OU INFECÇÃO POR Acinetobacter baumannii EM HOSPITAIS PÚBLICOS NA CIDADE DE BAURU/SP. Repositório Institucional UNESP, Botucatu. 2018.

30 Machado MC. PERFIL DE DOENTES COM Acinetobacter baumannii EM UM HOSPITAL PRIVADO DE VITÓRIA DA CONQUISTA – BAHIA – BRASIL. RUN. 2018.

31 Assunção RG, Pereira WA, Abreu AG. Pneumonia bacteriana: aspectos epidemiológicos, fisiopatologia e avanços no diagnóstico. Rev. Investig, Bioméd. São Luís, 10(01):83-92, 2018.

- 32 Bariani DB, Mimica LMJ. Comparação entre os métodos direto e tradicional para avaliação e susceptibilidade antimicrobiana em amostras de secreção respiratória. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. 2010.
- 33 Alencar MPI, Silva JM, Vidal ME, et.al. KLEBSIELLA PNEUMONIAE: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. *Mostra Científica em Biomedicina, Volume 1, Número 01, Jun. 2016*;
- 34 Moreira VC, Freire D. *Klebsiella pneumoniae e sua resistência a antibióticos*. PUC Goiás;
- 35 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº 1/2013 – Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília (DF): ANVISA; 2013.
- 36 Arnold RS, Thom KA, Sharma S, Phillips M, Kristie Johnson J, Morgan DJ. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *South Med J*. 2011;104(1):40-5. Review.
- 37 Hornitzk M. Nosema Disease – Literature review and three surveys of beekeepers – Part 2. Rural Industries Research and Development Corporation. 2008; 8(6);
- 38 Lallo MA, Hirschfeld MPM. Encephalitozoonosis in pharmacologically immunosuppressed mice. *Exper paras*. 2012; 131(3): 339-343;
- 39 Da Costa LF, Alvares-Saraiva AM, Dell'Armeline Rocha PR, et al. B-1 cell decreases susceptibility to encephalitozoonosis in mice. *Immunobiology (jena. 1979)*, v. 222, p.218-227,2017;
- 40 Field A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. Sage, 2013;
- 41 Silva Targino. Análise fenotípica e genética de fatores de virulência de isolados clínicos de *Pseudomonas Aeruginosa* multidroga-sensível e multidroga-resistente de Recife – PE. [Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade de Pernambuco] UFPE, 70 f, 2016.
- 42 Barbaresco LF. Epidemia de pseudomonias associadas à ventilação mecânica por *Pseudomonas Aeruginosa* em pacientes internados na unidade de terapia intensiva de adultos de um hospital universitário brasileiro. [Pós-graduação em imagiologia e parasitologia]. 2010.
- 43 Da Silva TL. Atividade sinérgica do timol e agentes antimicrobianos frente à *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente e seus efeitos sobre a biossíntese de biofilme e piocianina. [Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas] UFPE, 2015.
- 44 De Almeida KCFS. Caracterização de *Pseudomonas aeruginosa* encontradas colonizando e/ou infectando pacientes queimados internados em um hospital público da cidade do rio de janeiro. [Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde]. UFF, 2016.

- 45 Kaunas L. Ventilator-Associated Pneumonia due to Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Risk Factors and Mortality Relation with Resistance Profiles, and Independent Predictors of In-Hospital Mortality. Rev. MDPI licenciado, Brasileia, Suiça, v 55, 2019.
- 46 Huang W, Zhang Q, Li W. Anti-outer Membrane Vesicle Antibodies Increase antibiotic sensitivity of pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Rev. MDPI licenciado, Brasileia, Suiça, 2019
- 47 Santos MDV. Tipagem molecular de isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* por meio da análise de múltiplos locos vntr (mlva). [Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia]. UFPE, 2013.
- 48 Almeida AM. Resistência antimicrobiana em isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* em um hospital na cidade de Uberlândia, Minas Gerais. Monografia. 2017.
- 49 De Sousa ABA, Ramalho FL, Camargo B. Prevalência de infecções nosocomiais ocasionadas por *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) em indivíduos hospitalizados. Anais do 15 Simpósio de TCC e 8 Seminário de IC do Centro Universitário ICESP. 243-251, 2019.
- 50 Paczosa MK, Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the offense with a Strong defense. American Society for Microbiology, 80 (3), 2016.
- 51 Chang F. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection. Arch Intern Med, 2002.