



## Produção de biofilme por bacilos Gram-negativos não fermentadores resistentes de unidade de terapia intensiva

Biofilm production by resistant non-fermenting gram-negative bacilli from intensive care units

Producción de biopelículas por bacilos gramnegativos no resistentes a la fermentación en la unidad de cuidados intensivos

Maria Izabely Silva Pimentel<sup>1</sup>, Carlos Alberto Medeiros Neto<sup>1</sup>, Lamartine Rodrigues Martins<sup>1</sup>, Mariana Quitéria de Moraes Silva<sup>1</sup>, Igor Vasconcelos Rocha<sup>2</sup>, Sibebe Ribeiro de Oliveira<sup>1</sup>

### Como citar este artigo:

Pimentel MIS, Medeiros Neto CA, Martins LR, Silva MQM, Rocha IV, de Oliveira SR. Biofilm production by resistant non-fermenting gram-negative bacilli from intensive care units. Rev Pre Infec e Saúde [Internet]. 2020;6:9732. Available from: <http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/9732> DOI: <https://doi.org/10.26694/repis.v6i0.9732>

<sup>1</sup> Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Departamento de Biomedicina, Caruaru, Pernambuco, Brasil.

<sup>2</sup> Instituto Aggeu Magalhães (IAM/Fiocruz-PE), Departamento de Biociências e Biotecnologia em Saúde, Recife, Pernambuco, Brasil.

### ABSTRACT

**Introduction:** The Intensive Care Unit is one of the hospital departments in which the highest number of bacterial isolates multidrug-resistant to antimicrobials prevails. Infections caused by Non-Fermenting Gram-Negative Bacillus (NFGNB) are of great importance and clinical concern, especially when they are related to multidrug-resistant microorganisms. One of the main mechanisms associated with bacterial resistance is the production of biofilm. **Objective:** To verify the presence, resistance profile as well as bacterial biofilm production of NFGNB isolates from tracheal secretion, blood culture, and surfaces of an Intensive Care Unit. **Outline:** Samples were collected from February to September 2018. MacConkey Agar, Triple Sugar Iron, and oxidase test were used for bacterial identification. Antimicrobial resistance occurred by the Kirby-Bauer disk diffusion method, and the presence of bacterial biofilm was verified by Quantitative Microtiter Dish Biofilm Formation assay. **Results:** Of 30 gram-negative isolates, seven were NFGNB. Four of the genus *Acinetobacter* sp., two of the genus *Pseudomonas* sp., and one of the genus *Burkholderia* sp. were identified. The results showed moderately and strongly biofilm producing isolates. **Implications:** The bacteria found showed high resistance to the antibiotics tested associated with biofilm production. Identifying these pathogens can contribute greatly to more effective hospital antibiotic therapy.

### DESCRIPTORS

Biofilms; Drug Resistance, Microbial; Intensive Care Units; Bacteria.

**Autor correspondente:**  
Maria Izabely Silva Pimentel  
E-mail: izabelypimentel@hotmail.com

Submetido: 2019-11-21  
Aceito: 2020-04-23  
Publicado: 2020-04-30

## INTRODUÇÃO

A Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é um dos locais onde o isolamento de microrganismos patogênicos ocorre com maior frequência tendo em vista que os pacientes ali presentes são mais susceptíveis ao desenvolvimento de infecções, principalmente por microrganismos resistentes, com taxas de Infecções Associadas aos Cuidados de saúde (IAC) variando de 18 a 54%.<sup>1</sup> IAC são responsáveis pelo aumento de mortalidade e morbidade em adição a causas psicológicas e consequências sociais para o paciente.<sup>2</sup> Com o aumento da IAC, a contaminação cruzada surge como um potencializador do quadro do paciente, já que pode acontecer não apenas de pessoa a pessoa, mas também entre eles e superfícies da UTI.<sup>3-4</sup>

Estudos desenvolvidos para investigar as superfícies mais contaminadas dentro de uma UTI verificaram maior contaminação nas grades direita e esquerda das camas, juntamente com a prateleira do monitor cardíaco, botões reguladores de altura da cama, botões da bomba de infusão, entre as superfícies próximas ao paciente.<sup>5</sup> De uma maneira geral, ao avaliar as amostras biológicas colhidas da UTI para exames microbiológicos, destacam-se a secreção traqueal, hemocultura e urina,<sup>6</sup> enquanto outros estudos têm associado alta prevalência de Bacilos Gram-Negativos Não Fermentadores (BGNNF) em amostra traqueal.<sup>7</sup> Em relação às hemoculturas, pelo fato do sangue ser fisiologicamente estéril, o achado de microrganismos deve ser investigado, tendo em vista a possibilidade de um quadro de sepse.<sup>8</sup> A presença de bactérias nas hemoculturas sugere um significado clínico pela possibilidade da bacteremia do paciente evoluir para uma septicemia.<sup>8-10</sup>

