

VALÉRIA DE CARVALHO MARTINS

ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA
INFECÇÃO POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA NO
ESTADO DO PARÁ

BELEM/PA
2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL

VALÉRIA DE CARVALHO MARTINS

ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS
DA INFECÇÃO POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA
EM PACIENTES PORTADORES DE
FIBROSE CÍSTICA
NO ESTADO DO PARÁ

BELEM/PA
2003

G16.32
M386a
DIS

VALÉRIA DE CARVALHO MARTINS

**ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA
INFECÇÃO POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA NO
ESTADO DO PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
do Pará junto ao Núcleo de Medicina Tropical
para obtenção do Título de Mestre em Patologia
das Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira

**BELÉM/PA
2003**

616.37
M386a
DIS

614.44098115

379

Martins, Valéria de Carvalho.

Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Infecção por *Pseudomonas Aeruginosa* em pacientes portadores de Fibrose Cística Estado do Pará/ Valéria de Carvalho Martins.—Belém, 2003.

109 fls.

Dissertação apresentada ao Núcleo de Medicina Tropical da UFPA para obtenção do Título de Mestre em Patologia das Doenças Tropicais.

1. EPIDEMIOLOGIA – Fibrose Cística. 2. INFECÇÃO – *Pseudomonas Aeruginosa*. I. Título.

VALÉRIA DE CARVALHO MARTINS

**ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA
INFECÇÃO POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA NO
ESTADO DO PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará junto ao Núcleo de Medicina Tropical para obtenção do Título de Mestre em Patologia das Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fernandes
Vieira

Prof. Dr. José Maria dos Santos Vieira
1º Examinador

Profª. Dra. Andréa Kely Campos Ribeiro dos
Santos
2º Examinador

Dra. Antônia Benedita Rodrigues Vieira
3º Examinador

Data: 23/12/2003

Conceito: 9,9

BELÉM/PA
2003



Ao meu querido pai Hélio

(in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira, por sua disponibilidade e dedicação na orientação deste trabalho.

À prof. Dra. Tereza Cristina Corvelo, pelas sugestões, atenção e estímulo, contribuindo sobretudo com a qualidade deste trabalho.

À bibliotecária Vera Lúcia Carvalho e a funcionária Glória, da Biblioteca do HUIBB, pela atenção e carinho sempre dispensados, contribuindo de forma incansável na solicitação de artigos pela Internet.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia do HUIBB que estiveram sempre disponíveis no auxílio da pesquisa, contribuindo desde a coleta de material até a execução das culturas e estudo microbiológico do material solicitado, sem os quais esta pesquisa não se realizaria.

Às bibliotecárias Flora e Rosário, que foram de um carinho e dedicação ímpar na revisão e normalização deste estudo.

Aos colegas da fisioterapia do HUIBB, que auxiliaram na coleta de material para a pesquisa.

Aos pais das crianças envolvidas no estudo, pela confiança e respeito que a mim tem reservado durante anos e por consentirem a participação de seus filhos nesta pesquisa.

Aos meus filhos e marido, pelo carinho e compreensão pelos meus momentos de ausência para execução deste estudo.

A todos os amigos que com seu carinho, apoiaram-me no meu labutar.

RESUMO

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo gram-negativo, importante patógeno para pacientes neutropênicos, queimados e em condições de ventilação artificial em Unidades de Tratamento Intensivo, onde causam infecção nosocomial. Nestas condições, a infecção pode ser séria e muitas vezes letal. Em pacientes com fibrose cística, o curso da patologia por *P.aeruginosa* evolui como uma infecção pulmonar crônica severa, pois a bactéria produz diversas toxinas e outros fatores de virulência responsáveis pelo estabelecimento da colonização persistente do trato respiratório destes pacientes. A apresentação característica da persistente infecção por *P.aeruginosa* é a produção de alginato mucóide e a formação de microcolônias, que é considerada a estratégia de sobrevivência da bactéria no meio ambiente, *P.aeruginosa* crescendo em biofilm é altamente resistente a antibióticos, estando usualmente associada com progressiva perda da função pulmonar. Esta pesquisa realizou uma avaliação epidemiológica e clínica de portadores de fibrose cística, colonizados por *P.aeruginosa*, atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto, na cidade de Belém, Pará no ano de 2003. Foi feita coleta de escarro dos pacientes expectoradores e swab de orofaringe nos demais para estudo microbiológico realizado no laboratório de microbiologia deste hospital. Foram avaliados 32 pacientes fibrocísticos, distribuídos em três grupos, conforme: ausência de infecção por *P.aeruginosa* (**G1**), infecção pela bactéria sem colonização (**G2**) e colonizado crônico (**G3**). Pacientes pertencentes a **G3** apresentaram complicações respiratórias mais freqüentes e mais graves que os demais. A ocorrência de cepas mucóides de *P.aeruginosa* foi significativamente mais prevalente neste grupo, onde a doença respiratória se apresentou de forma mais severa. Cepas não-mucóides foram identificadas de forma similar nos grupos **G2** e **G3**. Os sintomas respiratórios foram os mais freqüentes ao diagnóstico. A idade média dos pacientes ao diagnóstico foi de 7 anos. Condições sócio-econômicas adversas, diagnóstico tardio, desnutrição e mutação genética parecem ter favorecido a colonização e contribuído para ocorrência de óbito no grupo **G3**.

PALAVRAS CHAVES: Epidemiologia, Fibrose Cística, Infecção - *P.aeruginosa*.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is a gram-negative motile rod; they are important pathogens in neutropenic patients, burn and artificially ventilated patients in Intensive Care Units, where they may cause nosocomial infections. At this condition, the infection seems to be serious and sometimes lethal. However, in Cystic Fibrosis patients the course of infection by *P.aeruginosa*, has become severe chronic lung infection, because this bacteria produce many toxins and others virulence factors with potential effect on the lungs of this patients that are thought to play a role during establishment of the initial persistent colonization of the Cystic Fibrosis respiratory tract. The most characteristic feature of persistent *P.aeruginosa* infection is the production of mucoid alginate and the formation of the micro colonies in the lungs of the patients that is the survival strategy of environment bacteria. *P.aeruginosa* growing in alginate biofilms is highly resistant to antibiotics and is usually associated with progressive loss of pulmonary function. This research wants to study Cystic Fibrosis patients chronically colonized by *P.aeruginosa* who has been taken care on University Hospital João de Barros Barreto, Belém (Pará), in 2003 year, at about epidemiological and clinical aspects. The sputum of these patients, have been collected by expectoration and swab of throat, to microbiological study realized on microbiology laboratory of this hospital. Thirty two patients with Cystic Fibrosis have been evaluated and divided according microbiological aspect of their sputum in three groups: patients who have never been infected by *P.aeruginosa* (**G1**), patients that have been infected by this bacterial but not colonized (**G2**), patients chronically colonized by this microorganism. Patients who concern to **G3** group have been more serious respiratory complications than patients that belong to the others groups. The pattern mucoid of *P.aeruginosa* has been significant on patients' sputum of **G3**. The incident of non- mucoid strains in most patients of groups **G2** and **G3** seems to be similar. Respiratory symptoms have been important during diagnosis of Cystic Fibrosis. The median age for fibrosis cystic diagnosis was about 7,69 years. Certainly several events contribute to support *P.aeruginosa* respiratory colonization on Cystic Fibrosis patients of **G3**, like: low social and economic conditions, lateness diagnosis, malnutrition and pattern Cystic Fibrosis gene mutation.

KEY-WORDS: Epidemiology, Cystic Fibrosis, Infection – *P.aeruginosa*.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
CF Foudation – US	Cystic Fibrosis Foundation dos Estados Unidos
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Protein
CO2	Dióxido de Carbono
DNA	Ácido Desoxirribonucléico – ADN
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
REFC	Registros Europeus de Fibrose Cística
FC	Fibrose Cística
HUJBB	Hospital Universitário João de Barros Barreto
LPS	Lipopolissacarídeos
MEP	Exopolissacarídeo Mucóide
MIC	Concentração Inibitória Mínima
RIA	Radioimunoensaio
UFPA	Universidade Federal do Pará
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
VEF1	Volume Expiratório Forçado

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Epidemiologia da infecção por <i>P.aeruginosa</i> no paciente com FC.....	35
Tabela 2:	Distribuição dos Pacientes participantes do estudo, por sexo, nos diversos grupos.....	73
Tabela 3:	Distribuição dos pacientes participantes do estudo por raça nos diversos grupos.....	73
Tabela 4:	Distribuição dos pacientes estudados nos diversos grupos conforme a idade dos mesmos.....	74
Tabela 5:	Distribuição dos indivíduos estudados nos diversos grupos conforme renda familiar, baseado no número de salários mínimos.....	74
Tabela 6:	Condições de saneamento básico (água, luz, e coleta de lixo) a que estão submetidas as populações estudadas os diversos grupos.....	75
Tabela 7:	Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme local de residência: Interior e Grande Belém.....	75
Tabela 8:	Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme história de FC na família.....	76
Tabela 9:	Idade dos pacientes no momento do diagnóstico de FC, distribuído nos diversos grupos.....	76
Tabela 10:	Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme a curva de percentil para peso / estatura.....	77
Tabela 11:	Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme o uso de enzimas pancreáticas.....	77
Tabela 12:	Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme a realização de fisioterapia.....	78
Tabela 13:	Sintomas que sugeriram o diagnóstico de FC nos pacientes estudados conforme distribuição pelos grupos referidos acima.....	78
Tabela 14:	Distribuição dos pacientes dos grupos G2 e G3 , conforme as características das colônias de <i>P.aeruginosas</i> encontradas nas amostras de secreção do trato respiratório obtidas.....	79
Tabela 15:	Bactérias isoladas nos diversos grupos estudados.....	80
Tabela 16:	Estudo genético realizado nos pacientes fibrocísticos distribuídos conforme os 03 grupos referidos anteriormente.....	81

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
1.1	AGENTE ETIOLÓGICO.....	23
1.1.1	Fisiologia.....	24
1.1.1.1	Características da cultura de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
1.1.1.2	Nutrição e metabolismo energético	26
1.1.1.3	Resistência no ambiente.....	27
1.1.1.4	Genética.....	27
1.1.1.5	Estrutura Antigênica.....	28
1.1.1.6	Determinantes da patogenicidade.....	29
1.1.2	Infecção Clínica.....	32
1.1.2.1	Epidemiologia	32
1.1.2.2	Epidemiologia da infecção por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes com Fibrose Cística.....	34
1.1.2.3	Manifestações Clínicas da Fibrose Cística.....	38
1.1.2.4	Patogênese.....	43
1.1.2.5	Aspectos da patogênese da infecção por <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> em fibrocísticos.....	45
1.1.2.6	Forma de Crescimento da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em Biofilm ou Microcolônia.....	49
1.1.3	Resistência da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes com Fibrose Cística.....	51
1.1.4	Aspectos laboratoriais da identificação de <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> em pacientes com Fibrose Cística.....	52
1.1.5	Tratamento de infecção por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes portadores de Fibrose Cística.....	55
1.1.5.1	Terapia intravenosa.....	57
1.1.5.2	Terapia oral.....	59
1.1.5.3	Terapia por via inalatória.....	60
1.1.5.4	Resistência antibiótica da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes fibrocísticos.....	62
1.1.5.5	Perspectivas terapêuticas.....	64
2	OBJETIVOS.....	65
2.1	GERAL.....	65
2.2	ESPECÍFICOS.....	65
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	66
3.1	TIPO DE ESTUDO.....	66
3.2	POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA.....	66
3.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	66
3.4	LOCAL DA PESQUISA.....	67
3.5	PARECER DO CONSELHO DE ÉTICA.....	67
3.6	VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	67
3.7	PROCEDIMENTOS.....	68
3.7.1	Convite e transmissão de informações aos pacientes do estudo.....	68

3.7.2	Termo de autorização.....	68
3.7.3	Obtenção das informações.....	69
3.7.4	Coleta de material biológico.....	69
3.7.5	Dosagem de cloretos no suor.....	70
3.7.6	Avaliação Estatística dos Resultados.....	71
4	RESULTADOS.....	72
5	DISCUSSÃO.....	82
	CONCLUSÕES.....	90
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
	ANEXOS	
	ANEXO A – Termo de Esclarecimento e Consentimento Livre.....	102
	ANEXO B – Questionário Padrão.....	103
	ANEXO C – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa do HUIBB da UFPA.....	104
	ANEXO D – Fotos.....	105

1 INTRODUÇÃO

As *Pseudomonas* são bacilos Gram-negativos, aeróbicos, da família *Pseudomonaceae*, a maioria é de vida livre, contudo algumas espécies estão associadas à doença no homem (LEVIN, et al, 2002).

O gênero *Pseudomonas* é um complexo de bacilos gram-negativos, não fermentadores, aeróbicos que habitam o solo e a água. Estes organismos estão amplamente distribuídos no ambiente, onde desempenham importante papel na decomposição da matéria orgânica. Muitos são patogênicos para plantas e animais e a maioria não infecta o homem, mas são importantes patógenos oportunistas em indivíduos imunodeprimidos. As infecções humanas geralmente são severas e de difícil tratamento, pois o microrganismo apresenta resistência a muitos antibióticos usados comumente na clínica (YOSHIKAWA, 1980; JOKLIK, et al, 1989).

Pseudomonas aeruginosa (*P.aeruginosa*) é a espécie mais freqüente isolada do homem pertencente ao gênero *Pseudomonas*. Em um grande número de hospitais é considerada a terceira causa mais comum de infecção nosocomial, sendo superada somente por *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) e *Escherichia coli*. Nas últimas duas décadas, tem sido considerado o patógeno mais importante do trato respiratório de pacientes com Fibrose Cística (FC), com taxas de colonização que variam de 50 a 70% (DÖRING, et al, 2000; REIS, et al, 1998).

Embora a predisposição dos indivíduos com FC para colonização por *P.aeruginosa* seja conhecida há muitos anos, não há explicação satisfatória para tal

fenômeno, e a colonização por esta bactéria sugere evolução desfavorável. Os pacientes podem se infectar, cronicamente em qualquer idade, porém, o pior prognóstico está associado à infecção precoce, antes da puberdade (HOBY, 1982). Alguns estudos têm procurado associar a colonização por *P.aeruginosa* com o prognóstico da FC, sendo a cultura positiva, o principal fator preditivo de sobrevida no período de cinco anos, pois está relacionada, na maioria dos casos, à rápida deterioração clínica (REIS, et al, 1998; GAUDELLUS, et al, 2000; KOCK, 2002).

As cepas de *P.aeruginosa* isoladas dos pacientes fibrocísticos são incomuns em alguns aspectos, pois a maioria é mucóide, isto é, produzem um Exopolissacarídeo Mucóide (MEP), que é derivado do ácido poliurônico, isolado por Linker e Jones, em 1966 (EVANS, 1973). Esta propriedade protege estes microorganismos contra a ação do sistema imune do hospedeiro e confere aos mesmos, resistência a antimicrobianos (POLLACK, 1995).

A duração da infecção crônica por *P.aeruginosa* é variável, de nove meses até 10 anos, com uma média de três a quatro anos antes do óbito (HOBY, 1982).

1.1 AGENTE ETIOLÓGICO

P.aeruginosa foi isolada por Gessard em 1882 e denominada de *Bacillus pyocyaneus*. Em 1889 foi demonstrada sua patogenicidade para animais. Apresenta tamanho variando de 1 μ a 3 μ de comprimento e de 0,5 μ a 1 μ de largura, podendo se apresentar isolada, aos pares ou em curtas cadeias. A maioria possui flagelo único, embora possam ser encontradas com dois ou três flagelos que lhe conferem mobilidade, dependente do número e posição destes nas diferentes cepas. Isolados obtidos de espécimes clínicos freqüentemente apresentam fimbrias que promovem a adesão desta bactéria ao organismo hospedeiro (POLLACK, 1995).

Tem estrutura multilaminar composta de uma membrana externa seguida por espaço periplasmático, com fina camada de peptidoglicano na parede celular, e membrana citoplasmática interna, as quais são envoltas por uma cápsula mucóide (JOKLIK, et al, 1989).

Uma camada extracelular similar a um limo é produzida, sendo referida como glicocálice ou substância mucóide, composta de alginato, um aminoácido composto de β -1,4-ácido manurônico e ácido L-glicurônico, que é substituído com grupos acetato e piruvato. (JOKLIK, et al, 1989, POLLACK, 1995; GACESA, 2002).

A estrutura e composição das paredes da *P.aeruginosa*, se assemelham a organismos gram-negativos da família Enterobacteriaceae. Como nas bactérias entéricas, a parede celular da *P.aeruginosa* é composta por um núcleo de polissacarídeos, comum a todas as linhagens e parte da cadeia polissacarídica é

específica. Contudo, os Lipopolissacarídeos (LPS) tem mais átomo de fósforo e um grupo amino adicional ligado a L-alanina. Também, o lipídio A carece do ácido β -hidroximirístico encontrado nas enterobactérias (JOKLIK, et al, 1989).

1.1.1 Fisiologia

1.1.1.1 Características da cultura de *Pseudomonas aeruginosa*

P.aeruginosa são organismos extremamente adaptáveis que podem usar mais de oitenta componentes orgânicos para crescer. Na natureza, vivem em uma variedade de ambientes úmidos e podem crescer em água destilada. (HØIBY, 1989; POLLACK, 1995).

Crescem em meio usado para isolamento das enterobactérias, como também em meio alcalino usado para isolar espécies de *Vibrio*. Mesmo sendo um organismo aeróbico, pode usar nitrato como receptor terminal e crescer em condições de anaerobiose. A arginina pode também ser usada pela via anaeróbica através da arginina dihidrolase para gerar Adenosina Trifosfato (ATP) por fosforilação (JOKLIK, et al, 1989).