Dentre os microrganismos de maior isolamento em UTI, destacam-se os BGNNF, com alta taxa de mortalidade, podendo ser encontrados em secreção

traqueal, hemoculturas e superfícies próximas ao paciente. Trata-se de bactérias aeróbias, não esporuladas que não utilizam carboidratos como fonte de energia por meio da fermentação, degradando-os pela via oxidativa.<sup>11</sup> Mais de 30 gêneros foram classificados como patogênicos, destacando-se os seguintes: *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Stenotrophomonas* sp. e *Burkholderia* sp.<sup>12</sup>

Esses microrganismos têm sido comumente associados com altas taxas de resistência e também produtores de biofilme, representando uma ameaça para saúde pública o que dificulta o tratamento das infecções causadas por eles. A produção de biofilme tem potencializado a colonização bacteriana e é responsável por selecionar as linhagens bacterianas resistentes, uma vez que esses microrganismos presentes no núcleo do biofilme não sejam afetados pelos antimicrobianos utilizados no tratamento do paciente e permaneçam viáveis.<sup>8</sup>

Devido ao aumento de infecções relacionadas aos cuidados da saúde, a identificação e conhecimento sobre o agente etiológico e os mecanismos de resistência aos antimicrobianos relacionados a ele constitui uma excelente estratégia no controle das IAC. Desta maneira, o propósito deste estudo foi verificar a presença, a habilidade de formação de biofilme e o perfil de resistência antimicrobiana dos BGNNF isolados de amostras de secreção traqueal, hemocultura e superfícies hospitalares, visto que a contaminação agrava o perfil clínico do paciente.

## MÉTODO

Trata-se de um estudo observacional, descritivo transversal desenvolvido em uma UTI de um hospital de Caruaru-PE, Brasil, no período de janeiro a novembro de 2018. A aprovação ética foi obtida do comitê de ética do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA) (número do código

77393617.0.0000.5203/2.348.001 e 77418217.0.0000.5203/2.348.003). Os espécimes de secreção traqueal e hemocultura foram obtidos no hospital e encaminhados, sob condições adequadas no que se refere à biossegurança, para o Laboratório de Microbiologia da ASCES-UNITA.

As amostras de superfície foram coletadas durante a hospitalização do paciente, por conveniência, das grandes direita e esquerda utilizando swab estéril umedecido em caldo *Tryptic Soy Broth* (TSB) (KASVI® - São José do Pinhais-PR, Brasil).<sup>5</sup> Os swabs foram depositados novamente no TSB e incubados a 37°C por 18 a 24 horas. Havendo crescimento bacteriano por inspeção visual, eles foram semeados em placas de Ágar MacConkey (KASVI® - São José do Pinhais-PR, Brasil).<sup>9</sup>

As secreções traqueais foram obtidas dos frascos originais de coleta com o auxílio de um swab estéril, enquanto para análise das hemoculturas, utilizando uma seringa de 3mL, foi retirado cerca de 0,25mL de sangue do frasco de hemocultura. Todas as amostras de secreção traqueal e hemocultura foram semeadas em placas de Ágar MacConkey (KASVI® - São José do Pinhais-PR, Brasil) e foram incubadas por 18 a 24 horas para verificação do crescimento bacteriano.<sup>8</sup>

A identificação dos isolados foi realizada de acordo com características macro e microscópica das colônias, coloração de Gram e testes bioquímicos. O teste para fermentação de carboidratos foi confirmado em Ágar *Triple Sugar Iron* (TSI) (KASVI® - São José do Pinhais-PR, Brasil), como também teste de oxidase (LABTEST® - Lagoa Santa-MG, Brasil) para identificação de bactérias Gram-negativas não fermentadoras e o gênero bacteriano.<sup>9</sup>

O teste para análise do perfil de resistência aos microbianos foi realizado a partir do método de disco-difusão de Kirby-Bauer em Ágar Mueller-Hinton (KASVI® - São José do Pinhais-PR, Brasil), conforme proposto pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI).<sup>13</sup>

Para verificação de produção e quantificação de biofilme foi utilizada a técnica de O'Toole<sup>14</sup>,

juntamente com a metodologia de Trentin<sup>15</sup>. Brevemente, os isolados foram diluídos em solução salina até chegar OD<sub>625nm</sub> densidade de 0,08 - 0,13 AU (0,5 na escala de McFarland). 80µL de cada suspensão bacteriana e 120µL de caldo TSB foram adicionados em diferentes poços da placa de microtitulação. As placas foram incubadas em 37°C por 18 a 24 horas, após a qual, as suspensões bacterianas foram removidas através de lavagem com água. Posteriormente, foi adicionado 200µL de cristal violeta a 0,4% a cada poço, incubando posteriormente a placa por 15 minutos, sendo em seguida realizada uma nova lavagem. A produção de biofilme foi avaliada por microscopia óptica, observando as colônias aderidas na parede e/ou no inferior na placa de microtitulação, como grumos. O teste foi realizado em triplicata, e os poços contendo TSB estéril foram usados como controle negativo para produção de biofilme.