P.aeruginosa cresce adequadamente em temperatura de 37 – 42° C e seu crescimento a 42° C ajuda a diferenciá-la de outras espécies de *Pseudomonas*. É oxidase-positiva. Não fermenta carboidratos, embora muitas cepas oxidem a glicose. Em geral, a identificação baseia-se na morfologia das colônias, na oxidase-positiva, na

presença de pigmentos característicos e no crescimento a 42° C (ERNEST, et al, 1991).

Algumas cepas acarretam hemólise, pois alguns isolados clínicos são freqüentemente β -hemolíticos quando crescem em placas de ágar-sangue, estando associados à produção de duas hemolisinas distintas, fosfolipase C (lábil ao calor) e glicolipídeos (estáveis ao calor), que agem sinergicamente com a fosfatase para degradar lipídeos e lecitinas das membranas celulares (POLLACK, 1995).

P.aeruginosa cresce em diferentes meios de cultura, produzindo um odor adocicado característico. Múltiplos tipos de colônias são observados dando a impressão de uma cultura mista de espécies de bactérias, estas colônias geralmente, são redondas, lisas e com coloração esverdeada fluorescente, devido a pioverdina, pigmento que confere coloração esverdeada ao ágar. Outros pigmentos são a piocianina, observada em aproximadamente 50% das cepas e responsável pelo pus azul característico, observado em úlceras infectadas por esse organismo. Outras cepas produzem o pigmento vermelho escuro, piorrubina, ou o pigmento preto, piomelanina (YOSHIKAWA, 1980; JOKLIK, et al, 1989; TOLEDO, et al, 1999).

Ressalte-se que os diversos tipos de colônias podem apresentar atividades enzimática e bioquímica variadas, assim como diferentes tipos de suscetibilidade a antimicrobianos. As culturas de pacientes com FC quase sempre dão origem a *P.aeruginosa* que formam colônias mucóides (ERNEST, et al, 1991).

1.1.1.2 Nutrição e metabolismo energético

A presença da membrana semipermeável, restringe a entrada de macromoléculas do meio ambiente. Estas, só serão utilizadas se o microorganismo produzir enzimas e as exportar para o compartimento extracitoplasmático. *P.aeruginosa*, excreta uma classe de proteínas para o meio circunvizinho, tais como toxinas e hemolisinas (JOKLIK, et al, 1989).

A geração de energia ocorre através da utilização de carboidratos derivados principalmente da via oxidativa. O sistema anaeróbico é caracterizado pelo uso do nitrato, como o receptor terminal de elétrons, tal via respiratória ocorre em grande número de espécies bacterianas, incluindo as estritamente aeróbicas, anaeróbicas e organismos anaeróbicos facultativos (BIER, 1990).

A redução de nitrato a nitrito é catalizada por um sistema de transporte de elétrons consistindo de hidrogenases, transportadores de elétrons e nitrato redutase, localizados na membrana celular. O nitrito resultante é altamente tóxico, sendo reduzido a nitrogênio molecular por uma série de processos anaeróbicos respiratórios, que em suma são chamados “denitrificação”. Uma propriedade fisiológica característica da maioria dos organismos denitrificantes é sua habilidade em produzir gás nitrogênio, pela redução do nitrato respiratório (JOKLIK, et al, 1989).

1.1.1.3 Resistência no ambiente

P.aeruginosa é uma das bactérias com maior capacidade de adaptação conhecida. Com um suprimento de umidade adequado, pode sobreviver com um mínimo de nutriente, sendo isolada de vários locais em ambiente hospitalar, como respiradores, banheiros, água de torneira e de umidificadores, leitos e piso (YOSHIKAWA, 1980; TOLEDO, et al, 1999).

A bactéria também é resistente à desinfecção química e pode crescer em certos compostos de amônio quaternário. Ressalte-se que os desinfetantes fenólicos e o β -glutaraldeído são usualmente efetivos. A fervura da água e a dessecação inativam o microrganismo (JOKLIK, et al, 1989)

1.1.1.4 Genética

Diferentes linhagens podem ser detectadas por tipagem sorológica do antígeno O, fagotipagem e biotipagem (bacteriotipagem). O arranjo dos genes de *Pseudomonas* não é contíguo, enquanto as bactérias entéricas têm um arranjo contíguo de genes similares. Ademais, determinantes bacteriogênicos encontrados em plasmídios de Enterobacteriaceae estão inseridos nos cromossomas de *P.aeruginosa* (JOKLIK, et al, 1989).

A transferência de genes entre linhagens de *P.aeruginosa* podem ocorrer por conjugação, transdução e transformação (POLLACK, 1995).

P.aeruginosa tem numerosos genes controlados por sinais intercelulares que são transferidos célula por célula, que ocorrem através de um complexo circuito de sistemas reguladores interconectados. Um destes sinais é Pseudomonas Quinolone Signal (PQS), que foi identificado como 2-heptyl-3-hydroxyl-4-quinolone. Este sinal intercelular controla a expressão de múltiplos fatores de virulência. Estudo prévio mostrou que os sinais intercelulares desta bactéria são importantes na doença no homem (COLLIER, et al, 2002).

1.1.1.5 Estrutura antigênica

O antígeno somático ou antígeno O tem sido usado para agrupar várias linhagens para estudos epidemiológicos, e a tipagem sorológica deste, é o sistema menos complexo e variável de caracterização destas linhagens, no entanto outros sistemas, como a fagotipagem e a bacteriotipagem, podem ser necessários para completa caracterização dos isolados durante epidemias (JOKLIK, et al, 1989).

A camada LPS também é imunogênica e pode desempenhar importante papel na proteção do organismo contra fagocitose (COSTA, et al, 1993; ARMSTRONG, et al, 1997; PIER, et al, 1997; BOUCHER, 2000; DÖRING, et al, 2000).

1.1.1.6 Determinantes da patogenicidade

P.aeruginosa é um organismo extremamente complexo, possuindo diversos fatores de virulência que desempenham importante papel na ocorrência de danos ao homem. Há certas características anatômicas que auxiliam no estabelecimento e manutenção do organismo em vários órgãos do hospedeiro, some-se uma variedade de produtos extracelulares, que induzem numerosas mudanças patológicas. O exato papel de cada um desses fatores provavelmente varia com o local de infecção e as condições do hospedeiro (HØIBY, 1989; DÖRING, et al, 2000; WALLICK, et al, 2002).

Existe na natureza sob duas formas uma livre, móvel, nadante e outra, como microcolônia encapsulada por um glicocálice, incapaz de sobreviver em ambiente aquático, mas parece ser responsável pelo estabelecimento da doença em humanos. A mobilidade tem importante papel na disseminação da bactéria para outros lugares (JOKLIK, et al, 1989).

Dentre os determinantes da patogenicidade bacteriana, as fímbrias estendem-se da superfície bacteriana e promovem a ligação às células epiteliais do hospedeiro. Por outro lado, as cápsulas de polissacarídeos são responsáveis pelas colônias mucóides encontradas nas culturas de pacientes com FC (ERNEST, et al, 1991; POLLACK, 1995).

Outra estrutura envolvida na patogenicidade da bactéria é o glicocálice, que envolve as colônias, encapsulando-as e protegendo da ação de anticorpos contra o antígeno O. Este componente pode servir também para iniciar a adesão nas mucinas

A fibronectina protege as células da adesão bacteriana, tendo seus níveis reduzidos quando há aumento de protease na saliva. Este mecanismo pode explicar a colonização nos pacientes com FC que apresentam elevados níveis de proteases e baixos níveis de fibronectina (JOKLIK, et al, 1989; TOLEDO, et al, 1999).

Uma vez estabelecida no hospedeiro, *P.aeruginosa* produz diversas enzimas extracelulares e toxinas que tem papel importante na doença humana, principalmente a exotoxina A, que é letal para animais. Evidências sugerem que esta exotoxina seja produzida na infecção humana, pois elevados títulos de anticorpos são produzidos nesta fase, os quais parecem ser importantes para a sobrevivência dos pacientes imunocomprometidos (YOSHIKAWA, 1980; COSTA, et al, 1993; POLLACK, 1995).

O mecanismo de ação dessa exotoxina é idêntica a da *Corynebacterium diphthiae*, por apresentarem atividade adenosina difosfato (ADP) - ribosil transferase, que inativa a separação do fator 2 das células eucarióticas, resultando na interrupção da síntese de proteínas. A estrutura das duas toxinas também é similar, sendo composta por dois fragmentos, a saber: fragmento B, que é responsável pela adesão da toxina na célula do hospedeiro, e o fragmento A, que contém a atividade da toxina. O órgão alvo da exotoxina A é o fígado, enquanto da toxina diftérica é o coração (JOKLIK, et al, 1989).

Dentre as outras toxinas produzidas pela bactéria destacam-se a exotoxina S, uma segunda ADP-ribosil transferase, encontrada em 40% dos isolados clínicos. O exato papel dessa exotoxina não está claro, mas estudos em modelos animais indicam que esteja associada à severidade da infecção (COSTA, et al, 1993).

A fosforilase C hemolisina pode também contribuir para a invasividade do organismo destruindo surfactantes pulmonares e aderindo ao tecido pulmonar, produzindo atelectasia e necrose (POLLACK, 1995).

Várias proteases são produzidas por diferentes cepas de *P. aeruginosa*, que podem ser responsáveis pelas lesões hemorrágicas da pele observadas em alguns pacientes. A elastase é importante na infecção da córnea e aumenta os efeitos da exotoxina A nos pulmões, por degradar imunoglobulinas, complemento, fatores de coagulação e α -proteinase. Esta última pode permitir o organismo sobreviver na corrente sanguínea. Uma enterotoxina tem papel na diarreia observada em alguns pacientes (JOKLIK, et al, 1989).

1.1.2 Infecção Clínica

1.1.2.1 Epidemiologia

A infecção por *P.aeruginosa* ocorre principalmente em pacientes com imunidade alterada, com feridas traumáticas, queimados ou naqueles que requirem cateterização ou entubação. Investigações epidemiológicas têm mostrado que a bactéria é responsável por 10% das infecções nosocomiais. Em unidades de queimados e centros de tratamento de câncer, é o mais freqüente gram-negativo

isolado, podendo causar 30% das infecções (TOLEDO, et al, 1999; BOUCHER, 2000; FORUCCI, 2002).

A colonização aumenta com o tempo de permanência no hospital. Foi relatado que 19% dos pacientes admitidos em UTI foram colonizados quando vieram da comunidade, e 34% quando oriundos de ambiente hospitalar. Por volta do sétimo dia de internação em unidade intensiva 90% dos pacientes estavam colonizados. A alteração da microbiota normal por utilização de antibióticos de amplo espectro aumenta o risco de infecção. Soma-se a isso, os equipamentos respiratórios contaminados, cateteres, fluidos intravenosos, e mesmo os sabões (MARQUES, 1993; PIER, 1997; BOUCHER, 2000).

Os pacientes não hospitalizados podem adquirir a infecção por *P.aeruginosa* através do uso de drogas injetáveis, predispondo à endocardite e osteomielite. Folliculites ocorrem em indivíduos que freqüentam piscinas com manutenção inadequada. Esta população também está exposta à otite externa conhecida como “otite do nadador”. Infecção corneana tem sido atribuída a fluidos de lentes de contato contaminados, cosméticos e trauma ocular. Ressalte-se que a bactéria pode ser encontrada na pele e em aproximadamente 10% das fezes de indivíduos aparentemente normais e coloniza de 7 a 25% dos adultos saudáveis (YOSHIKAWA, 1980; BOUCHER, 2000; MOSS, 2002).

1.1.2.2 Epidemiologia da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* no paciente com Fibrose Cística

Os primeiros estudos microbiológicos realizados nos pacientes com FC mostraram colonização por *S.aureus*, *P.aeruginosa* e *Haemophilus influenzae*. A colonização por *S.aureus* e *H.influenzae* continua sendo freqüente, mas é aquela por *P.aeruginosa* um dos principais problemas na FC. A injúria pulmonar progressiva associada à infecção endobrônquica, primeiro por *S.aureus* e posteriormente por *P.aeruginosa* leva, eventualmente, o indivíduo à morte por falência respiratória, conferindo-lhe nas últimas décadas o papel de patógeno mais importante neste grupo de pacientes. (ROZOV, 1999; BOUCHER, 2000; KOCH, 2002).

Estudos anteriores têm demonstrado que mesmo clinicamente estáveis, os pacientes com FC e leve doença pulmonar tem grande número de bactérias no trato respiratório inferior, que são acompanhadas pelo influxo de neutrófilos e atividade de elastase (PIER, 1997; DÖRING, et al, 2000).

Um estudo mostrou que pacientes apresentando colonização somente por *P.aeruginosa* não mucóide e *S.aureus* mantém mais de 90% de sua função pulmonar preservada e a presença de *S.aureus* na ausência de *P.aeruginosa* prediz uma longa sobrevida (COSTA, et al, 1993).

O risco de colonização de *P.aeruginosa* aumenta com a idade do paciente, estima-se que 80% dos adolescentes e adultos são cronicamente infectados com este patógeno. Contudo, dados recentes indicam que infecção por *P.aeruginosa* vem

umentando nos pacientes mais jovens (ARMSTRONG, 1997; WIESEMANN, 1998; BOUCHER, 2000), conforme a Tabela abaixo:

TABELA 1: Epidemiologia da infecção por *P.aeruginosa* no paciente com FC.

PAÍSES	% DE COLONIZADOS	FAIXA ETÁRIA	ANO	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
TORONTO	12	< 1 ANO	1989	HØYBY, 1989
DINAMARCA	10	< 5 ANOS	1989	HØYBY, 1989
DINAMARCA	50	10 ANOS	1989	HØYBY, 1989
EUA	20,8	< 1 ANO	1995	HØYBY, 1995
EUA	80,1	30-35 ANOS	1995	HØYBY, 1995
REFC	38	< 1 ANO	1994-1999	DÖRING et al, 2000
REFC	72,3	13-18 ANOS	1994-1999	DÖRING et al, 2000
REFC	82,5	> 18 ANOS	1994-1999	DÖRING et al, 2000
REINO UNIDO	60	2 ANOS	1999-2000	DÖRING et al, 2000

Fonte: Levantamento de dados retirados da Bibliografia referenciado nesta pesquisa.

Em estudo retrospectivo de crianças (0-8 anos de idade) atendidas no Centro de FC na Birmânia Reino Unido, foi demonstrado que 60% das crianças adquiriram *P.aeruginosa* em 1999/2000 comparados com 54% em 1991/1992. A média de idade foi de dois anos em 1999/2000 versus 3,75 anos em 1991/1992 (DÖRING, et al, 2000).

Dados similares foram obtidos em um estudo dos Registros Europeus de Fibrose Cística (REFC). Das culturas realizadas em 12.066 pacientes entre 1994 e 1999, a bactéria foi encontrada em 38% dos casos com idade inferior a 6 anos, destes,

30% apresentavam colonização crônica - presença do microorganismo em no mínimo 4 culturas em período superior a 3 anos (DÖRING, et al, 2000).

Em Toronto, 12% das crianças com FC foram colonizadas antes de um ano de vida e 44% apresentavam o microorganismo aos sete anos. Estes dados diferem daqueles observados na Dinamarca, onde menos de 10% estavam colonizados, aos cinco anos, e 50%, aos dez anos de idade (HØIBY, 1989).

O banco de dados do REFC também demonstrou que a colonização crônica de *P.aeruginosa* aumentou substancialmente com a idade, estando presente em 72,3% de pacientes entre 13-18 anos de idade e 82,5% dos maiores de 18 anos (DÖRING, et al, 2000).

A incidência de FC na população caucasiana é de 1:2000 a 1:2500 nascidos vivos, na população negra de 1:17000 nascidos vivos e nos orientais 1:9000 nascidos vivos. Raskin et al.,1998, informaram que no Brasil a incidência pode ser variável conforme a região geográfica e o grau de miscigenação racial da população (DAMACENO, 1997; ROZOV, 1999).

A infecção crônica pode durar em média três a quatro anos antes da morte (HØBY, 1982). Um estudo mostrou que 20% dos pacientes de FC, cuja cronicidade se estabeleceu, nos primeiros cinco anos de vida, viveram até 16 anos, já naqueles que não se estabeleceu a cronicidade até os cinco anos, a sobrevida além dos 16 anos foi constatada em 95% dos casos (REIS, et al, 1998).

Em estudo realizado no México, no qual foram analisados 351 pacientes fibrocísticos, registrados na Associação Mexicana de Fibrose Cística, durante o período de janeiro de 1982 a dezembro de 1991, os autores concluíram que a sobrevida média a partir do nascimento foi de nove anos, sem diferença entre sexo, diferindo dos dados oriundos dos centros dos Estados Unidos da América onde a mesma é de 29,4 anos. A idade média de diagnóstico no México foi de 4,4 anos (LEZANA, et al, 1994).

A média de prevalência da infecção por *P.aeruginosa* em fibrocísticos nos Estados Unidos foi de 60,7%, naqueles menores de um ano de idade foi de 20,8% aumentando para 80,1% em pacientes com idade de 30 – 35 anos de idade (HØIBY, 1995).

A tipagem indica que a mesma cepa de *P.aeruginosa* persiste em um paciente, mas difere entre eles. Tal fato sugere que, apesar da eventual diferenciação fenotípica em um dado paciente, a cepa inicial persiste, na maioria dos casos (ABMAN, 1991).

Os pacientes infectados não disseminam o microorganismo para membros da família que não sejam portadores de FC, mas irmãos com a mesma patologia, geralmente, apresentam a mesma cepa de *P.aeruginosa*, indicando infecção cruzada ou colonização da mesma fonte ambiental (HØIBY, 1995).

Nos centros de tratamento dos pacientes com FC, alguns fatores ambientais têm sido identificados como fontes de infecção, como os equipamentos odontológicos

e piscinas de hidroterapia. Estudos em campos de férias dos pacientes mostraram que o risco de infecção cruzada é baixo (HØIBY, 1995).

A infecção cruzada é um evento controverso, pois foram encontradas altas taxas de colonização em pacientes tratados em centros especializados. Estudos mostraram que aqueles tratados desde a infância nestes locais, foram infectados com idade média de 5 anos, enquanto que os indivíduos que nunca haviam sido tratados nestes centros, se infectaram com idade média de 11,1 anos (DODGE, et al, 1998; MAHADEVA, et al, 1998).

1.1.2.3 Manifestações Clínicas da Fibrose Cística

A FC é uma exocrinopatia hereditária (autossômica recessiva) e letal, mais comum em caucasóides, acometendo de modo generalizado as glândulas de secreção exócrinas. O pulmão é o principal órgão afetado em relação a frequência e gravidade, conseqüentemente as infecções pulmonares constituem a principal causa de mortes nesses pacientes (KOCH, 2002).

Caracteriza-se por alteração no transporte de eletrólitos através das membranas epiteliais do organismo, resultando em secreções viscosas muito espessas e viscosas que ocasionam a obstrução nos ductos e canálculos glandulares. Manifesta-se freqüentemente pela tríade clínica: doença pulmonar obstrutiva crônica que evolui para cor pulmonale; insuficiência pancreática que se manifesta por má digestão, má absorção e desnutrição secundária; e níveis anormalmente elevados de eletrólitos no suor – suor salgado (BARROSO, et al, 1992; ROZOV, 1999).

A maioria dos casos de FC se apresenta com os sinais clássicos de enfermidade pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência pancreática exócrina e elevação na concentração de eletrólitos no suor. No entanto, a enorme quantidade de mutações descritas, faz da FC uma enfermidade extremamente pleomórfica, pois os sintomas e a idade de apresentação podem ter amplas variações de um indivíduo para outro (LEZANA, et al, 1994).

Na FC o gene defeituoso se situa no braço longo do cromossoma 7 locus 31q, sendo identificado em 1989, com base na análise da seqüência de Ácido Desoxirribonucleico - ADN (DNA). Existem mais de mil mutações, porém em estudos realizados no sul e sudeste do Brasil, observou-se que cerca de 47% dos fibrocísticos apresenta deleção de três pares de bases, que se traduz na perda do resíduo de fenilalanina na posição 508 da proteína resultante – $\Delta F508$ (ROZOV, 1999).

O gene da FC codifica uma proteína transmembrana com 1480 aminoácidos da ATP, que é reguladora de transporte ativo de íons. Essa proteína – Proteína de Condutância Transmembrana (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Protein – CFTR) – é atualmente considerada o próprio canal de cloro. Localiza-se nas superfícies apicais das células epiteliais, permitindo abertura e fluxo passivo de Cloro, através do canal. Conforme a mutação, a CFTR poderá ter função deficiente ou não ser produzida, determinando formas variadas de apresentação clínica e gravidade da doença (TOPOROVSK, 1995; COREY, et al, 1996; ROZOV, 1999; BERGOIN, et al, 2002).

Embora a FC seja uma doença que afeta múltiplos órgãos, a doença pulmonar obstrutiva crônica é a mais grave expressão clínica desta enfermidade. O gene defeituoso codifica uma proteína CFTR deficiente que promoverá redução na secreção do cloro com conseqüente aumento na absorção de sódio, contribuindo para a desidratação das secreções respiratórias (BARROSO, et al, 1992).

Entre os fatores que favorecem as infecções pulmonares podem-se citar: a secreção excessiva de muco anormalmente espesso, que leva a redução do transporte ciliar e obstrução brônquica, com conseqüente infecção-inflamação, a destruição progressiva do parênquima pulmonar e formação de bronquiectasias, perpetuando o ciclo infecção-inflamação (DAMACENO, 1997; ROZOV, 1999, DÖRING, et al, 2002).

A questão central na FC é se a alteração no gene CFTR leva à maior predisposição para colonização por *P.aeruginosa*. (REIS, et al, 1998).

Estudos sobre a aderência da bactéria ao epitélio nasal dos pacientes heterozigóticos, sem a apresentação clínica da patologia e em indivíduos normais, concluíram que o microorganismo se liga mais aos epitélios de pacientes homozigotos, que aos heterozigóticos normais. Os autores atribuíram esta maior aderência ao grande número de receptores para fímbrias da *P.aeruginosa* na superfície destas células (ZAR, et al, 1995).

Tem sido demonstrado que a progressão da doença pulmonar com deterioração do Volume Expiratório Forçado em um segundo - VEF1, ocorre a

despeito do desaparecimento da *P.aeruginosa* dos espécimes de escarro, sugerindo que a patologia pode progredir com outra bactéria. Dados epidemiológicos mostraram que infecção por *P.aeruginosa* é confundida com o grau de lesão pulmonar preexistente e que, embora associada com decréscimo de FEV1, não causa rápida deterioração pulmonar nos fibrocísticos. Aparentemente, muitos pacientes podem tolerar colonização pelo microorganismo por anos sem declinar a função respiratória, freqüentemente estes indivíduos abrigam a forma não mucóide da bactéria, apresentam baixos títulos de anticorpos e ausência ou pouca produção de escarro (COREY, et al, 1996).

Em todos os grupos de pacientes fibrocísticos foi observado declínio da função pulmonar com a idade, embora tenha sido encontrada significativamente pior função pulmonar naqueles com insuficiência pancreática (DAMACENO, 1997).

Fatores ambientais como diferentes terapias médicas, aderência, infecção grave precoce, exposição passiva a fumaça de cigarro e outros poluentes podem modificar o fenótipo FC, bem como uma população diversa etnicamente, caracterizada por baixa freqüência da mutação $\Delta F508$ e correspondente alta freqüência de outras mutações. Não foi encontrada associação entre a presença da mutação $\Delta F508$ e gravidade da doença pulmonar (DAMACENO, 1997).

O pulmão do indivíduo com FC, pode ser normal até a vida adulta, embora possam ser encontradas anormalidades na função pulmonar em lactentes. Uma vez que VEF1 atinja 30% do previsto, a mortalidade em dois anos é de cerca de 50%. As trocas gasosas podem ser preservadas no curso da doença, mas a hipoxemia e a

retenção de dióxido de carbono podem ocorrer. Estas alterações metabólicas podem causar hipertensão pulmonar e *cor pulmonale* (DAMACENO, 1997).

A maioria dos sintomas ocorre no primeiro ano de vida, sendo mais freqüentes: tosse, taquipnéia e sibilos. Destes, a tosse é mais encontrada pode se acentuar na vigência das infecções virais, ser acompanhada de vômitos e assumir a forma paroxística. Uma expectoração mucopurulenta e viscosa geralmente acompanha a tosse, principalmente durante as exacerbações pulmonares. Episódios de febre por infecção bacteriana são incomuns (REIS, et al, 1998).

A glândula sudorípara é a única capaz de reabsorver cloro, mas o suor do fibrocístico tem cerca de cinco vezes a concentração normal de cloro, por isso, lactentes são predispostos à prostração no calor (ROZOV, 1999).

A maioria dos homens com FC, é infértil devido a azoospermia causada pela ausência congênita dos vasos deferentes. A cérvix uterina apresenta muco com conteúdo reduzido de água, reduzindo a fertilidade nas mulheres. Entretanto a desnutrição na mulher com FC, pode contribuir para amenorréia primária ou secundária e ciclos anovulatórios (DAMACENO, 1997).

O pâncreas está afetado em quase todos os pacientes com FC e 15% a 20% dos recém-nascidos apresentam obstrução do íleo distal por mecônio viscoso e espesso. Classicamente, o lactente com FC, apresenta: apetite voraz, pouco ganho ponderal, fezes volumosas, fétidas, oleosas e cólicas abdominais após a alimentação. A obstipação é comum e 25% dos adultos apresentam surtos de obstrução intestinal

em algum momento de suas vidas. O fígado é extremamente comprometido, os ductos intra-hepáticos estão obstruídos, com reação inflamatória e variável grau de fibrose. Cerca de 10% dos pacientes apresentam cirrose hepática com hipertensão portal na primeira década de vida e 30% na segunda década (DAMACENO, 1997).

1.1.2.4 Patogênese

P.aeruginosa só é patogênica quando introduzida em áreas desprovidas de defesas normais. A bactéria liga-se às mucosas ou à pele, colonizando, invadindo localmente e produzindo doença sistêmica. Estes processos são promovidos pelas fimbrias, enzimas e toxinas anteriormente referidas. O LPS tem participação direta na febre, choque, oligúria, leucocitose e leucopenia, coagulação intravascular disseminada e na síndrome da angústia respiratória do adulto (ERNEST, et al, 1991; POLLACK, 1995).

A bactéria é invasiva, toxigênica e os produtos extracelulares aliados aos componentes da estrutura celular estão envolvidos na patogênese, determinando colonização e/ou invasão (PIER, et al, 1997; TAYLOR, et al; 2002).

Foram identificados dois fatores de adesão: fimbrias e a cápsula mucóide (alginato). A fimbria permite a adesão aos tecidos lesados. A perda de fibronectina da superfície celular parece favorecer esse processo. Fosfatase alcalina, elastase, exotoxina A, exotoxina S, citotoxina, lipase e fosfolipase estão relacionadas ao

processo invasivo e de interferência com o sistema imunológico (HØIBY, 1989; POLLACK, 1995; LEVIN, et al, 2002).

A bactéria pode infectar qualquer tecido do organismo e as lesões localizadas ocorrem em queimados, feridas, tecido corneano, trato urinário e pulmões. O microorganismo pode se difundir pela circulação sangüínea e causar septicemia e lesões focais de outros tecidos. A mortalidade em pacientes sépticos é elevada alcançando 80% nos pacientes imunocomprometidos (YOSHIKAWA, 1980; TOLEDO, et al, 1999).

A pneumonia por *P.aeruginosa* está associada com alta mortalidade, aproximadamente 70%, quando comparada a 35% em pneumonias por outros gram-negativos. Tais pacientes apresentam sinais de toxicidade, confusão e cianose progressiva. Empiema é comum e a imagem ao raio-x revela infiltrados e nódulos que podem necrosar com formação de abscesso (TRABULSI, 1996).

Em pacientes com FC, a pneumonia por *P.aeruginosa* é um processo crônico com progressiva destruição dos pulmões, o óbito é resultante, geralmente, de insuficiência pulmonar progressiva e anóxia. Não ocorre disseminação da infecção e os sinais de toxemia estão ausentes. O maior controle na disseminação deste patógeno é um sistema fagocítico ativo, que a maioria dos pacientes apresentam (COSTA, et al, 1993; ARMSTRONG, et al 1997; BOUCHER, 2000; DÖRING, et al, 1995).

As infecções do trato urinário também são comuns, particularmente em indivíduos manipulados por cateteres e após citoscopia. A pielonefrite é uma

complicação freqüente de uma infecção ascendente, embora possa ocorrer por disseminação a partir da via hematogênica (YOSHIKAWA, 1980; JOKLIK, et al, 1989; TRABULSI, 1996).

A endocardite por *P.aeruginosa* é uma complicação diagnosticada freqüentemente no abuso de drogas injetáveis. A válvula tricúspide é a mais envolvida. Podem ocorrer complicações como embolia e lesão pulmonar cavitária. Tal grupo de indivíduos também é mais suscetível a osteomielite das vértebras ou clavícula (JOKLIK, et al, 1989; POLLACK, 1995).

A osteomielite vertebral tem sido diagnosticada em pacientes com infecção do trato urinário, enquanto que no osso temporal pode ocorrer em idosos, sendo conhecida como otite maligna porque o microrganismo alcança os tecidos profundos através do canal auditivo externo por defeito anatômico da estrutura do canal (TRABULSI, 1996).

1.1.2.5 Aspectos da patogênese da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em fibrocísticos

A modificação da proteína CFTR em pacientes com FC, promove excessiva absorção do líquido periciliar, resultando em lesão da rotação ciliar, aderência de mucinas na superfície epitelial, formação de placas de muco provocando obstrução de ductos e alteração da defesa da mucosa local favorecendo, assim, a colonização bacteriana (PIER, et al, 1997; BOUCHER, 2000; DÖRING, et al; 1995; MOSS, 2002).

Tem sido demonstrado que infecção pelo Vírus Respiratório Sincicial predispõe a infecção crônica pela *P.aeruginosa* (DÖRING, et al, 2000).

Os portadores de FC não apresentam deficiência imune detectável, e, exceto pelas modificações no trato respiratório, não são mais suscetíveis à infecção que crianças normais da mesma idade, como por exemplo, a bacteremia é raramente relatada neste grupo. A secreção alterada do trato respiratório deixa o muco espesso e se acredita ser a razão porque pacientes FC sofrem de infecções respiratórias recorrentes e crônicas (HØIBY, 1989).

O envolvimento de seios paranasais é iniciado pela obstrução dos óstios sinusais com secreção mucosa espessa, embora tais estruturas não sejam reservatórios para infecção descendente para os pulmões (BATSAKIS, 1996).

Recentes estudos sobre a aderência da *P.aeruginosa* ao epitélio nasal dos pacientes com FC, concluíram que a bactéria coloniza mais os epitélios de pacientes homozigóticos para a mutação $\Delta F508$ que aqueles de fibrocísticos com outras mutações, portadores heterozigóticos e normais. Os autores atribuíram este fato, devido a maior presença de receptores asialilados que servem como receptores para as fimbrias da *P.aeruginosa* na superfície das células deste grupo de pacientes (ZAR, et al, 1995).

A obstrução dos óstios dos seios paranasais em pacientes com FC por secreção mucosa espessa, altera o clearance mucociliar, dificultando o transporte para o óstio sinusal, promovendo retenção e aumento da viscosidade do muco. As

mudanças nas propriedades viscoelásticas do muco obstruem os óstios levando a hipóxia e retenção de dióxido de carbono com conseqüente injúria ciliar, edema de mucosa, inflamação e infecção bacteriana (BATSAKIS, 1996).

A infecção pulmonar crônica mais prevalente e severa em pacientes com FC é causada pela *P.aeruginosa*, e escarros deglutidos podem ser responsáveis pelo encontro da bactéria nas fezes destes pacientes (HØIBY, 1989).

Diversas toxinas produzidas por este microorganismo parecem ter um papel importante no estabelecimento da colonização inicial persistente. Elastase e protease alcalina podem interferir com mecanismos de defesa não específicos – fagocitose, específicos – T-cells, NK-cells, imunoglobulinas (COSTA, et al, 1993; POLLACK, 1995).

Considerada como estratégia de sobrevivência da bactéria, a microcolônia, tem como principal componente da matriz o alginato, altamente resistente aos antibióticos, provavelmente devido ao seu crescimento lento, a barreira de penetração e produção de β -lactamases, que as protegem da fagocitose e da ação dos componentes do complemento (POLLACK, 1995; SHARMA, et al, 1995; DÖRING, et al, 2000).

A deposição de complemento na superfície das microcolônias mucóides pode ser ineficaz, favorecendo sua sobrevivência. A poliaglutibilidade das colônias é devido à natureza semi-rugosa dos lipopolissacarídeos (HØIBY, 1989; PIER, et al, 1997).

A produção de anticorpos direcionados a *P.aeruginosa* pertencente às diversas classes e subclasses de imunoglobulinas, aumenta durante os anos de infecção e está associada a um pior prognóstico, tal fato, se correlaciona ao complexo imune mediar a inflamação crônica nos pulmões de FC. Esta reação inflamatória dominada por polimorfonucleares leucócitos e liberação das proteases de leucócitos, mieloperoxidase e radicais oxigênio são os principais mecanismos de lesão do tecido pulmonar (HØIBY, 1989; COSTA, et al, 1993; ARMSTRONG, et al, 1997; PIER, et al, 1997).

A variedade mucóide ocorre em 40 a 80% dos pacientes com FC, sendo rara em outras doenças e até em infecções extrapulmonares neste grupo (COSTA, et al, 1993).

Admite-se que a substância mucóide determinaria a inibição da atividade opsonizante dos anticorpos e da bacteriólise dependente de complemento, favorecendo a persistência de cepas mucóides (HØIBY, 1989; BOUCHER, 2000).

O antígeno MEP elaborado pela *P.aeruginosa* parece capaz de estabelecer e manter a infecção pulmonar crônica. Isso protege o organismo da morte por fagocitose e promove seu crescimento em biofilme ou microcolônias (POLLACK, 1995). MEP falha em retirar os anticorpos opsonicos em pacientes infectados. Os anticorpos produzidos pelos pacientes fibrocísticos são ineficazes em controlar a progressão da doença. A resposta imune contra *P.aeruginosa* exacerba a clínica de pacientes com FC, promovendo reação inflamatória que danifica o pulmão (PIER, 1997).

Anticorpos produzidos por esses pacientes contra *P.aeruginosa* não incluem anticorpos opsonicos para MEP que são importantes no controle dos pacientes infectados. Pequeno número de pacientes com idade superior a doze anos foi identificado apresentando anticorpos opsonicos contra antígenos MEP (PIER, 1997).

1.1.2.6 Forma de crescimento da *Pseudomonas aeruginosa* em Biofilme ou Microcolônia

Estudos *in vivo*, evidenciaram que *P.aeruginosa* cresce como microcolônias em pulmões de portadores de FC, afetando a composição da sua superfície, indicando uma maneira pela qual o organismo deve modular o antígeno disponível para interação com o sistema imune do hospedeiro (COSTA, et al, 1993).