A quantificação do biofilme foi realizada utilizando-se 200µL de uma solução de ácido acético a 30% em cada um dos poços, solubilizando o biofilme, quando presente. A leitura da Densidade Óptica (DO) de cada poço foi conduzida através de um leitor de microplacas (Thermo Plate® - China) em 570nm, e a produção de biofilme foi classificada considerando o maior valor da DO para cada isolado (DO<sub>i</sub>) e comparando com a DO do controle negativo (DO<sub>c</sub>)<sup>16</sup>, sendo as categorias divididas em: i) não aderente (DO<sub>i</sub> ≤ DO<sub>c</sub>); ii) fracamente aderente (DO<sub>c</sub> < DO<sub>i</sub> ≤ 2 × DO<sub>c</sub>); iii) moderadamente aderente (2 × DO<sub>c</sub> < DO<sub>i</sub> ≤ 4 × DO<sub>c</sub>); e iv) fortemente aderente (4 × DO<sub>c</sub> < DO<sub>i</sub>).

## RESULTADOS

Foi observado que de 68 amostras clínicas utilizadas no estudo (10 de superfície, 49 de hemocultura e 9 de secreção traqueal), 64 amostras (94%) apresentaram crescimento bacteriano, sendo 32,81% de Gram-negativos. Destes, foram identificadas 33% de BGNNF, sendo *Acinetobacter* sp. (57%), *Pseudomonas* sp. (28%) e *Burkholderia* sp. (15%) os principais gêneros de BGNNF, conforme evidenciado na

Tabela 1. Apenas um paciente teve as três amostras, com positividade para todas.

**Tabela 1** – Identificação e distribuição dos gêneros bacterianos de BGNNF.

Microrganismo	Traqueal nº(%)	Hemocultura nº(%)	Superfície nº(%)	Total nº(%)
<i>Acinetobacter</i> sp.	0(0)	2(100)	2(50)	4(57%)
<i>Pseudomonas</i> sp.	1(100)	0(0)	1(25)	2(28%)
<i>Burkholderia</i> sp.	0(0)	0(0)	1(25)	1(15%)
<b>Total de isolados</b>	<b>1(14)</b>	<b>2(29)</b>	<b>4(57)</b>	<b>7(100)</b>

Nota: nº= número de isolados; %= percentual de isolados.

Todos os isolados de *Acinetobacter* sp. mostraram-se resistentes à ceftriaxona, ciprofloxacina, cefotaxima, ceftazidima, gentamicina, ampicilina associada à sulbactam, e imipenem. 75% desses gêneros apresentaram resistência à levofloxacina e piperacilina associada à tazobactam, e 50% mostraram-se resistentes à amicacina. 100% foram sensíveis à minociclina.

Os isolados de *Pseudomonas* sp. foram resistentes à ceftazidima, piperacilina associada à tazobactam, imipenem e aztreonam, e 50% foram resistentes à gentamicina.

O isolado de *Burkholderia* sp. não apresentou resistência aos antimicrobianos testados

(levofloxacina, ceftazidima, meropenem e minociclina).

A identificação da produção de biofilme foi possível pela observação no microscópio óptico das colônias aderidas nas paredes e/ou fundo da placa de microtitulação. Todos os isolados de BGNNF apresentaram-se produtores de biofilme bacteriano, quantificado em moderadamente aderente (71% dos isolados) e fortemente aderente (29%) quanto à produção de biofilme, sendo estes identificados em *Acinetobacter* sp. (25%) e *Pseudomonas* sp. (50%), de acordo com a Tabela 2.

**Tabela 2** – Perfil de resistência dos isolados clínicos, produção e quantificação do biofilme bacteriano.

Isolado	Amostra	Gênero bacteriano BGNNF	Antimicrobianos resistentes	Produção e quantificação do biofilme bacteriano
1	Secreção traqueal	<i>Pseudomonas</i> sp.	Imipenem, aztreonam, ceftazidima, piperacilina-tazobactam, gentamicina	Moderadamente aderente
2	Grade esquerda	<i>Acinetobacter</i> sp.	Ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina, ampicilina-sulbactam, imipenem, cefotaxima, ceftazidima, piperacilina-tazobactam	Fortemente aderente
3	Grade direita	<i>Pseudomonas</i> sp.	Imipenem, aztreonam, ceftazidima, piperacilina-tazobactam	Fortemente aderente
4	Grade direita	<i>Acinetobacter</i> sp.	Ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina, ampicilina-sulbactam, imipenem, cefotaxima, piperacilina-tazobactam, gentamicina, ceftazidima	Moderadamente aderente
5	Grade esquerda	<i>Burkholderia</i> sp.	Sem resistência	Moderadamente aderente
6	Hemocultura	<i>Acinetobacter</i> sp.	Amicacina, ceftriaxona, ciprofloxacina, levofloxacina, ampicilina-sulbactam, imipenem, cefotaxima, ceftazidima, piperacilina-tazobactam, gentamicina	Moderadamente aderente
7	Hemocultura	<i>Acinetobacter</i> sp.	Amicacina, ceftriaxona, ciprofloxacina, ampicilina-sulbactam, imipenem, cefotaxima, gentamicina, ceftazidima	Moderadamente aderente

## DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo inicial avaliar as amostras de superfície hospitalar e secreção traqueal e sua relação com *Acinetobacter* sp., no entanto, devido ao número limitado de amostras, também

foram incluídas hemoculturas e todos os isolados de BGNNF. Devido à política do hospital em estudo e às restrições do Código de Ética, não foi possível acessar os dados completos do paciente, dificultando o

conhecimento se os isolados encontrados estavam relacionados à sua condição clínica.

Há inúmeros fatores de risco que levam um paciente a ser colonizado por microrganismos, dentre eles internação prolongada, procedimentos invasivos e doenças de base, tais como diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, casos de desnutrição, acloridria gástrica, dentre outras. As internações, em sua maioria, não são causadas por doenças infecciosas, porém estas podem vir a acometer pacientes internados, desenvolvendo então um quadro infeccioso, levando a um tratamento mais extenso e com maior risco de aquisição de novas infecções.<sup>17-18</sup>

Os microrganismos mais isolados na UTI são as bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae*.<sup>18-20</sup> As bactérias que não fermentam glicose, grande parte das vezes,<sup>8,21-22</sup> não são evidenciadas, principalmente pela dificuldade de identificação laboratorial fenotípica delas. Na atualidade, estes microrganismos passaram a ter um significado clínico maior, tendo em vista seu perfil de resistência e produção de biofilme bacteriano.

No presente estudo, os BGNNF representaram 10,93% das amostras com crescimento, havendo prevalência em amostras de superfície, hemocultura e secreção traqueal, esta última com baixa ocorrência de isolados (14,28%) quando em comparação a outro estudo que de 326 isolados de BGNNF oriundos de várias amostras, como urina, secreção traqueal, escarro, 38,34% foram isolados de amostras de secreção traqueal, tendo essa variação devido ao tempo do estudo e número de amostras.<sup>11</sup>

Neste estudo houve ocorrência similar encontrada em hemocultura e superfícies, quando comparado aos estudos de Deliberali<sup>11</sup>, Oliveira<sup>8</sup> e Rocha<sup>5</sup>.

Este trabalho evidenciou o gênero *Acinetobacter* sp. como o mais prevalente em superfícies, estando esta prevalência relacionada provavelmente a sua versatilidade nutricional e metabólica, pois pode sobreviver em ambientes com poucos nutrientes, utilizando vários substratos como fonte de carbono, o

que aumenta seu tempo de colonização no ambiente hospitalar.<sup>5,23</sup> Por ser um patógeno de grande significado clínico, sendo considerado o maior causador de infecções na UTI por BGNNF, também foi o mais isolado das bactérias Gram-negativas na corrente sanguínea em estudos semelhantes realizados por Cunha<sup>24</sup> e Pailhoriès<sup>25</sup>, que durante o período estudado pela pesquisa<sup>24</sup> foram analisadas 5.759 hemoculturas, com 1.019 resultados positivos, *Acinetobacter baumannii* foi encontrado em 31 amostras, sendo o sexto patógeno mais isolado e correspondendo a 3,04% das hemoculturas positivas. Estudos com bactérias realizados em 75 países diferentes mostraram que os pacientes de UTI dos hospitais eram infectados por *Acinetobacter* sp. em cerca de 9% dos países participantes.<sup>26</sup>

*Acinetobacter* sp. é um patógeno de grande importância pois normalmente apresenta multirresistência a inúmeros antimicrobianos na prática clínica.<sup>24</sup> Neste estudo, os isolados deste gênero apresentaram sensibilidade ao antibiótico minociclina (100%), corroborando outros estudos nessa área,<sup>8,27</sup> que apresentaram resultados semelhantes a este. Quanto ao perfil de resistência bacteriana, outros estudos<sup>8</sup> evidenciaram a resistência à amicacina (100%), ciprofloxacina (100%), ceftriaxona (100%), ceftazidima (100%), imipenem (100%) e gentamicina (100%) frente ao gênero *Acinetobacter*, similar à presente pesquisa que destaca o que a literatura retrata em relação à sua resistência.

Conforme estudo<sup>28</sup> que avaliou secreção traqueal, em relação a *Pseudomonas* sp., no que se refere aos isolados de secreção traqueal, houve um único isolado, divergindo de outro estudo similar<sup>18</sup> no qual a prevalência destas bactérias representou 36,43% do total de 129 amostras de secreção traqueal, o que demonstra a importância da análise epidemiológica de isolados bacterianos de importância clínica, como uma das maneiras de contribuição no controle das taxas de infecção hospitalar.