A maioria do material componente da camada celular da microcolônia *in vivo*, é derivada do hospedeiro. Ambos DNA e actina, oriundos de neutrófilos que penetram no pulmão infectado, são componentes proeminentes das microcolônias de *P.aeruginosa* nos pulmões de pacientes fibrocísticos (PIER, 1997).

Os anticorpos opsonicos não específicos para MEP encontrados no soro destes pacientes com FC inativam efetivamente a *P.aeruginosa* mucóide em suspensão, mas falham em destruir as mesmas células crescendo em biofilme. Anticorpos opsonicos específicos são eficazes contra *P.aeruginosa* em ambos, biofilme e em suspensão (COSTA, et al, 1993).

Anticorpo opsônico específico contra MEP foi capaz de depositar complemento opsônico C3b, dentro do biofilme, seguindo fagocitose, com receptor do complemento acessando a célula bacteriana para ingestão e morte. Em contraste, anticorpos opsônicos não específicos para MEP produzidos por pacientes com FC em resposta à infecção, somente depositaram C3b na célula bacteriana abaixo da camada MEP, que presumivelmente, age como barreira prevenindo acesso de fagócitos para ingestão bacteriana (PIER, et al, 1997).

Recente estudo sugeriu que a conversão para a forma mucóide é uma resposta ao stress durante a exposição a radicais de oxigênio liberados dos neutrófilos pulmonares (GOVAN, 2002).

O alginato de *P.aeruginosa* é composto de ácido urônico β -D-manuronato e seu epímero C-5 α -L-gluronato, facilmente forma gel na presença de concentrações fisiológicas de Ca^{2+} . A viscosidade do alginato é também aumentada na presença de mucinas brônquicas e DNA de neutrófilos. Esta propriedade ajuda a explicar a quantidade de microcolônias tipo gel e biofilmes vistas nas vias aéreas de pacientes com FC e o termo “fagocitose frustrada” quando neutrófilos pulmonares se defrontam com um grande e persistente alvo (GOVAN, 2002).

Ainda não está claro se os biofilmes são formados a partir da seleção espontânea de variantes mucóides, por indução na população total em resposta ao stress ambiental, ou por sinalização celular. Também não está entendido como as mucinas brônquicas, DNA, alginato e outros polissacarídes bacterianos contribuem estruturalmente para erguer esta comunidade bacteriana (GOVAN, 2002).

1.1.3 Resistência da *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com Fibrose Cística

A característica mais importante da persistência da *P.aeruginosa* é a produção de alginato mucóide e a formação de microcolônias nos pulmões dos pacientes, considerados como estratégia de sobrevivência da bactéria, que apresenta como principal componente da matriz o alginato (ARMSTRONG, et al, 1997; PIER, et al, 1997; BOUCHER, 2000; DÖRING, et al, 2000).

Tem sido demonstrado *in vitro*, que *P.aeruginosa* cultivada em alginato é altamente resistente aos antibióticos, provavelmente devido ao crescimento lento, a barreira de penetração e a produção de β -lactamases, que as protegem da fagocitose e da ação dos componentes do complemento (HØIBY, 1989; DÖRING, et al, 2000).

Na maioria dos pacientes, a variedade não-mucóide parece iniciar a infecção, e a transição para forma mucóide correlaciona-se com o desenvolvimento pronunciado da resposta dos anticorpos contra os antígenos e toxinas da *P.aeruginosa*. A ocorrência da variante mucóide correlaciona-se com pior prognóstico, pois se admite que a substância mucóide determinaria a inibição da atividade opsonizante dos anticorpos e da bacteriólise dependente de complemento, favorecendo a persistência destas cepas. É comum o encontro de níveis aumentados de imunoglobulinas, sobretudo IgG e IgA, assim como frações do complemento (HØIBY, 1989; COSTA, et al, 1993; BOUCHER, 2000).

O antígeno MEP elaborado pela *P.aeruginosa* parece capaz de estabelecer e manter a infecção pulmonar crônica protegendo o microorganismo da fagocitose

(POLLACK, 1995). Os anticorpos produzidos pelos pacientes fibrocísticos são ineficazes para *Pseudomonas* crescendo em biofilme (COSTA, et al, 1993).

Os LPS tem sido encontrados na maioria dos componentes do complexo imune do escarro de pacientes FC com infecção crônica pela *P.aeruginosa*. Esta adaptabilidade ao ambiente pulmonar do fibrocístico é também refletida na alta frequência de desenvolvimento de resistência aos antibióticos durante a quimioterapia (HØIBY, 1989).

A instalação de *P.aeruginosa* no trato respiratório dos pacientes é seguida pelo aparecimento de precipitinas para o germe. Observa-se também que a antibioticoterapia acarreta uma redução no nível das precipitinas séricas (SHAND, et al, 1988).

A pesquisa das precipitinas informa sobre a cronicidade do processo e ajuda na monitorização terapêutica dos pacientes. Geralmente, as infecções por *P.aeruginosa* mucóide se acompanham da presença constante de precipitinas em relação às infecções pela variedade não-mucóide (COSTA, et al, 1993).

1.1.4 Aspectos laboratoriais da identificação de *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com Fibrose Cística

A preocupação com o isolamento do microorganismo e a monitorização da microbiota bacteriana das vias aéreas se justifica pela resistência a múltiplos

antibióticos e a possibilidade da transmissão de um paciente colonizado para outro não colonizado (HØIBY, 1989).

O perfil microbiológico das infecções respiratórias é uma característica nesses pacientes sendo restrito a poucas espécies de microorganismos. Elas ocorrem em ordem seqüencial de colonização, inicialmente pelo *S.auerus* seguido pela *P.aeruginosa*. Essas bactérias podem ser encontradas isoladas ou em associadas. Outros microorganismos como *Haemophilus influenzae* e *Burkoldelia cepacia*, ao lado de fungos e vírus também podem ser encontrados (THOMASSEN, et al, 1984, MARQUES, et al, 1993; DODGE, 1998).

P.aeruginosa pode aparecer como uma variante mucóide em 80% dos casos e pode ser facilmente reconhecida em cultura pela larga produção de exopolissacáride. Esta variante persiste e está associada a um pior prognóstico em pacientes cronicamente infectados (ABBOTT, et al, 2003).

É difícil avaliar a microbiota bacteriana do trato respiratório em lactentes e crianças jovens incapazes de produzir escarro. Entretanto, culturas de orofaringe, freqüentemente, refletem aquela do trato respiratório inferior e culturas de escarro predizem acuradamente a presença da bactéria nos pulmões (THOMASSEN, 1984).

Comparando amostras de secreções de orofaringe de pacientes não expectoradores e escarro nos expectoradores com aquelas obtidas por aspirado brônquico, concluiu-se que culturas de orofaringe positivas para *P.aeruginosa* são

fortemente sugestivas do patógeno nas vias aéreas inferiores de fibrocísticos (RAMSEY, 1991).

O valor preditivo de culturas positivas em pacientes não expectoradores foi 83%, e o valor preditivo negativo foi mais baixo, 70%, isto é, culturas negativas não excluem a presença de tal patógeno nas vias aéreas inferiores (REIS, et al, 1998).

O material biológico de escolha para a cultura de *P.aeruginosa* é o escarro, sucção de hipofaringe ou endofaringe ou cultura de swab de garganta, preferencialmente após fisioterapia respiratória ou alternativamente após inalação de solução salina hipertônica (RAMSEY, 1991).

O emprego de meios seletivos, como ágar ceftrimida, facilita o isolamento de *P.aeruginosa* de outras espécies bacterianas. As placas são incubadas a 35°C em 5% de CO₂ atmosférico por 24 horas, e a bactéria é facilmente identificada pelas características morfológicas das colônias e métodos microbiológicos padrões. *P.aeruginosa* isolada deve diferir conforme sua morfologia incluindo mucóide, lisa, rugosa, anã, e as variedades morfológicas de um único paciente, podem diferir no padrão de suscetibilidade antibiótica, portanto, diferentes morfotipos pertencentes a um único genótipo. O período necessário para identificar *P.aeruginosa* e caracterizar o padrão de suscetibilidade antibiótica de cultura de escarro é de 3-4 dias (DÖRING, et al, 2000).

Ressalte-se que, algumas colônias variantes podem crescer somente após 48 horas de cultivo em agar, originando resultados falso-positivos. O esfregaço com

coloração pelo Gram das amostras, é usado para detectar neutrófilos, células epiteliais escamosas ao lado da bactéria, indicando a viabilidade da amostra (DÖRING, et al, 2000).

Contudo, podem ocorrer falso negativo de cultura de material de swab da orofaringe e os testes sorológicos sensíveis para antígenos de *P.aeruginosa* tal como imunoelectroforese cruzada, Radioimunoensaio (RIA) e ELISA têm sido especialmente úteis neste contexto. A presença da bactéria na cultura de garganta e negativos títulos de anticorpos contra *P.aeruginosa* pode auxiliar na distinção entre a colonização e a infecção (ARMSTRONG, et al, 1997; DÖRING, et al, 2000).

1.1.5 Tratamento da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes portadores de Fibrose Cística

A infecção das vias aéreas dos pacientes com FC por *P.aeruginosa* é um complexo de múltiplos estágios associados à deterioração da função pulmonar. A formação de biofilmes e suas interações com o sistema imune fazem da quimioterapia uma conduta incerta, pois é difícil provar que o tratamento com um antibiótico é responsável por mudanças positivas dramáticas na sobrevida de um paciente, geralmente associada ao intensivo monitoramento das infecções crônicas. (DÖRING, et al, 2000).

Não há consenso quanto a dose de antimicrobiano a ser administrada aos pacientes e o tempo de duração da terapia. As decisões geralmente, são empíricas e são

baseadas na idade do paciente, severidade da doença e experiências passadas. A maioria dos pacientes apresenta melhora clínica a partir da segunda semana de tratamento (DÖRING, et al, 2000).

A conduta terapêutica agressiva após a detecção da bactéria é importante, pois neste estágio a presença da forma não-mucóide pode ser erradicada e a redução da densidade de bactérias no escarro pode melhorar a função pulmonar (GOVAN, 2002).

O tratamento com antibióticos de pacientes FC colonizados por *P.aeruginosa* durante as exacerbações agudas, melhora a condição clínica do paciente, porém a terapia requer monitoração clínica e laboratorial periódica (WOLTER, et al, 1999).

Dados epidemiológicos mostraram que função pulmonar é o melhor preditivo de sobrevida e que a terapia antibiótica melhora tal função, pois reduz a densidade de *P.aeruginosa* no escarro (COREY, et al, 1996).

Estudos demonstraram que a administração de quimioterápicos (aminoglicosídeos e beta lactâmicos) de maneira regular e pela via intravenosa, a cada três meses, resultou em uma expectativa de sobrevida de no mínimo nove anos em 91% dos pacientes com infecção crônica por *P.aeruginosa* tratadas no centro de atendimento a FC da Dinamarca (PEDERSEN, et al, 1988).

A quimioterapia acompanhada de mucolíticos, fisioterapia, estratégia nutricional, incluindo o uso de preparação de enzimas pancreáticas, tem aumentado a

sobrevida média dos pacientes nos Estados Unidos, de 14 anos em 1969 para 31,3 anos em 1996, e na Dinamarca, onde a sobrevida foi de 40 anos em 1995. (FREDERIKSEN, et al, 1996).

1.1.5.1 Terapia Intravenosa

O emprego de altas doses de quimioterápicos é indicado no tratamento da infecção bacteriana, em virtude da localização endobronquial na infecção e da inacessibilidade da *P.aeruginosa* mucóide no tampão de escarro (TOUW, et al, 1998).

A dose inicial de aminoglicosídeos deve ser calculada baseada na superfície corporal ou peso do corpo (TOUW, et al, 1998), sendo administrados pela via intravenosa em três doses diárias. Por exemplo, a dose inicial de tobramicina é de 10 mg/kg/dia. Ressalte-se que o ajuste das doses administradas, de acordo com as concentrações séricas do fármaco tem significativo efeito na função pulmonar (VIC, et al, 1998).

Estudos comparando a administração de uma dose ao dia, com três doses de tobramicina intravenosa, demonstrou que uma dose de tobramicina combinada com três injeções de ceftazidima é segura e efetiva nos fibrocísticos (VIC, et al, 1998).

Cefalosporina de terceira geração, em particular a ceftazidime é particularmente efetiva contra *Pseudomonas*. Efeitos similares foram observados

quando diferentes aminoglicosídeos foram utilizados como: tobramicina, ampicilina e netilmicina (DÖRING, et al, 2000).

A eficácia e a toxicidade destes esquemas terapêuticos têm sido objeto de estudos em centros na Inglaterra, e a terapia antibiótica intravenosa é geralmente planejada por duas semanas, podendo ser prolongada por mais outra semana (MULHERIN, et al, 1991; DÖRING, et al, 2000).

Terapia combinada de antibióticos tem sido favorável tanto por retardar o surgimento de resistência, como por atuar de maneira sinérgica. Frequentemente, a combinação de penicilina e aminoglicosídeo é utilizada como Gentamicina/carbamicilina, tobramicina/ticarcilina ou ampicilina/ceftazidima. Cefsulodin, piperacilina, imipenem, fosfomicina ou aztreonam, têm sido combinados com tobramicina ou ampicilina (SHAWAR, et al, 1999; DÖRING, et al, 2000; ABBOTT, et al, 2003).

A densidade de *P.aeruginosa* no escarro reduz quando se utiliza a combinação terapêutica e o tempo de readmissão por um novo episódio de exacerbação pulmonar foi significativamente maior em pacientes que utilizaram esta terapia. Os poucos estudos clínicos avaliando o uso racional da combinação de antibióticos intravenoso e nebulizado nas exacerbações agudas concluíram que tal estratégia não é superior quando comparada ao uso somente por via intravenosa (TOSO, et al, 1996).

Pacientes com FC são tratados com antibióticos por grande período de suas vidas, o que os torna mais suscetíveis a manifestações clínicas de ototoxicidade. Toxicidade aguda vestibular pode ser vista se a droga for administrada por via intravenosa rapidamente (MCRORIE, et al, 1989; ENGLISH, et al, 1999; DÖRING, et al, 2000).

As doses de tobramicina recomendada para tratamento de pacientes com FC são usualmente mais elevadas que as administradas em outros pacientes, pois a farmacocinética do aminoglicosídeo difere no paciente fibrocístico, ocorrendo excreção mais rápida, maior volume de distribuição e dificuldade da penetração do antibiótico na secreção brônquica (SVEND, et al, 1987).

A Inglaterra ainda é o único país Europeu que usa colemicina por via intravenosa (DÖRING, et al, 2000).

Estudos *in vitro*, mostraram uma atividade inibitória de macrolídeos na produção de alginato e outros fatores de virulência da *P.aeruginosa* (KOCH, 2002).

1.1.5.2 Terapia oral

Por razões óbvias os pacientes com FC preferem tratamento oral. Os resultados dos estudos de utilização de antibióticos via oral, empregando-se a Ciprofloxacina resultou na melhora da função pulmonar (GAUDELUS, 2000).

Um estudo prospectivo randomizado, comparando a eficácia e segurança de ciprofloxacina *versus* ceftazidima/tobramicina em pacientes infectados por *P.aeruginosa*, concluiu que tratamento seqüencial intravenoso/oral com ciprofloxacina oferece uma alternativa segura e eficaz para terapia parenteral nas exacerbações agudas em fibrocísticos (CHURCH, 1997).

A terapia oral com ciprofloxacina por quatro semanas tem prolongado os efeitos benéficos da terapia antibiótica intravenosa. Contudo naqueles seriamente comprometidos a terapia convencional intravenosa se faz mais benéfica que terapia oral (FREDERIKSEN, et al, 1996; DÖRING, et al, 2000; SMITH, 2002).

Fluoroquinolonas têm sido usadas em crianças e efeitos colaterais foram infreqüentes. Estudos em animais mostraram que quinolonas podem influenciar negativamente a cartilagem e, portanto sua utilização era restrita a pacientes após a puberdade (CHURCH, 1997).

1.1.5.3 Terapia por via inalatória

A nebulização dos quimioterápicos comumente empregados no tratamento da *P.aeruginosa* foi sugerido como estratégia de alcançar altas concentrações pulmonares e baixos níveis séricos de antibióticos. Entretanto, tal técnica, é ineficiente em liberar antibióticos pois, apenas 15-20% da medicação são depositadas no pulmão (SCHÜLIN, 2002).

Estudos demonstraram melhora da função pulmonar, com mais lenta deterioração e menores efeitos colaterais quando se utilizava aminoglicosídeos (amicacina, tobramicina), antibióticos β -lactâmicos (ceftazidime, carbinicilina) e colistina via nebulização (RAMSEY, 1999).

Uma revisão de estudos controlados randomizados mostrou os benefícios da nebulização em pacientes fibrocísticos, sem a ocorrência de efeitos adversos pronunciados. Um estudo multicêntrico nos Estados Unidos incluindo 520 pacientes com FC, demonstrou conclusivamente que a terapia crônica intermitente com tobramicina nebulizada melhorou a função pulmonar e reduziu as hospitalizações (DÖRING, et al, 2000).

O aerossol com colistina, associado a ciprofloxacina por via oral, tem demonstrado adiar significativamente a infecção crônica por *P.aeruginosa* em pacientes fibrocísticos mantendo a função pulmonar por um ano após a sua inclusão quando comparado a grupos placebo nos quais ela declinou (WIESEMANN, et al, 1998; QUITTNER, et al, 2002; HODSON, et al, 2002; MOSS, 2002; SCHÜLIN, et al, 2002).

A emergência de cepas bacterianas resistentes após terapia por aerossol tem sido observada em vários estudos (WOLTER, et al, 1999; BOWMAN, 2002).