Neste estudo, uma produção de biofilme foi observada em todos os isolados de BGNNF analisados,

sendo quantificados em fortemente aderentes (28,57%) e moderadamente aderentes (71,43%), mostrando-se superior ao relatado em estudo semelhante de produção de biofilme,<sup>29</sup> que evidenciou 75% dos isolados como produtores de biofilme, com 10% fortemente aderentes. Os mesmos autores verificaram ainda que 46,7% das bactérias eram multidroga sensíveis, e na presente pesquisa observa-se que, em relação ao gênero *Pseudomonas* sp., todas os isolados analisados foram multidroga resistentes. Esse resultado é similar aos de outros estudos, nos quais esse gênero bacteriano foi fortemente e moderadamente produtor de biofilme. Autores relatam a capacidade de crescimento deste gênero bacteriano mesmo em ambientes com mínima oferta de matéria orgânica.<sup>29-30</sup>

Os BGNNF têm adquirido importância como causadores de IAC, como do trato respiratório, trato urinário, de feridas cirúrgicas, dentre outras.<sup>11,31</sup> Isso se deve ao aumento da resistência antimicrobiana, devido à presença do biofilme bacteriano que é um fator no agravamento dessas infecções, pois pode ser formado em algumas áreas do corpo e ambientes, principalmente as superfícies próximas aos pacientes. A multirresistência bacteriana pode persistir mesmo após o tratamento com altas doses de medicamentos antimicrobianos.<sup>11,32-33</sup>

Pinheiro<sup>34</sup> verificou que 70% de todas as infecções hospitalares estão vinculadas à presença de biofilme em dispositivos médicos, mostrando ainda que as bactérias associadas à produção de biofilme se comportam diferente em sua taxa de crescimento, capacidade de resistência aos antimicrobianos e aumento de resistência à resposta imune do hospedeiro.

Moskowitz<sup>35</sup> relata que o antibiograma pode evidenciar uma antibioticoterapia eficaz *in vitro*, porém este método é realizado com as bactérias em sua forma planctônica, o que limita a correta avaliação do antibiótico testado. Essas bactérias podem apresentar-se protegidas pelo biofilme nos pacientes,

o que sugere que a resposta não seja a mesma da obtida através do teste padrão de resistência antimicrobiana. No presente estudo, o gênero *Burkholderia* apresentou-se moderadamente produtor de biofilme bacteriano, apesar de sua total sensibilidade *in vitro* através do antibiograma.

A produção de biofilme bacteriano nos hospitais está associada aos agravos da saúde pública, já que esse mecanismo contribui com a diminuição da qualidade de vida dos pacientes, aumento do tempo de internação e dos custos hospitalares, bem como elevação da morbimortalidade.<sup>31,36</sup>

No que se refere às medidas de contenção da instalação do biofilme bacteriano, percebe-se que os profissionais de saúde estão entre os principais veículos de disseminação microbiológica entre os pacientes. Uma identificação precoce de pacientes colonizados pode ajudar a controlar a taxa de propagação deste tipo de infecção,<sup>37</sup> e a higienização das mãos, apesar de simples e acessível, é um dos métodos de maior eficácia comprovada para prevenir a transmissão de isolados resistentes, devendo ser estimulada constantemente e realizada sempre que houver início e término de contato com os pacientes.<sup>38</sup>

## CONCLUSÃO

Os BGNNF encontrados neste estudo mostraram-se bastante resistentes à maioria dos antibióticos testados, o que dificulta o tratamento dos pacientes infectados. Esses microrganismos apresentaram-se moderadamente e fortemente aderentes em relação à produção de biofilme, agravando ainda mais a ação dos possíveis antimicrobianos utilizados. Os isolados bacterianos fortemente aderentes em relação à produção de biofilme foram encontrados nas superfícies próximas ao paciente, sugerindo maiores cuidados quanto à higienização local, no sentido de evitar possíveis infecções cruzadas. Estudos como este, em ambiente hospitalar, podem auxiliar nas ações que visem melhorias na diminuição das taxas de resistência.