1.1.5.4 Resistência antibiótica da *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes fibrocísticos

Definir sensibilidade e resistência no contexto de antibioticoterapia em pacientes com FC é difícil e merece particular atenção. Nas infecções em pacientes não fibrocísticos, o termo “resistência” é usualmente definido como falha em erradicar o patógeno bacteriano e reduzir ou eliminar os sintomas clínicos de infecção. Se esse critério fosse aplicado para estabelecer a infecção pulmonar causada por *P.aeruginosa* em fibrocísticos, então todas as cepas já poderiam ser definidas como resistentes (GOVAN, 2002).

A questão associada ao uso do antimicrobiano no local da infecção é tipicamente definida como a concentração mais elevada do antibiótico que pode alcançar o local sem toxicidade. Uma vez que a infecção crônica por *P.aeruginosa* em pacientes com FC necessita vários cursos de terapia antibiótica, o que leva a um risco aumentado de resistência bacteriana. Conseqüentemente, a bactéria freqüentemente mostra alta resistência para drogas antigas quando comparadas àquelas desenvolvidas recentemente (GOVAN, 2002).

Testes com antibióticos nebulizados em fibrocísticos, resultaram na emergência de resistência de *P.aeruginosa* isoladas no escarro durante e após o tratamento com grandes variações (BOWMAN, 2002; SMITH, 2002).

Vários problemas surgem quando padrões de suscetibilidade da *P.aeruginosa* à antibióticos são usados para tratamento clínico dos pacientes com FC (DÖRING, et al, 2000):

- 1) Múltiplos morfotipos, com diferentes suscetibilidades antibióticas, são freqüentemente isolados numa simples amostra de escarro;
- 2) A definição convencional de resistência antibiótica é baseada na comparação dos níveis séricos das drogas e Concentrações Inibitórias Mínimas (MIC) *in vitro* e não pode ser aplicada nas infecções pulmonares de pacientes com FC quando tratados com antibiótico inalado;
- 3) A forma de crescimento em biofilme da *P.aeruginosa* requer de 100-1000 vezes a concentração de um certo antibiótico para ser efetiva quando comparada com variante não mucóide que é normalmente testada.

Um estudo sobre a tobramicina inalada mostrou que a porcentagem de pacientes abrigando cepas de *P.aeruginosa* com um MIC >8 µg/ml aumentou de 29-73% após três meses de uso contínuo de 600mg três vezes ao dia. Contudo, estudos usando um regime intermitente de tobramicina inalada, a porcentagem de pacientes abrigando o microorganismo com uma MIC >16µg/ml aumentou de 13-25% (SHAWAR,1999; DÖRING, et al, 2000).

A emergência de microorganismos resistentes tem sido relatada como transitória e reversível para sensível, quando o antibiótico é removido, um fenômeno denominado de “Resistência Adaptativa”. O mecanismo responsável por este fenômeno pode ser baseado em uma taxa de crescimento lento das colônias resistentes de *P.aeruginosa* comparada com as suscetíveis. Geralmente, a forma não mucóide é

mais resistente á antibióticos que a mucóide, e mudanças freqüentes de antibióticos deve ser uma opção para prevenir a resistência (BATSAKIS, 1996).

De acordo com o mecanismo de ação e as propriedades cinéticas do antibiótico, ocorrerá o desenvolvimento de resistência especialmente com monoterapia, quando a droga for administrada por períodos prolongados de tempo. De fato, um elevado desenvolvimento de cepas resistentes a ceftazidima, foi notado em uma pequena população de pacientes com FC que receberam monoterapia por período maior que cinco dias. Disto resulta que a monoterapia antibiótica é inferior a terapia combinada com antibióticos específicos para *P.aeruginosa*, mostrando diferentes formas de ação (DÖRING, et al, 2000; GAUDELUS, et al, 2000).

1.1.5.5 Perspectivas Terapêuticas

O potencial da imunização ativa ou passiva na proteção da infecção por *P.aeruginosa* tem sido estudada em animais e testada em humanos, porém os resultados de um ensaio envolvendo 170 pacientes recebendo IgG hiperimmune intravenosa não mostrou-se eficaz. Um outro ensaio realizado em 1991, onde foi testada uma vacina com 100µg dose de MEP, obteve boa resposta na produção de anticorpos opsonicos, boa tolerância e poucos efeitos adversos (PIER, et al, 1997).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os achados clínicos e epidemiológicos dos pacientes portadores de FC infectados por *P.aeruginosa*, atendidos no ambulatório de pediatria do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB), na cidade de Belém, Pará.

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Avaliar aspectos clínicos dos pacientes fibrocísticos atendidos no HUIBB, com diagnóstico confirmado por cultura de infecção por *P.aeruginosa*;
- b) Relacionar clinicamente pacientes com FC infectados por outras bactérias, com pacientes infectados por *P.aeruginosa*;
- c) Analisar aspectos epidemiológicos dos pacientes fibrocísticos infectados por *P.aeruginosa*;
- d) Investigar outros fatores associados à enfermidade, considerados de risco para colonização por *P.aeruginosa*;
- e) Comparar a sobrevida média da população estudada com dados da literatura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Modelo de estudo descritivo retrospectivo observacional.

3.2 POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA

Define-se como população de referência pacientes portadores de FC atendidos no ambulatório de Pediatria do HUIBB.

3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os pacientes foram considerados portadores de FC quando apresentaram dois testes do suor realizados pelo método Gibson-Cooke maior ou igual a 60mEq/l de cloro no suor, conforme critério estabelecido pela Associação Latino-Americana de Fibrose Cística e/ou pelo diagnóstico genético, identificando a mutação reconhecidamente responsável pela enfermidade.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do HUIBB e no Departamento de Genética da Universidade Federal do Pará (UFPA). As culturas de escarro ou de Swab de orofaringe foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do HUIBB, com antibiograma e contagem de colônias.

3.4 LOCAL DE PESQUISA

O estudo foi realizado no ambulatório de Pediatria do HUIBB.

3.5 PARECER DO CONSELHO DE ÉTICA

O projeto desta pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do HUIBB da UFPA (ver Anexo C).

3.6 VARIÁVEIS ESTUDADAS

Trata-se de um questionário voltado à obtenção de dados de pacientes fibrocísticos com infecção por *P.aeruginosa*, participantes do programa de atendimento especializado do HUIBB referentes a:

- a) Dados epidemiológicos: foram coletadas informações referentes a idade, sexo, grupo étnico, renda familiar e saneamento básico;
- b) Dados clínicos: curva de percentil (peso e estatura), complicações e sintomas mais freqüentes;
- c) Dados laboratoriais: resultados de teste do suor, estudo genético, resultados do estudo microbiológico de material coletado de swab* de orofaringe ou escarro.

* O estudo microbiológico do material coletado foi realizado conforme a normas técnicas e padrão utilizados na rotina do Laboratório de microbiologia do HUIBB.

3.7 PROCEDIMENTOS

O convite à participação na pesquisa, o repasse do questionário e o esclarecimento aos responsáveis sobre o conteúdo da pesquisa e seus objetivos, foram realizados pelo médico responsável, durante o atendimento dos pacientes no dia agendado para consulta e a coleta de material para cultura, imediatamente após a consulta no Laboratório de Microbiologia do HUIBB.

3.7.1 Convite e transmissão de informações aos pacientes do estudo

As informações foram repassadas aos responsáveis utilizando linguagem simples e utilizando termos com os quais estão familiarizados. Estes informes abordaram dados gerais sobre a pesquisa e da relevância do estudo. Os responsáveis e mesmo alguns pacientes, tinham noção da severidade da infecção pela *P.aeruginosa*, das limitações que esta infecção determina, dos aspectos da abordagem terapêutica e do prognóstico reservado. Todos os pacientes portadores de FC, atendidos no ambulatório, foram convidados a participar do estudo e a coleta de material foi realizada conforme rotina de atendimento estabelecida pelo programa (ver Anexo A).

3.7.2 Termo de autorização

Os pais ou responsáveis e aqueles pacientes que alcançaram a maioridade assinaram espontaneamente o termo de consentimento livre e esclarecido (ver Anexo A).

3.7.3 Obtenção das informações

Foram utilizados questionários (ver Anexo B) e análise retrospectiva de prontuários para obtenção de dados necessários para o estudo em questão. Estes questionários foram respondidos durante a consulta de rotina no ambulatório de pediatria do HUIBB na presença do responsável pelo estudo e algumas questões dos mesmos foram coletadas do prontuário dos pacientes envolvidos no projeto.

3.7.4 Coleta de material biológico

Os pacientes após a consulta médica e entrevista no Ambulatório de Pediatria, foram encaminhados ao Serviço de Fisioterapia do HUIBB onde após nebulização com solução de soro fisiológico 0,9% associada a um broncodilatador (fenoterol), foram realizadas manobras fisioterápicas que induzissem à expectoração. Aqueles que após inúmeras tentativas não apresentaram eliminação de quantidade suficiente de escarro para realização da cultura, foram encaminhados ao Laboratório de Microbiologia para coleta imediata de Swab de orofaringe pelo técnico responsável pelo exame.

As amostras foram coletadas com o paciente em jejum e antes de iniciar o antimicrobiano.

3.7.5 Dosagem de cloretos no suor

A técnica Gibson & Cooke, utilizada para coleta do suor é a única aceita como padrão internacional pela Cystic Fibrosis Foundation dos Estados Unidos (CF Foudation – US) e pela International Cystic Fibrosis (Mucoviscidosis) Association (LE GRYS, 1996) .

A indução da produção do suor é feita através de estímulo com cloridrato de pilocarpina que é embebido em gaze e aplicado no antebraço do paciente, após limpeza do mesmo com água bidestilada. Em cima desta gaze é colocada uma pequena placa de chumbo (eletrodo) que é fixado com garrote de borracha e conectado ao eletrodo de pólo positivo (vermelho). Uma outra gaze é embebida com solução de $H_2SO_4 - 0,01 N$ e colocada em contato com o braço do paciente e em cima da gaze é colocada uma placa de chumbo, que também é fixada com garrote de borracha e conectado ao eletrodo o pólo negativo (preto). O aparelho de iontoforese é ligado e é monitorado até alcançar uma corrente de 2,0 a 3,0 ma (miliampères). Deixar a corrente ligada por dez minutos com o paciente em repouso durante este tempo. A seguir desligar o aparelho, retirar os eletrodos, lavar os antebraços com gaze embebida em água bidestilada e secar com gaze seca. Retirar uma gaze de um potinho, com pinça, previamente pesada e numerada, e colocá-la sobre a área exata onde estava a solução de cloridrato de pilocarpina. Cobrir a gaze com um pedaço de plástico quadrado transparente e vedar totalmente com esparadrapo. A partir daí o paciente fica a vontade enquanto se aguarda trinta minutos para coleta do suor. Ao final deste tempo, retira-se a fita adesiva e com o auxílio de uma pinça, se pega a gaze embebida de suor e a coloca imediatamente no potinho do qual foi retirada, fechando imediatamente.

Pesar o potinho e anotar o peso no rótulo. Adicionar cinco mililitros de água bidestilada, fechar, guardar na geladeira por 18 a 24 horas quando se iniciarão os procedimentos analíticos para titulação dos cloretos no suor pela técnica de Schales & Schales (1941).

A pilocarpina penetra na pele, atingindo as glândulas sudoríparas, por meio de aplicação de corrente elétrica de 2 a 3 miliampéres por dez minutos estimulando a produção do suor. Foram considerados positivos dosagem de cloretos no suor com valores iguais ou superiores a 60 mEq/l (LE GRYS, 1996).

3.7.6 Avaliação Estatística dos Resultados

Os resultados obtidos neste estudo serão avaliados através do uso dos pacotes estatísticos EXCEL ® e INSTAT ®, considerando-se 95% de confiabilidade estatística.

4 RESULTADOS

Os pacientes envolvidos no estudo foram divididos em três grupos, descritos a seguir, e representados graficamente na Figura 1:

- **Grupo 1 (G1):** Pacientes que nunca foram infectados por *P.aeruginosa*;
- **Grupo 2 (G2):** Pacientes que tiveram infecção pela bactéria no passado, mas não se tornaram colonizados;
- **Grupo 3 (G3):** Pacientes que estão colonizados por *P.aeruginosa*.

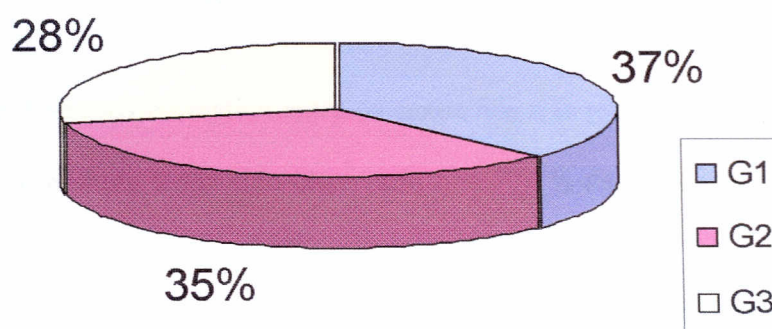


Figura 1: Distribuição dos pacientes pelos 03 grupos de estudo

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos relacionados para o estudo.

O perfil epidemiológico dos pacientes participantes do estudo e pertencentes aos grupos relacionados encontra-se descrito nas Tabelas de 1 a 7.

Tabela 2: Distribuição dos Pacientes participantes do estudo, por sexo, nos diversos grupos

SEXO \ GRUPOS	GRUPOS			TOTAL
	G1	G2	G3	
FEMININO	05	04	07	16
MASCULINO	07	07	02	16
TOTAL	12	11	09	32

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

Não há diferença estatística entre os sexos nos três grupos selecionados para estudado, ($p > 0,05$) embora tenha sido observado que 77,7% da população pertencente ao **G3** pertença ao sexo feminino.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes participantes do estudo por grupo étnico nos diversos grupos.

RAÇA \ GRUPOS	GRUPOS			TOTAL
	G1	G2	G3	
CAUCASÓIDE	02	03	01	06
NEGRÓIDE	01	01	--	02
MESTIÇO	09	07	08	24

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

Neste estudo foi observada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) dos mestiços, em relação aos caucasianos e negróides, independente do grupo estudado.

Tabela 4: Distribuição dos pacientes estudados nos diversos grupos conforme a idade dos mesmos.

IDADE (ANOS)	G1	G2	G3	TOTAL
0-10	02	08	02	12
11-20	09	03	06	18
21-50	01	--	01	02

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

Há diferença estatística significativa ($p < 0,05$) considerando-se as faixas etárias dos participantes do estudo, sendo a maioria entre 11 a 20 anos.

Tabela 5: Distribuição dos indivíduos estudados nos diversos grupos conforme renda familiar, baseado no número de salários mínimos.

Nº DE SALÁRIOS	G1	G2	G3	TOTAL
< 1 SALÁRIO	01	01	05	07
1-4 SALÁRIOS	10	09	03	22
> 4 SALÁRIOS	01	01	01	03

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

Há diferença estatística entre a faixa salarial, ($p < 0,05$), independente do grupo estudado, com a maioria dos indivíduos apresentando uma renda mensal de 1 a 4 salários mínimos.

Tabela 6: Condições de saneamento básico (água, luz, e coleta de lixo) a que estão submetidas as populações estudadas os diversos grupos.

SANEAMENTO BÁSICO	G1	G2	G3	TOTAL
SIM	09	07	02	18
NÃO	03	04	07	14

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

➤ Sistema de Esgoto não foi encontrado em nenhuma residência investigada.

Não existem diferenças estatísticas em relação às condições de saneamento básico em cada grupo estudado e no total da população com e sem saneamento ($P > 0,05$).

Tabela 7: Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme local de residência: Interior e Grande Belém.

RESIDÊNCIA	G1	G2	G3	TOTAL
GRANDE BELÉM	10	09	01	20
INTERIOR	02	02	08	12

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Há diferença estatística de acordo com o local de procedência de todos os pacientes, com a maioria dos pacientes dos grupos 1 e 2 provenientes da Grande Belém e do G3 do interior ($p < 0,05$).

Tabela 8: Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme história de FC na família.

FC NA FAMÍLIA	G1	G2	G3	TOTAL
SIM	03	02	04	09
DESCONHECE	09	09	05	23

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Não há diferença estatística significativa ($p > 0,05$) nos achados clínicos da FC em pacientes que apresentam familiares com histórico da patologia.

Os achados clínicos dos pacientes participantes do estudo, dos diversos grupos encontram-se descritos nas Tabelas de 08 a 13 e na figura 1.

Tabela 9: Idade dos pacientes no momento do diagnóstico de FC, distribuído nos diversos grupos

IDADE (ANOS)	G1	G2	G3	TOTAL
≤ 1 ANO	--	01	--	01
1-5 ANOS	03	08	03	14
5-10 ANOS	06	01	02	09
> 10 ANOS	03	01	04	08

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Houve diferença estatística significativa em relação à idade de detecção da FC ($p < 0,05$).

Tabela 10: Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme a curva de percentil para peso / estatura:

PERCENTIL (p/e)	G1	G2	G3	TOTAL
≤ 2,5	--	--	06	06
2,5-10	04	04	02	10
10-50	06	05	01	12
> 50	02	02	--	04

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Considerando-se todos os pacientes não há diferença estatística significativa na curva de percentil ($p > 0,05$), embora tenha sido observado que 66,6% dos pacientes pertencentes ao **G3** estejam abaixo do percentil 2,5.

Tabela 11: Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme o uso de enzimas pancreáticas.

USO DE ENZIMAS	G1	G2	G3	TOTAL
SIM	07	05	03	15
NÃO	03	02	01	06
IRREGULAR	02	04	05	11

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Não há diferença estatística ($p > 0,05$) em relação ao uso de enzimas, considerando-se todos os pacientes.

Tabela 12: Distribuição dos pacientes nos referidos grupos conforme a realização de fisioterapia

FISIOTERAPIA	G1	G2	G3	TOTAL
SIM	10	10	07	27
NÃO	02	01	02	05

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Há diferença estatística em relação à realização de fisioterapia ($p < 0,05$), independente dos grupos selecionados para o estudo.

Tabela 13: Sintomas que sugeriram o diagnóstico de FC nos pacientes estudados conforme distribuição pelos grupos referidos acima.

SINTOMAS	G1	G2	G3	TOTAL
RESPIRATÓRIOS*	16	20	20	56
GASTROINTESTINAIS**	05	05	02	12
OUTROS***	03	02	06	11

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

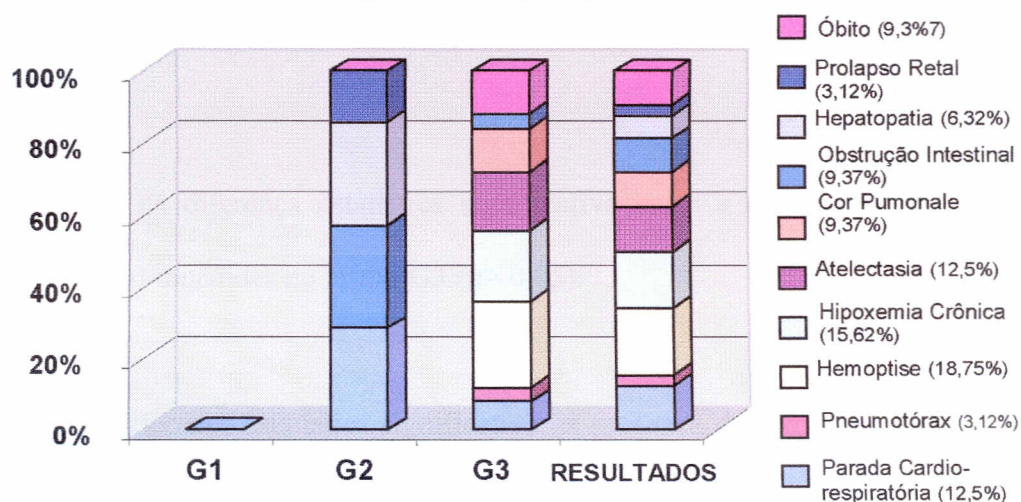
* Sintomas respiratórios: pneumonia de repetição, asma, tosse freqüente, sibilância, sinusopatia;

** Sintomas gastrointestinais: diarreia, dor abdominal recorrente, prolapso retal, íleo meconial;

***Outros: Cristais de suor na fronte, diabetes e desnutrição.

Houve diferença significativa em relação aos sintomas respiratórios, apresentados pelos pacientes, quando comparados com os demais ($p < 0,05$).

Figura 2 - Complicações



As complicações referentes ao aparelho respiratório foram mais severas e mais frequentes no grupo **G3** e óbito ocorreu em 33,3% da população estudada neste grupo.

Os achados laboratoriais mais frequentemente encontrados nos diversos grupos estudados estão expostos nas Tabelas 14 a 20.

Tabela 14: Distribuição dos pacientes dos grupos **G2** e **G3**, conforme as características das colônias de *P.aeruginosas* encontradas nas amostras de secreção do trato respiratório obtidas.

COLÔNIAS	G2	G3	TOTAL
MUCÓIDE	01	09	10
NÃO-MUCÓIDE	11	07	18

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Há diferença estatística na ocorrência a forma não mucóide no grupo **G2** ($p < 0,05$).

Não há diferença estatística significativa entre a ocorrência das colônias mucóides e não mucóides no grupo **G3** ($p > 0,05$).

Há diferença estatística significativa na presença da forma mucóide entre os grupos **G2** e **G3** ($p < 0,05$).

Não há diferença estatística significativa entre a forma não mucóide considerando-se **G2** e **G3** ($p > 0,05$).

Tabela 15: Bactérias isoladas nos diversos grupos estudados.

GRUPOS	G1	G2	G3	TOTAL
<i>P. AERUGINOSA</i>	--	11	09	20
<i>S. AUREUS</i>	11	08	09	28
<i>H. INFLUENZAE</i>	02	--	--	02
<i>STREPTOCOCCUS SP.</i> (α HEMOLÍTICO)	11	10	05	26

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

Há diferença estatística significativa no *H.influenzae* que apresentou menor colonização em relação aos outros patógenos ($p < 0,05$).

Tabela 16: Estudo genético realizado nos pacientes fibrocísticos distribuídos conforme os 03 grupos referidos anteriormente.

ESTUDO GENÉTICO*		G1	G2	G3	TOTAL
HOMOZIGOTO P/A Δ F 508		--	01	01	02
HETEROZIGOTO P/A Δ F 508		--	--	06	06
MUTAÇÃO DETECTADA	NÃO	10	09	--	19
NÃO REALIZADO		02	01	02	05

Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB.

* Mutações investigadas: ΔF508, G542/BSTNI, G551/HINCII

Não há diferença estatística em relação a mutação não detectada e as demais avaliadas ($p>0,05$), embora se tenha observado que 77,7% dos pacientes agrupados em G3 apresentaram pelo menos uma mutação para ΔF508.

5 DISCUSSÃO

P.aeruginosa, é um patógeno oportunista reconhecido como importante causa de infecção nosocomial e infecção pulmonar em pacientes portadores de FC.

Devido ao *clearance* pulmonar deficiente, o microorganismo infecta os pulmões da maioria dos pacientes com FC ainda na infância. Esta infecção é de difícil tratamento e persiste por toda a vida destes indivíduos, causando dano pulmonar progressivo que eventualmente leva à falência respiratória e morte (COLLIER, et al, 2002).

É essencial que estratégias gerais e específicas de diagnóstico precoce, profilaxia e tratamento da infecção por esta bactéria no trato respiratório de pacientes fibrocísticos, sejam convenientemente abordadas. Com este propósito o presente estudo visou abordar os aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes com FC atendidos no HUIBB.

Os pacientes envolvidos na pesquisa foram divididos em três grupos: i) No primeiro grupo se encontravam os que nunca haviam sido infectados por *P.aeruginosa*; ii) O segundo grupo foi composto por aqueles que haviam apresentado infecção por esta bactéria e; iii) O terceiro grupo foi composto por pacientes que apresentavam-se colonizados cronicamente por este microorganismo.

Quando os pacientes foram divididos em três grupos para estudo não se observou diferenças estatísticas entre os grupos relacionados, caracterizando, assim, a homogeneidade da população selecionada.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos realizados no Centro de Atendimento a FC da Dinamarca (HØIBY, 1995).

O perfil epidemiológico dos pacientes estudados pertencentes aos grupos acima, foram realizados considerando-se: o sexo, o grupo étnico, a faixa etária, a renda familiar, saneamento básico, procedência do paciente e história de FC na família.

Não foram constatadas diferenças estatísticas entre os sexos nos três grupos relacionados, embora tenham sido observadas predominâncias do sexo feminino (77,7%) no terceiro grupo. Høiby (1995), obteve resultados semelhantes em estudos realizados no Centro de Atendimento a FC na Dinamarca.

Quando estudou-se a distribuição dos pacientes nos três grupos por grupo étnico não foram observadas nenhuma diferença significativa dos mestiços em relação aos caucasianos e os negróides, com predomínio do primeiro grupo.

Estudos realizados em países desenvolvidos demonstraram, que a incidência variava nos três grupos, porém, com predomínio na população caucasóide, de 1:2000 a 1:2.500 nascidos vivos. Em negros a incidência foi estimada de 1:17.000 e entre os orientais, 1:90.000 recém-nascidos (HØIBY, 1995; RASKIN, 1998; ROZOV, 1999).

No Brasil, em 1993, foi estimada uma incidência variável conforme a região geográfica e o grau de miscigenação da população, desta forma, foi estimada uma incidência para os estados do Sul de 1:2000 nascidos vivos e até de 1:10000 no estado de São Paulo (ROZOV, 1999). Dados estes, de acordo com os resultados obtidos e referenciados neste estudo, pois apesar do Brasil possuir uma enorme população

caucasóide, uma grande miscigenação pode aumentar teoricamente o número de casos na população não caucasóide (RASKIN, 1998).

Quando se considerou a distribuição dos pacientes nos diversos grupos conforme a faixa etária pode-se observar diferenças estatísticas entre as idades, sendo a maioria entre 11 a 20 anos (56,25%). Os maiores de 20 anos representaram apenas 6,25% da população estudada.

Estudo realizado no Centro de Atendimento de FC da Dinamarca estimou que apenas 20% dos fibrocísticos alcançariam a idade adulta (HØIBY, 1995).

Foi observado, no presente estudo, uma diferença estatística entre a faixa salarial nos referidos grupos e prevaleceu no grupo colonizado (G3) uma renda inferior a um salário mínimo, retratando um estado de extrema miséria deste grupo, o que talvez possa favorecer a colonização por outras bactérias e uma evolução clínica desfavorável, fato verificado neste estudo, pois a incidência maior de óbitos apresentou-se neste grupo.

Ao investigar o saneamento básico, foi constatado ausência de rede esgoto no total da população. Não foram encontradas diferenças estatísticas relacionadas à população estudada e saneamento básico, porém 77,7% dos pacientes do terceiro grupo não apresentam saneamento básico em suas residências.

Foi estudada a distribuição dos pacientes nos referidos grupos e local de procedência, tendo sido encontrada diferença estatística, com a maioria dos pacientes

do primeiro e segundo grupos provenientes da Grande Belém e do terceiro grupo do Interior.

Não foram encontrados na literatura, estudos realizados no Brasil, relativos a renda familiar, saneamento básico, procedência do paciente e sua relação com a gravidade da doença respiratória. No presente estudo foi possível observar esta relação.

Na FC o envolvimento pulmonar é o fator de maior morbidade e mortalidade, por isto, diversos estudos vêm sendo realizados no sentido de tentar correlacionar genótipo e fenótipo pulmonar. Entretanto, nenhum destes estudos comprovou uma relação determinística entre a severidade do quadro pulmonar e o genótipo, provavelmente por estar o pulmão mais em contato com o meio ambiente (ao contrário do pâncreas exócrino), sofra mais influência deste que do componente genético da variabilidade (KEREM, 1990; SANTIS, 1990).

No presente estudo, observa-se que o terceiro grupo, está mais exposto às adversidades do meio ambiente, pois a maioria dos pacientes deste grupo vive em situação de extrema miséria, com renda familiar inferior a um salário, sem condições de saneamento básico e são na sua maioria provenientes da área rural.

Não houve diferença estatística significativa nos pacientes que apresentavam história de FC na família, nos referidos grupos.

Irmãos de pacientes fibrocísticos acometidos pela mesma patologia estão expostos à mesma cepa de *P.aeruginosa*, indicando maior risco de infecção cruzada ou

colonização da mesma fonte ambiental (HØIBY, 1995). Fato não detectado entre os pacientes deste estudo.

Quanto aos aspectos clínicos dos pacientes dos diversos grupos, detectou-se diferenças estatísticas significativa em relação à idade de detecção da FC. Com 3,1% dos pacientes diagnosticados antes de completarem um ano de idade. A idade média de diagnóstico de FC entre os pacientes estudados foi de 7,69 anos, fato semelhante ocorre em outros estados, pois, a média de idade diagnosticada no Brasil é alta se compararmos com a média de sete meses nos países desenvolvidos, provavelmente pelo alto intervalo entre os primeiros sintomas e a confirmação diagnóstica. Aliado a isto, outros fatores como o desconhecimento da patologia pelos profissionais de saúde e aspectos da doença pulmonar que se confundem com outras patologias de alta prevalência em nosso meio como a asma, a tuberculose e bronquite. Conseqüentemente a maioria das crianças que chega ao diagnóstico no Brasil, apresentam-se com o quadro clínico avançado, com lesões pulmonares grave e desnutrição secundária severa, agravando o prognóstico e reduzindo a sobrevida (RASKIN, 1998).

Os Registros Latino-Americanos de pacientes com FC, em 1992, demonstraram que na América Latina existiam 1342 pacientes registrados com FC. Destes 36% foram diagnosticados com menos de um ano de idade e 80% antes de completarem sete anos. Em 1991, nos Estados Unidos foram diagnosticados 981 casos novos onde, 52,2% dos mesmos, deu-se antes dos seis meses de vida, 65,1% antes de completar um ano e 90% antes de completarem sete anos de idade (RASKIN, 1998).

Considerando todos os pacientes não há diferença estatística na curva de percentil, embora tenha sido observado que 66,6% dos pacientes pertencentes ao terceiro grupo estejam abaixo do percentil 2,5.

Aproximadamente 5% dos pacientes vão apresentar desnutrição grave. Há associação significativa entre gravidade da doença pulmonar e o estado nutricional do doente, com desenvolvimento de deficiência imunitária do tipo celular secundária à desnutrição, resultando em suscetibilidade às infecções. O estado nutricional precário do paciente contribui como um dos fatores facilitadores da colonização por *P.aeruginosa* (ROZOV, 1999).

Não observou-se diferenças estatísticas em relação ao uso de enzimas e na literatura não houve qualquer citação sobre relação ao uso das mesmas, e risco aumentado para colonização por *P.aeruginosa*.

Entretanto, a fisioterapia respiratória é reconhecida como tendo importante papel no manejo do paciente com FC, sendo um dos aspectos do tratamento que contribuiu para a melhora da qualidade de vida destes pacientes, pois reduz o acúmulo de secreções nos brônquios, melhora o padrão respiratório e fortalece os músculos envolvidos na respiração (WEBER, 1995). Este estudo demonstrou que 84,3% dos pacientes atendidos no HUIBB estão realizando a fisioterapia respiratória regularmente.

Dentre os sintomas mais freqüentemente observados no momento do diagnóstico, foi identificado que os sintomas respiratórios preponderaram, condizendo com os dados da literatura.

A maioria dos sintomas, ocorre no primeiro ano de vida, sendo que os mais freqüentes são: tosse, taquipnéia e sibilos. A essência da FC é a doença pulmonar obstrutiva crônica responsável pela morbidade e mortalidade dos pacientes. Quase todos os pacientes com FC apresentam doença pulmonar em algum momento de suas vidas (ROZOV, 1999).

As complicações referentes ao aparelho respiratório foram mais severas nos pacientes do grupo colonizado (**G3**), onde foram observados: hemoptise, atelectasia, pneumotórax, parada cárdio-respiratória e óbito.

No estudo dos achados laboratoriais, procurou-se observar a freqüência do achado das cepas mucóides e não-mucóides nos grupos que se infectaram, porém, não se colonizaram; e no que se colonizou e se observou que a cepa mucóide prevaleceu no grupo colonizado, condizendo com dados da literatura. As cepas não-mucóides foram observadas nos dois grupos, dados semelhantes foram encontrados em outros estudos. Na maioria dos pacientes com FC, a variedade não-mucóide parece iniciar a infecção, e a transição para a forma mucóide seria uma estratégia de sobrevivência frente às adversidades encontradas nos pulmões destes indivíduos (BOUCHER, 2000; DÖRING, 2000).

Muitos pacientes podem tolerar a colonização pela *P.aeruginosa* por anos sem declínio da função respiratória, por abrigarem a forma não-mucóide da bactéria (COREY, et al, 1996). A variedade mucóide ocorre em 40 a 80% dos pacientes com FC (COSTA, et al, 1993).

Em estudos realizados no Centro de Atendimento ao FC na Dinamarca, para avaliar a frequência da infecção por *P.aeruginosa* e outras bactérias no trato respiratório destes pacientes, revelaram-se a ocorrência de: *P.aeruginosa* em 91%, *S.aureus* em 81%, *H.influenzae* em 87% e *S.pneumoniae* em 85% (HØIBY, 1995). Estes achados não correspondem aos números encontrados nesta pesquisa, onde prevaleceu a infecção por *S.aureus*, 36,8%, acompanhada de *Streptococcus sp.*, 34,2%, *P.aeruginosa*, 26,3% e em menor número *H.influenzae*, 2,36%.

Quando foram estudadas as mutações genéticas $\Delta F508$, G542/BSTNI, G551/HINCII nos pacientes dos diferentes grupos, não foi observada diferenças estatísticas em relação a mutação detectada e as demais avaliadas. Dentre as três mutações estudadas somente a mutação $\Delta F508$ foi encontrada, correspondendo a 25% dos achados dos pacientes referidos acima. Destes, 87,5% pertenciam ao grupo colonizado cronicamente (G3).

Um estudo demonstrou que o risco de colonização por *P.aeruginosa* estaria intimamente relacionado com o tipo de mutação que o paciente apresenta, existindo genótipos de alto risco e outro de baixo risco para aquisição desta bactéria. Os heterozigotos compostos de $\Delta F508$ e outra mutação que afete os éxons que codificam CFTR, teriam um risco maior de serem colonizados por *P.aeruginosa* no curso da doença. As mutações que se comportam como leves em relação ao quadro pancreático também estariam associados com baixo risco para colonização (KUBESCH, 1993).