**RESUMO**

**Introdução:** A Unidade de Terapia Intensiva é um dos setores no ambiente hospitalar com altas taxas de isolamento de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos. Infecções causadas pelos Bacilos Gram-Negativos Não Fermentadores (BGNNF) são de grande importância e preocupação clínica, especialmente quando relacionadas a microrganismos multirresistentes. Um dos principais mecanismos associados com a resistência bacteriana é a produção de biofilme. **Objetivo:** Verificar a presença, o perfil de resistência, bem como a produção de biofilme bacteriano de isolados de BGNNF oriundos de secreção traqueal, hemocultura e superfícies de uma Unidade de Terapia Intensiva. **Delineamento:** As amostras foram coletadas de fevereiro a setembro de 2018. Foi utilizado Ágar MacConkey, *Triple Sugar Iron* e teste de oxidase para a identificação bacteriana. A resistência antimicrobiana ocorreu pelo método de disco-difusão de Kirby-Bauer, e a presença do biofilme bacteriano foi verificada por quantificação evidenciada através de um leitor de placas de microtitulação. **Resultados:** De 30 isolados de Gram-negativos, sete foram BGNNF. Foram identificados quatro do gênero *Acinetobacter* sp., dois do gênero *Pseudomonas* sp., e um do gênero *Burkholderia* sp. Os resultados mostraram isolados moderadamente e fortemente produtores de biofilme. **Implicações:** As bactérias encontradas apresentaram grande resistência associada à produção de biofilme. A identificação desses patógenos pode contribuir sobremaneira numa antibioticoterapia hospitalar mais eficaz.

**DESCRITORES**

Biofilmes; Resistência Microbiana a Medicamentos; Unidade de Terapia Intensiva; Bactérias.

**RESUMEN**

**Introducción:** La Unidad de Cuidados Intensivos es uno de los sectores en el entorno hospitalario con altas tasas de aislamiento de bacterias multirresistentes a los antimicrobianos. Las infecciones causadas por bacilos gram-negativos no fermentadores (BGNNF) son de gran importancia y preocupación clínica, especialmente cuando están relacionadas con microorganismos multirresistentes. Uno de los principales mecanismos asociados con la resistencia bacteriana es la producción de biopelícula. **Objetivo:** Para verificar la presencia, el perfil de resistencia, así como la producción de biopelícula bacteriana, de aislados de BGNNF de la secreción traqueal, hemocultivo y superficies de una Unidad de Cuidados Intensivos. **Delineación:** Las muestras fueron recolectadas de febrero a septiembre de 2018. Se utilizaron el Ágar MacConkey, *Triple Sugar Iron* y la prueba de oxidasa para la identificación de bacterias. La resistencia a los antimicrobianos se produjo utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer y la presencia de la biopelícula bacteriana se verificó por cuantificación evidenciada a través de un lector de placas de microvaloración. **Resultados:** De los 30 aislamientos gram-negativos, siete eran BGNNF. Fueron identificados cuatro del género *Acinetobacter* sp., dos del género *Pseudomonas* sp., y uno del género *Burkholderia* sp. Los resultados mostraron moderadamente aislado y fuertemente productores de biopelícula. **Implicaciones:** La bacteria encontrada mostró una gran resistencia asociada con la producción de biopelícula. La identificación de estos patógenos puede contribuir en gran medida a una terapia antibiótica hospitalaria más efectiva.

**DESCRIPTORES**

Biopelículas; Farmacorresistencia Microbiana; Unidades de Cuidados Intensivos; Bacterias.

**REFERÊNCIAS**

1. Oliveira AC, Kovner CT, Silva RS. Nosocomial Infection in an Intensive Care Unit in a Brazilian University Hospital. *Rev Latinoam Enferm* [Internet]. 2010 Mar–Apr [cited 2020 May 05]; 18(2):233–9. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0104-11692010000200014>
2. Shang J, Needleman J, Liu J, Larson E, Stone PW. Nurse Staffing and Healthcare-Associated Infection, Unit-Level Analysis. *JONA: The Journal of Nursing Administration* [Internet]. 2019 May [cited 2020 Apr 23]; 49(5):260–5. Available from: <https://doi.org/10.1097/NNA.0000000000000748>
3. Megeus V, Nilsson K, Karlsson J, Eriksson BI, Andersson AE. Hand contamination, cross-transmission, and risk-associated behaviors: An observational study of team members in ORs. *AORN J* [Internet]. 2015 Dec [cited 2020 May 05]; 102(6):645e1–e12. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aorn.2015.06.018>
4. Paz V, Paniagua M, Santillán A, Alaniz M, D'Agostino L, Orellana R, et al. Hospital Environment Hygiene Nurse: A Key Player to Reduce Healthcare Associated Infections by Multi-Resistant Organisms. *Infection Prevention in Practice* [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 May 05]; 2(1). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2019.100030>
5. Rocha IV, Ferraz PM, Farias TGS, Oliveira SR. Resistência de bactérias isoladas em equipamentos em unidade de terapia intensiva. *Acta Paul Enferm* [Internet]. 2015 Sep-Oct [cited 2020 May 05]; 28(5):433–9. Available from: <https://doi.org/10.1590/1982-0194201500073>
6. Yaghoobi MH, Sabahi M, Ghaderi E, Seifrabiei MA, Bashar FR. Frequency of device-associated infections in intensive care units. *Tehran Univ Med J* [Internet]. 2020 Feb [cited 2020 May 05]; 77 (11):696–700. Available from: <http://tumj.tums.ac.ir/article-1-10201-en.html>
7. Cheikh MRE, Barbosa JM, Caixêta JAS, Avelino MAG. Microbiology of Tracheal Secretion: What to Expect with Children and Adolescents with Tracheostomies. *Int Arch Otorhinolaryngol* [Internet]. 2018 Mar [cited 2020 May 05]; 22(1):50–4. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0037-1601403>