CONCLUSÕES

- ❖ Não houve diferença significativa entre o número de indivíduos pertencentes aos três grupos de estudo selecionados;
- ❖ A raça predominante foi dos mestiços;
- ❖ Não houve diferença significativa entre os sexos nos três grupos estudados;
- ❖ A faixa etária predominante foi de 11 a 20 anos;
- ❖ A faixa salarial predominante foi de 1 a 4 salários;
- ❖ Não houve diferença estatística significativa entre as idades médias de diagnóstico nos pacientes portadores de FC nos três grupos estudados;
- ❖ A idade média de diagnóstico da FC nos três grupos estudados foi de 1-5 anos;
- ❖ Não houve diferença significativa nos três grupos em relação a presença de saneamento básico;
- ❖ A maioria dos pacientes do estudo foi proveniente da grande Belém;
- ❖ Não houve correlação entre os pacientes deste estudo e a presença de outros familiares com fibrose cística;

- ❖ Houve predomínio de complicações respiratórias no grupo colonizado cronicamente, quando comparados aos demais grupos estudados;
- ❖ Não se observou diferença estatística significativa na curva do percentil, nos diversos grupos estudados. Porém no grupo colonizado a maioria dos pacientes (66,6%) apresentou percentil inferior a 2,5, diferindo dos demais grupos;
- ❖ Não há diferença em relação ao uso de enzimas nos três grupos estudados;
- ❖ Há diferença estatística significativa no uso da fisioterapia, como recurso terapêutico auxiliar nos três grupos selecionados;
- ❖ Houve predominância dos sintomas respiratórios ao diagnóstico dos pacientes nos três grupos estudados;
- ❖ As complicações mais freqüentemente encontradas nos pacientes no curso da doença, foram de origem respiratória e mais severas no grupo colonizado, sendo responsável pelos três óbitos que ocorreram neste grupo;
- ❖ *P.aeruginosa* foi o terceiro patógeno detectado em freqüência nas amostras estudadas;
- ❖ Achado de cepas mucóides prevaleceu no grupo colonizado. As cepas não-mucóides de *P.aeruginosa* ocorreram similarmente nos dois grupos estudados (G2 e G3).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, J.; GEE, L. Quality of life in children and adolescents with Cystic Fibrosis – implication for optimizing treatments and clinical trial design. Review article. **Pediatric Drugs**. n. 5, p. 41-56, 2003.

ABMAN, S. H.; HARBECK, R. J.; OGLE, J. W., et al Early bacteriology, immunologic, and clinical courses of young infants with cystic fibrosis identified by neonatal screening. **Journal Pediatric**. n. 7, p. 119-211, 1991.

ARMSTRONG, O. S.; CARLIN, J. B.; CARZINO, R.; GRIMWOOD, K., et al. Lower Airway Inflammation in Infants and Young Children with Cystic Fibrosis. **Am. J. Respir. Crit. Care. Med**. n. 156, p. 1197-1204, 1997.

BARROSO, F. C.; LORENZI, G. F., et al. Transporte de eletrólitos no epitélio respiratório dos portadores de fibrose cística. **Hospital de Clínicas Faculdade de Medicina São Paulo**. n. 47, p. 76-78, 1992.

BATSAKIS, J. G. Cystic Fibrosis and the sinonasal tract. **Annals of otology, rhinology & laryngology**. n. 105, p. 329-330, 1996.

BERGOIN, C.; GOSSET, P.; et al. Cell and cytokine profile in nasal secretions in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. n. 1, p. 110-115, 2002.

BIER, O. Bactérias Intestinais. **Microbiologia e Imunologia**. 24. ed. n. 32, p. 609-664, 1990.

BOSSO, J.; MICRORIE, M. J.; RANDOLPH, L., et al. Pilot safety study of Liposomal Prostaglandin (PGE1) in respiratory exacerbation's in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. n. 1, p. 90-93, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de procedimentos básicos em microbiologia para o controle de infecção hospitalar**. Rio de Janeiro: FUNASA, 1991.

BOUCHER, R. Pathogenesis and Therapy of early CF airways infections. Plenary Lecture 1. In: Presented at the Internacional Cystic Fibrosis Congress, 8., **Anais...** Sweden, 2000.

BOWMAN, C. M. The long-term use tobramycin in patients with cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. n. 1, p. 194-198, 2002.

CANADIAN. Cystic Fibrosis Foundation. **Canadian Consensus Statement on Aerosolized Antibiotics in Cystic Fibrosis**. [S.l: s.n] 1999.

CHURCH, D. A.; KANGA, J. F.; KUHN, R. J. Sequential ciprofloxacin therapy in pediatric cystic fibrosis: comparative study vs. ceftazidime/tobramycin in treatment of acute pulmonary exacerbations. The Cystic Fibrosis Study Group. **Pediatric Disease Journal**. n. 16, p. 97-105, 1997.

COLLIER; D. N.; ANDERSON, L.; MCKNIGHT, S. L.; NOAH, T. L.; et al. A bacterial cell to cell signal in the lungs of cystic fibrosis patients, **FEMS microbiology letters**. n. 215, 2002. p. 41-46.

COREY, M.; FAREWELL, V. Determinants of mortality from cystic fibrosis in Canada, 1970-1989. **Am J. Epidemiol**. n. 143, p. 1007-1017, 1996.

COSTA, M. C. T.; DALALLANA, L.; T. FUCHSUBER, L., et al. Imunidade humoral em pacientes com fibrose cística, artigo de revisão, **Revista Brasileira de Patologia Clínica**. n. 29, p. 20-22, 1993.

DAMACENO, N. Controle da Fibrose Cística. **Pneumologia atualização e reciclagem**. v. 2. Rio de Janeiro: Atheneu, 1997.

DAVID, T. J. Nasal polyposis, opaque paranasal sinuses and usually normal hearing: the otorhinolaryngological features of cystic fibrosis. **Journal of the Royal Society of Medicine**. Supplement. v. 79, n. 12, p. 23-26, 1985.

DENTON, K.; MOONLEY, V. K., et al. Transmission of colistin-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* between patients attending a pediatric cystic fibrosis center. **Pediatric Pulmonology**. n. 34, p. 257-261, 2002.

DODGE, J.; Management in pediatric and adult cystic fibrosis centers improves clinical outcome. **British Medical Journal**. n. 316, p. 1776- 1777, 1998

DÖRING, G.; BELLON, G.; KNIGHT, R. Immunology of Cystic Fibrosis. In: Hodson and Geddes. **Cystic Fibrosis**. n. 5, p. 99-121, 1995.

DÖRING, G.; CONWAY, S. P.; HEIJERMAN, H. G. M., et al. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European Consensus. **The European Respiratory Journal**. n. 16, p. 751-767, 2000.

DOWEL JR. S.; KONEMAN, A. **Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas colorido**. 2. ed. São Paulo: [S.n] 1993.

ENGLISH, J.; GILBERT, D. N.; KOLHEPP, S., et al. Attenuation of experimental tobramycin nephrotoxicity by ticarcillin. **Antimicrob Agents Chemother**. n. 26, p. 897-902, 1999.

ERNEST, J.; JOSEPH, L. M.; EDWARD, A. A., et al. *Pseudomonas*, *Acinobacters* e Bactérias Gram-Negativas menos comuns. **Microbiologia Médica**. 18. ed. n. 17, p. 185-189, 1987.

EVANS, L. R.; LINKER, A. Production and characterization of slime polyssacharide of *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal Bacteriol**. n. 24, p. 116-915, 1973.

FORUCCI, R. A.; SPRINGFIELD, M. A.; STARR, E. Hearing Loss, Speech-Language, and Cystic Fibrosis. **Publish by American Medical Association**. jul, 2002.

FREDERIKSEN, B.; LANNG, S.; KOCH, C., et al. Improved survival in the Danish Center – treated cystic fibrosis patients: results of aggressive treatment. **Pediatric Pulmonology**. n. 21, p. 153-158, 1996.

GACESA, P. Bacterial alginate biosynthesis- recent progress and future prospects. Microbiology. **Journal of cystic fibrosis**. n. 1, p. 203-208, 2002.

GAILLARD, J. L.; FERRONI, A.; GAUDELUS, S. I., et al. L'abtibiotherapie dans la mucoviscidose. 2. Stratégie antiotique. **Arch Pédiath**. n. 7, p. 645-656, 2000.

GOVAN, J. R. W. Insights into cystic fibrosis microbiology from the European tobramycin trial in cystic fibrosis. **Journal of cystic fibrosis**. n.1, p. 203-208, 2002.

HODSON, M. E.; GALLAGHER, C. G. New clinical evidence from the European tobramycin trial in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. n. 1, p. 199-202, 2002.

HØIBY, N.; PEDERSON, S. S. Estimated risk of cross- infection with *P.aeruginosa* in Danish cystic fibrosis patients. **Acta Pediatric Scand**. n. 78, p. 395-404, 1989. (Edição Especial).

HØIBY, N. Microbiology of Cystic Fibrosis. **Cystic Fibrosis**. n. 4, p. 75-88, 1995.

HØIBY, N. Microbiology of lung infections in cystic fibrosis patients. **Acta Pediatric Scand**. n. 54, p. 301-333, 1982.

HUDSON, V. L.; REGELMANN, W. E.; WIELINSKI, C. L. Prognostic implications of initial oropharyngeal bacterial flora in patients with cystic fibrosis diagnosed before the age of two years. **Journal Pediatric**. n. 60, p. 122-854, 1993.

JOKLIK; WILLET; AMOS; WILFERT. Pseudomonas. **Zinsser Microbiology**. n. 39, p. 487- 491, 1989.

_____. Bacterial Morfology and Ultrastruture. **Zinsser Microbiology**. n. 3, p. 14-24, 1989.

_____. Energy Metabolism. **Zinsser Microbiology**. n. 4, p. 25-43, 1989.

_____. Physiology of Bacterial Growth. **Zinsser Microbiology**. n. 5, p. 45-62, 1989.

JOHN, B.; LOREN, R.; TERESA, I. M. Aminoglycoside Ototoxicity in Cystic Fibrosis. **American Journal of Disease of Children**. v.143, n. 11; p. 1328-1332, 1989.

KEREM, E. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis: analysis of the most commom mutation (F508). **N. Engl. J. Med**. n. 323. p. 1517-22, 1990.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, V. R. J. et al. Bacilos gram-negativos não fermentadores. In: **Diagnóstico Microbiológico**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1993. cap. 3. p.134-196.

KOCH, C. Early Infection and Progression of Cystic Fibrosis Lung Disease. **Pediatric Pulmonology**. n. 34, p. 232-36, 2002.

KUBESCH. Genetic determination of airways – colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis. **Lancet**, n. 341, p. 189-93, 1993.

LE GRYS, V. A. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. **J. Pediatric.**, n. 129, 892-7, 1996.

LEVIN, A. S. S; ARRUDA, E. A. G. Infecções por *Pseudomonas*. In: Veronesi & Focaccia. **Tratado de Infectologia**. Rio de Janeiro: Atheneu, n. 58, p. 761-767, 2002.

LEZANA, J. L.; GONZALEZ, O. M. Fibrosis quística em México, análisis de sus principales aspectos epidemiológicos. **Bol. Méd. Hosp. Infant. Mex.** n. 51, p. 305-310, 1994.

LUDWIG, N.; TEODÓSIO, S. M. Fibrose cística em Santa Catarina: perfil clínico dos pacientes. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. n. 22, p. 9-12, 1993.

MAHADEVA, R.; WEBB, K., et al. Clinical outcome in relation to care in centers specializing in cystic fibrosis: cross section study. **BMJ**. n. 316, p. 1771-1775, 1998.

MANUAL anual de Procedimentos Básicos em Microbiologia para controle da Infecção Hospitalar. Rio de Janeiro: MS/FUNASA, 1991.

MARQUES, E. A.; DALLALLANA, L. T.; PINTO, R. M. C., et al. Isolation of *Pseudomonas cepacia* in cystic fibrosis patients. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, n. 88, p. 124-129, 1993.

MOSS, R. B. Long term benefits of inhaled tobramycin in adolescent patients with cystic fibrosis. **Chest**. n. 121, p. 55-63, 2002.

MULHERIN, D.; FAHY, J.; GRANT, W., et al. Aminoglycoside Induced Ototoxicity in Patients with Cystic Fibrosis. **Irish Journal Medical Science**. n. 160, p. 173-175, 1991.

SHAND, G. H.; PEDERSEN, S. S.; TILLING, R., et al. Use of immunoblot detection of serum antibodies in the diagnosis of chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. **J. Med. Microbiology**. n. 27, p. 169-177, 1988.

PEDERSEN, N. S.; JENSEN, T.; OSTERHAMMEL, O., et al. Cumulative and Acute Toxicity of Repeated High-Dose Tobramycin Treatment in Cystic Fibrosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 31, n. 4, p. 594-598, 1988

PIER, G. B. Rationale form Development of Immunotherapies that Target Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Cystic Fibrosis. **Behing Inst. Mitt**. n. 98, p. 350-360, 1997.

POLLACK, M. *Pseudomonas aeruginosa*. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 4.ed. n. 197, p. 1980-2003, 1995.

QÜITTNER, A. L; BUU, A.; Effects of tobramycin solution for inhalation on global rating of quality of life in patients with cystic fibrosis and *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Pediatric Pulmonology**. n. 33, p. 269-276, 2002.

RAMSEY, B. W.; WENTZ, K. R., et al. Predictive values of oropharyngeal cultures for identifying lower airway bacteria in cystic fibrosis patients. **Am. Rev. Respiratory Disease**. n. 144, p. 331-337, 1991.

RASKIN, S.; SILVA, R. C. T.; BRUNONI, O. Aspectos genéticos em doenças pulmonares em Pediatria. In: ROZOV, Tatiana. **Doenças Pulmonares – diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Atheneu, 1998. cap. 3, p. 9-17.

REIS, J. F. C.; DAMACENO, N. Fibrose Cística – Artigo de revisão. **Jornal de Pediatria**. n. 74, p. 76-94, 1998.

ROTHMAN, K. J.; WENTWORTH, C. E. Mortality of cystic fibrosis patients treated with tobramycin solution for inhalation. **Epidemiology**. n. 14, p. 55-59, 2003.

ROZOV, T.; TATIANA, R. Mucoviscidose (Fibrose Cística do Pâncreas). **Doenças Pulmonares em Pediatria: diagnóstico e tratamento**. Rio de Janeiro: Atheneu, n. 55, p. 443-459, 1999.

SANTIS. Linekd marker haplotypes and the F508 mutation in adults with mild pulmonary disease and cystic fibrosis. **Lancet**. n. 1, .1426-9, 1990.

SCHALES, O; SCHALES, S. S. **J. Biol. Chem.**, p. 140, 1941.

SCHÜLIN, T., S. *In vitro* of aerosolized agents colistin and tobramycin and five intravenous agents against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients in South Western Germany. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. [S.l.] n. 49, p. 403-406, 2002.

SHARMA, G. D.; STERN, R. C.; TOSI, M. F., et al. Progression of pulmonary disease after disappearance of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. **Am J. Respir Crit Care Med**. [S.l.] n. 152, p. 169-173, 1995.

SHAWAR, R. M; MACLEAD, D. L.; GARBER, R. L. Actives of tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. **Antimicrob Agents Chemother**. n. 43, p. 2877- 2880, 1999.

SMITH, A. L. Inhaled antibiotic therapy: What drug? What dose? What Regimen? What formulation. **Journal of Cystic Fibrosis**. [S.l.] n. 1, p. 189- 193, 2002.

TAYLOR, C. J.; MCGAW, J. RIGBY, A, S., et al. Pilot safety study of Liposomal Prostaglandin (PGE1) in respiratory exarcebation's in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. [S.l.] n. 1, p. 90-93, 2002.

THOMASSEN, M. J.; KLINGER, J. D.; BADDGER, S. J., et al. Cultures of thoracotomy specimens confirm usefulness of sputum cultures in cystic fibrosis. **Journal Pediatric**. [S.l.] n. 6, p. 104-352, 1984.

TOLEDO, M. R. F.; TRABULSI, L. R. Pseudomonas. **Microbiologia**, 3. ed., São Paulo: Atheneu. n. 36, p. 269-271, 1999.

TOPOROVSK, M. S. Fibrose Cística. **Revista Paulista de Pediatria**. v. 13, n. 04, p. 115-119, 1995.

TOSO, C.; NOONE, P. E.; WILLIAMS, O. M. Inhaled antibiotics in cystic fibrosis: a review. **The Annals of Pharmacotherapy**. [S.l] n. 30, p. 840-850, 1996.

TOUW, D. J.; VINKS, A. A.; MOUTON, J. W.; HORREVORTS, A. M. Pharmacokinetic optimization of antibacterial treatment in patients with cystic fibrosis: Current practice and suggestions for future directions. **Clin. Pharmacokinet.** n. 35, p. 437-459, 1998.

TRABULSI, L. R. Infecção do Aparelho Respiratório – Sinusites – Otites – Infecções Oculares. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu. n. 41, p. 219-221, 1996.

VIC, P.; ATEGBO, S. ; TURCK, D. Efficacy tolerance and pharmacokinetics of once daily tobramycin for *Pseudomonas* exacerbations in cystic fibrosis. **Arch. Dis. Child.** n. 78, p. 536-539, 1998.

WALLICK, K.; DICKINSON, M.; JAMES, O. S., et al. Chronic mucoid *Pseudomonas aeruginosa* cholangitis complication ERCP in a cystic fibrosis patient. **Journal of Cystic Fibrosis**. [S.l] n.1, p. 99-101, 2002.

WEBBER, B. A.; PRIYOR, J. A. **Physiotherapy** – Cystic Fribosis – Hodson and Geddes. Londres: Chapman & Hall Medical, 1995. cap. 15a. p. 349-357 (Edição Especial da Roche).

WIESEMANN, G. H.; STEINKAMP, G.; RATJEN, F., et al. Placebo-controlled, double-blind, randomized study of aerosolized tobramycin for early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**. [S.l] n. 25, p. 88-92, 1998.

WOLTER, J. M.; BOWLER, S. D.; MCCORMACK, J. G. Are antipseudomonal antibiotics really beneficial in acute respiratory exacerbation's of cystic fibrosis? **Aust. NZJ Med.** [S.l] n. 29, p. 15-21, 1999.