8. Oliveira MEF, Araújo DG, Oliveira SR. Resistance of non-fermenting Gram-negative bacilli isolated from blood cultures from an emergency hospital. *J Bras Patol Med Lab* [Internet]. 2017 Apr [cited 2020 May 05]; 53(2):87–91. Available from: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20170013>
9. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. 12th ed. Porto Alegre: ARTMED; 2017.
10. Hoyos PV, Soto F, Pinzón D, Gonzáles D, Peñá C. Caracterización de pacientes pediátricos con hemocultivos positivos del servicio de cuidado intensivo pediátrico del Hospital San José Bogotá, abril 2012 a 2017. *Infectio* [Internet]. 2019 [cited 2020 May 05]; 23(2):183–8. Available from: <https://doi.org/10.22354/in.v23i2.776>
11. Deliberali B, Myiamoto KN, Neto CHDPW, Pulcinelli RSP, Aquino ARC, Vizzotto BS, et al. Prevalência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de pacientes internados em Porto Alegre-RS. *J Bras Patol Med Lab* [Internet]. 2011 Oct [cited 2020 May 05]; 47(5):529–34. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000500006>
12. Tanwar J, Sharma M, Parmar A, Tehri N, Verma N, Gahlaut A, et al. Antibacterial potential of silver nanoparticles against multidrug resistant bacterial isolates from blood cultures. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry* [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 May 05]. Available from: <https://doi.org/10.1080/24701556.2020.1735433>
13. CLSI. *Performance Standards of Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Watne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
14. O'Toole GA. Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. *JoVE* [Internet]. 2011 [cited 2020 May 05]; 47. Available from: <https://doi.org/10.3791/2437>
15. Trentin DS, Giordani RB, Zimmer KR, Silva AG, Silva MV, Correia MT, et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2011 Sep [cited 2020 May 05]; 137(1):327–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.05.030>
16. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2000 Apr [cited 2020 May 05]; 40(2):175–9. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)
17. Sydnor ERM, Perl TM. Hospital Epidemiology and Infection Control in Acute-Care Settings. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2011 Jan [cited 2020 May 05]; 24(1): 141–73. Available from: <https://doi.org/10.1128/CMR.00027-10>
18. Pinheiro RM. Perfil microbiológico de um complexo hospitalar de atenção terciária da rede pública do Ceará: uma ferramenta para promover a aplicação da antibioticoterapia empírica racional. Universidade Federal do Ceará [Monography]. 2018 [cited 2020 May 05]. Available from: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/38149>
19. Mota FS, Oliveira HA, Souto RCF. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. *RBAC* [Internet]. 2018 [cited 2020 May 05]; 50(3):270–7. Available from: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201800740>
20. Basso ME, Pulcinelli RSR, Aquino ARC, Santos KF. Prevalência de infecções bacterianas em pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva (UTI). *RBAC* [Internet]. 2016 [cited 2020 May 05]; 48(4):383–8. Available from: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201600307>
21. Gales AC, Torres PL, Vilarinho DSO, Melo RS, Silva CFL, Cereda RF. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2004 Aug [cited 2020 May 05]; 8(4):267–71. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1413-86702004000400001>
22. Dettori M, Piana A, Deriu MG, Lo Curto P, Cossu A, Musumeci R, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit. *New Microbiol* [Internet]. 2014 Apr [cited 2020 May 05]; 37(2):185–91. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/262609935\\_Outbreak\\_of\\_multidrug-resistant\\_Acinetobacter\\_baumannii\\_in\\_an\\_intensive\\_care\\_unit](https://www.researchgate.net/publication/262609935_Outbreak_of_multidrug-resistant_Acinetobacter_baumannii_in_an_intensive_care_unit)
23. Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect* [Internet]. 2012 Jan [cited 2020 May 05]; 80(1):56–60. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.08.013>
24. Cunha VWS, Canettieri ACV, Bernardes RC. Epidemiological study of *Acinetobacter* spp. infection in blood cultures of a laboratory in São José dos Campos. *Revista Univap* [Internet]. 2014 Dec [cited 2020 May 05]; 20(36):66–72. Available from: <https://doi.org/10.18066/revunivap.v20i36.226>
25. Pailhoriès H, Tiry C, Eveillard M, Kempf M. *Acinetobacter pittii* more frequently isolated than *Acinetobacter baumannii* in bloodcultures: the experience of a French hospital. *J Hosp Infect* [Internet]. 2018 Jul [cited 2020 May 05]; 99(3):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.03.019>

26. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2009 Dec [cited 2020 May 05]; 302(21):2323–29. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1754>
27. Bordignon JC, Lima LR. Etiologia de infecções hospitalares e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em um hospital do sudoeste do Paraná, Brasil. *RBAC* [Internet]. 2017 [cited 2020 May 05]; 49(3):283–8. Available from: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201700566>
28. Silva JA, Moreira VT, Abreu RNDC, Cavalcante TMC, Filho RNV, Studart RMB. Análise dos registros de enfermagem após coleta de secreção traqueobrônquica para cultura: importância ética e legal. *Enferm Foco* [Internet]. 2018 [cited 2020 May 05]; 1(9):61–5. Available from <http://revista.cofen.gov.br/index.php/enfermagem/article/view/988>
29. Lima JLC, Alves LR, Paz JNP, Rabelo MA, Maciel MAV, Morais MMC. Análise da produção de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. *Rev Bras Ter Intensiva* [Internet]. 2017 Jul–Sep [cited 2020 May 05]; 29(3):310–6. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-507X2017000300310&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-507X2017000300310&lng=en).
30. Costa KAD, Ferenz M, Silveira SM, Millezi AF. Formação de biofilmes bacteriano em diferentes superfícies de indústrias de alimentos. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* [Internet]. 2016 [cited 2020 May 05]; 71(2):75–82. Available from: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v71i2.512>
31. Nascimento IR, Sena TL. Biofilmes bacterianos: colonização e identificação de micro-organismos causadores de infecção em cateter venoso central. Centro Universitário de Brasília [Internet]. 2017 [cited 2020 May 05]. Available from: <https://www.publicacoes.uniceub.br/pic/article/view/5586/3930>
32. Laranjeira V dos S, Marchetti DP, Steyer JR, Corção G, Picoli SU. Investigation of metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter* sp and *Pseudomonas aeruginosa* at an emergency hospital in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2010 Jul–Aug [cited 2020 May 05]; 43(4): 462–4. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000400026>
33. Duarte HA, Lourenço EA, Souza NCP, Silva LF, Ribeiro GJ, Medeiros JRC, et al. Pesquisa de bacilos Gram negativos não fermentadores no interior do corpo de torneiras de um hospital público de Volta Redonda, RJ. *RBAC* [Internet]. 2016 [cited 2020 May 05]; 48(3): 284–9. Available from: [http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/11/ARTIGO-17\\_RBAC-48-3-2016-ref.-224-maior.pdf](http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/11/ARTIGO-17_RBAC-48-3-2016-ref.-224-maior.pdf)
34. Pinheiro S.; Formação de biofilmes: um breve ensaio. *Intravenous* [Internet]. 2006 May [cited 2020 May 05]. Ano VI, 16:2–3. Available from: [http://www.bd.com/Documents/bd-legacy/journal-article/Infusion/brazil-periodicals/IF\\_Intravenous-Edition-16\\_JA\\_PT.pdf](http://www.bd.com/Documents/bd-legacy/journal-article/Infusion/brazil-periodicals/IF_Intravenous-Edition-16_JA_PT.pdf)
35. Moskowitz SM, Foster JM, Emerson J, Burns JL. Clinically feasible biofilm susceptibility assay for isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2004 [cited 2020 May 05]; 42: 1915–22. Available from: <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.1915-1922.2004>
36. Diriba K, Kassa T, Alemu Y, Bekele S. In Vitro Biofilm Formation and Antibiotic Susceptibility Patterns of Bacteria from Suspected External Eye Infected Patients Attending Ophthalmology Clinic, Southwest Ethiopia Silva. *International Journal of Microbiology* [Internet]. 2020 [cited 2020 May 05] 2020:1–12. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/8472395>
37. Almeida KRH, Silva NS, Rocha IV, Araújo AA, Silva LM, Oliveira SR. Surveillance cultures: screening of carbapenemase producing microorganisms and patient safety. *Rev Pre Infec e Saúde* [Internet]. 2018 [cited 2020 May 05]; 4: 69–77. Available from: <https://doi.org/10.26694/repis.v4i0.6977>
38. Ridley N, Lecturer S. Effective hand hygiene—wash your hands and reduce the risk. *Br J Nurs* [Internet]. 2020 [cited 2020 May 05], 29(1):10. Available from: <https://doi.org/10.12968/bjon.2020.29.1.10>

#### **COLABORAÇÕES**

MISP e CAMN contribuíram inteiramente na coleta, análise, interpretação de dados e construção deste manuscrito do projeto. LRM e MQMS contribuíram para elaboração, construção e revisão crítica deste manuscrito. IVR e SRO supervisionaram a versão final deste manuscrito. Todos os autores discutiram os resultados, comentaram neste artigo e aprovaram o manuscrito final.

#### **AGRADECIMENTOS**

Não se aplica.

#### **DISPONIBILIDADE DOS DADOS**

Não se aplica.

#### **FONTE DE FINANCIAMENTO**

Não se aplica.

#### **CONFLITOS DE INTERESSE**

Não há conflitos de interesses a declarar.