YOSHIKAWA, T. T. *Pseudomonas* Infection. **Infection Disease – Diagnosis and Managements**. n. 43, p. 366-371, 1980.

ZAR, H.; SAIMAN, L.; QUITELL, L.; PRINCE, A. Binding of *Pseudomonas aeruginosa* to respiratory epithelial cells from patients with various mutations in the cystic fibrosis transmembrane regulator. **Journal Pediatric**. [S.l] n. 3, p. 126-230, 1995.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de Esclarecimento e Consentimento Livre

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Infecção por *P.aeruginosa* em Pacientes Portadores de Fibrose Cística

Coordenador da pesquisa: José Luiz

Endereço do pesquisador responsável:

Esta pesquisa tem como objetivo principal identificar a presença da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes portadores de Fibrose Cística atendidos no Ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário João de Barros Barreto, e observar os aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes fibrocísticos infectados e/ou colonizados por esse microorganismo. Para isso, será necessário que os participantes colaboram com amostras de escarro ou swab de orofaringe, além de responderem um questionário que abrange condições sócio-econômicas, condições clínicas e diagnóstico. Assim, esclarecemos que:

1. Serão realizados exames de amostras de escarro e swab de orofaringe do paciente;
2. É necessário que o responsável responda a um questionário padrão, do qual retiraremos informações importantes para a pesquisa, pois conterà dados de identificação do paciente;
3. As identidades dos participantes serão omitidas na pesquisa, sendo apenas utilizados os resultados dos exames, informações do questionário e dados do prontuário;
4. Os resultados destes exames poderão retornar aos prontuários dos pacientes, garantindo assim a possibilidade de avaliação médica;
5. Os resultados desta pesquisa serão apenas do conhecimento do pesquisador e do médico e da Equipe Interdisciplinar que atende aos portadores de Fibrose Cística no ambulatório do HUIBB;
6. A sua autorização para realização da pesquisa não é obrigatória para nos permitir a inclusão do menor sob sua responsabilidade;

CONSENTIMENTO

Declaro que li as informações descritas acima e que compreendo os benefícios desta pesquisa. Declaro também, por livre vontade, que como não terei prejuízo nenhum e nem o menor por quem me responsabilizo. Autorizo a participação do menor, cooperando com a coleta de materiais biológicos para exames.

Belém, ____ / ____ / ____

Nome e assinatura do responsável pelo menor: _____

Nome do menor: _____

Nome do entrevistador: _____

ANEXO B – Questionário Padrão

1. Nome do paciente: _____
2. Idade do paciente: _____
3. Data de nascimento do paciente: ____/____/____
4. Sexo: () masculino () feminino
5. Situação do paciente em 1998: () não visto () visto novo () visto anteriormente
6. Raça: (1) branca (2) negra (3) indígena (4) mestiço (2+3) () mulato (1+2)
outros: _____
7. Nascimento – Complicações: () nenhuma () íleo meconial () outras _____
8. Diagnóstico – Data ____/____/____ Cloretos no Suor _____ mEq/l
9. Diagnóstico sugerido por : _____
10. Espirometria antes da colonização: CVF: ____ Litros ____ % VEF1 ____ Litros ____ %
11. Espirometria no início da colonização: CVF ____ Litros ____ % VEF1 ____ Litros ____ %
12. Espirometria no período da pesquisa: CVF ____ Litros ____ % VEF1 ____ Litros ____ %
13. Data da primeira infecção por *P.aeruginosa*: ____/____/____
14. Data da colonização por *P.aeruginosa*: ____/____/____
15. Peso: _____ Kg percentil _____
16. Altura: _____ cm percentil _____
17. Flora bacteriana respiratória: () escarro () swab de orofaringe () broncoscopia
18. Resultados: _____
19. Número de consultas nos anos de: 1998 _____ 1999 _____ 2000 _____
2001 _____ 2002 _____ 2003 _____
20. Número de internações nos anos de: 1998 _____ 1999 _____ 2000 _____
2001 _____ 2002 _____ 2003 _____
21. Fisioterapia: () nenhuma () ocasional () diária
22. Enzimas Pancreáticas: () não usa () regular () irregular () outro
23. Suplementação Alimentar: () nenhuma () regular () irregular () não usa
24. Complicações observadas: () nenhuma () Cirrose () Diabetes Insulino
Dependente () Pneumotórax () Hemoptise () Íleo meconial equivalente ()
Insuficiência Cardíaca Congestiva () Prolapso retal () Pancreatite () Litíase
Biliar () Colapso/Atelectasia () Hipoxemia Crônica () outras: _____
25. Estudo Genético: () sim () não () desconhecido Resultado _____
26. Falecimento: () sim: Data ____/____/____ () não
27. Causa Primária da Morte: () desconhecida () cárdio-respiratória () Hepatopatia
() não relacionada com Fibrose Cística
28. História de Fibrose Cística na família: () sim: parentesco _____ () não
29. Comunicantes Intradomiciliares com risco de Infecção por *P.aeruginosa*: () não
() sim
30. Condições de moradia: Número de Cômodos () - Número de moradores ()
Água Encanada: () sim () não – Rede de esgoto: () sim () não
Energia Elétrica: () sim () não – Coleta de Lixo: () sim () não
31. Renda Familiar em Salário Mínimo: () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () + de 7
32. Recebe Benefício da Previdência: () sim () não
33. Família: () pais casados () pais separados () pai desconhecido/ ou não contribui
com renda familiar

ANEXO C – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa do HUIBB da UFPA.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO
COORDENADORIA DE ATIVIDADES ACADÊMICAS
DIVISÃO DE PESQUISA E EXTENSÃO
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA**

TERMO DE APROVAÇÃO

A Comissão de Ética em Pesquisa analisou no dia 05/11/2003, o ante-projeto para mestrado em Medicina Tropical, intitulado **“Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Infecção por Pseudomonas Aeruginosa em Pacientes Portadores de Fibrose Cística no Estado Pará”**, desenvolvido por Valéria de Carvalho Martins, com a orientação do Prof. José Luiz Vieira, obtendo **APROVAÇÃO** com autorização para desenvolvê-lo nesta instituição.

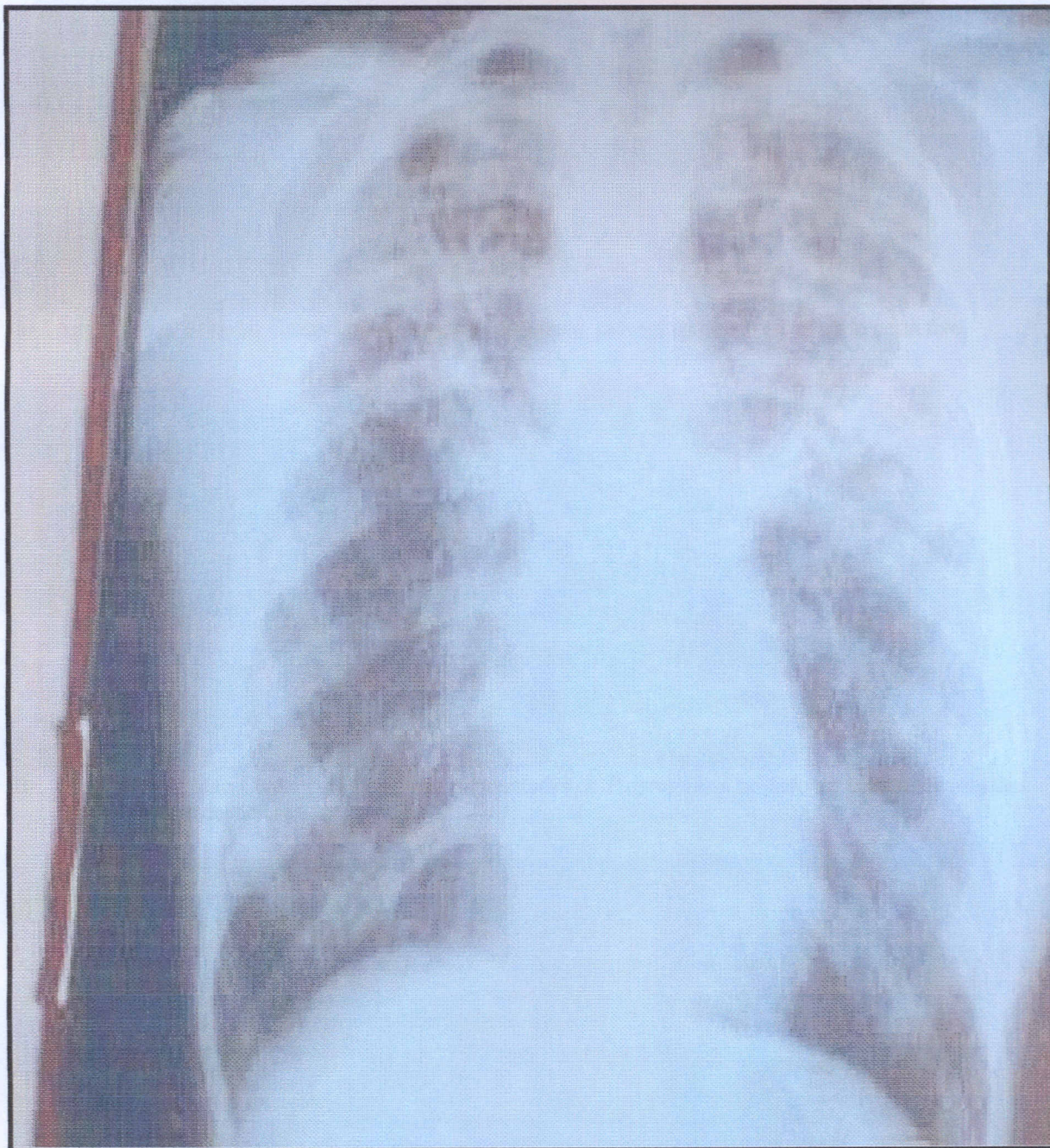
Belém, 05 de novembro de 2003

Dr. EDUARDO LEITÃO MAIA

Coordenador da Comissão de Ética em Pesquisa/ HUIBB

ANEXO D – Fotos

Figura 3 – Raio X do tórax de paciente portador de FC colonizado cronicamente por *P.aeruginosas* – 2003.

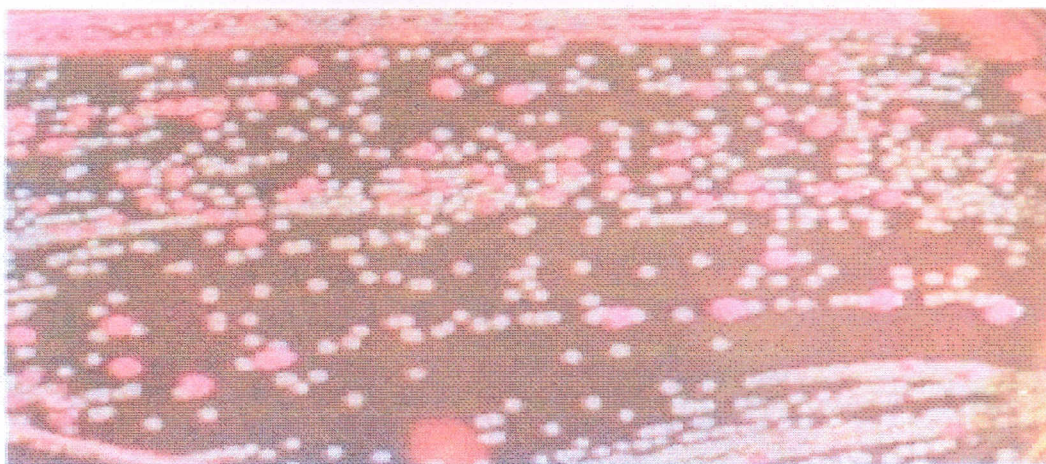


Fonte: pacientes portadores de FC do HUIBB

Figura 4 – Amostras laboratoriais



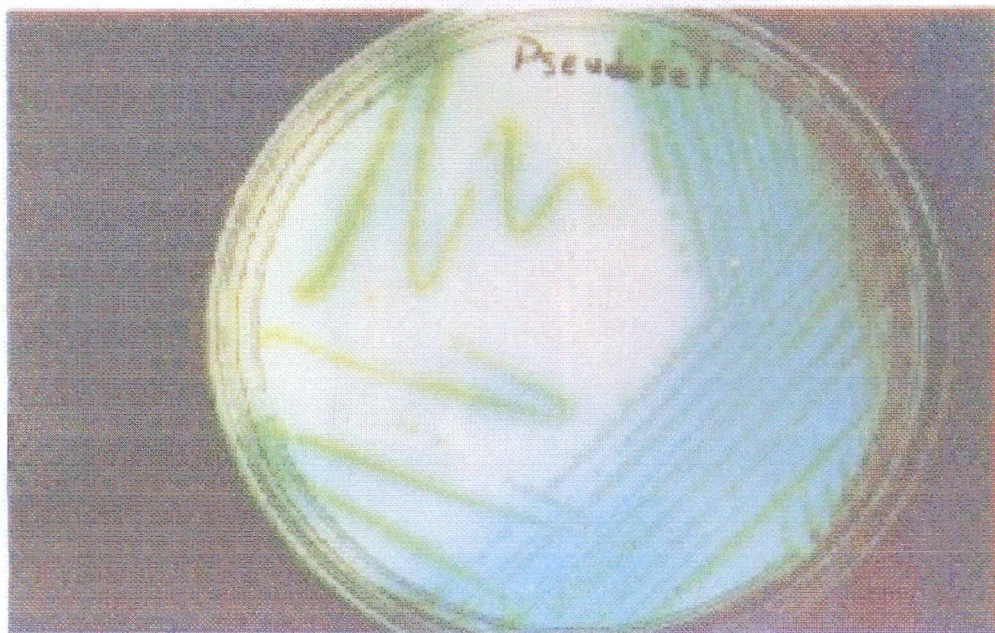
A- Ágar-sangue: colônias cinza-claro – pigmento piocianina, pioverdina pouco visualizado nesta foto.



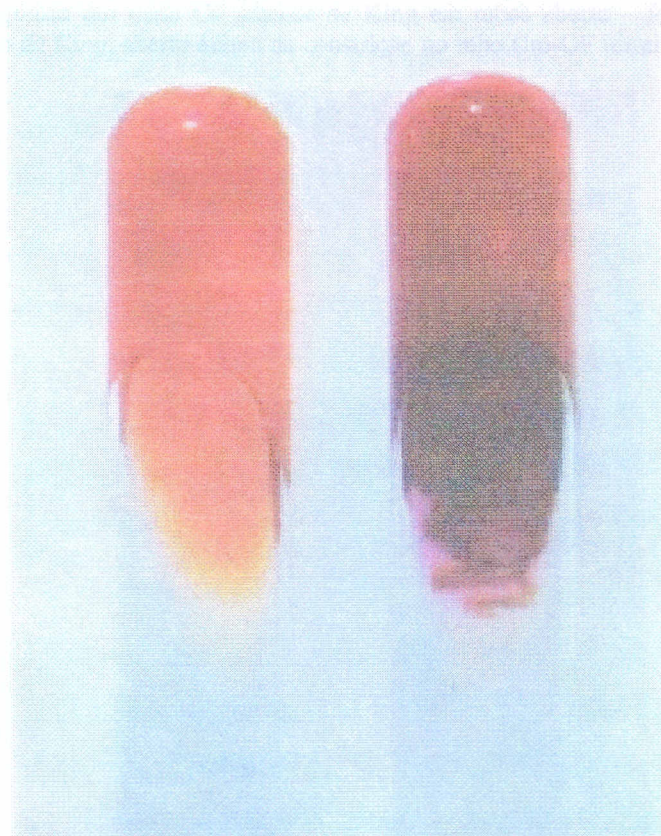
B- Placa de ágar Mac Conkey: colônias não pigmentadas de *P.aeruginosa* ao lado de colônias vermelhas (fermentadoras de lactose – de *E.coli*)



C- Ágar desoxilato-citrato: colônias secas, rugosas, cinza claro de *P.aeruginosa*. Pigmentação verde do meio – cepa produz piocianina.



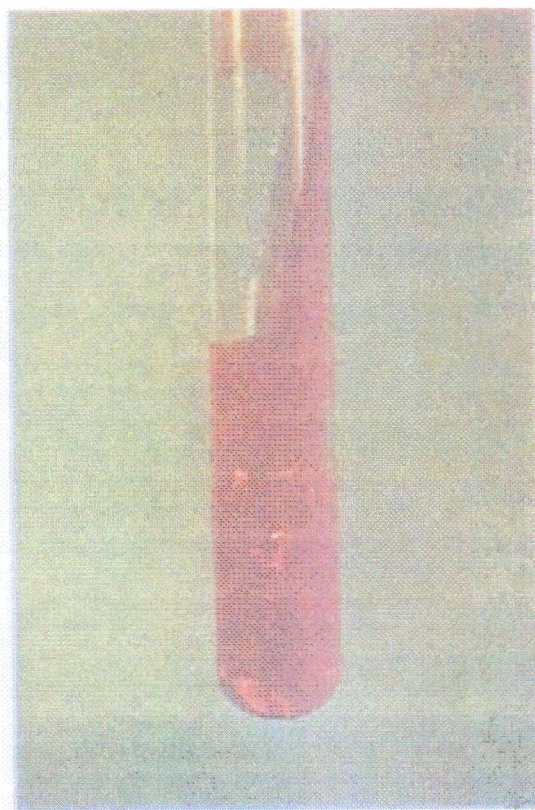
D- Ágar Pseudosel: contém cetrimida – seletivo para *P.aeruginosa* – cor devido piocianina que se difunde no ágar.



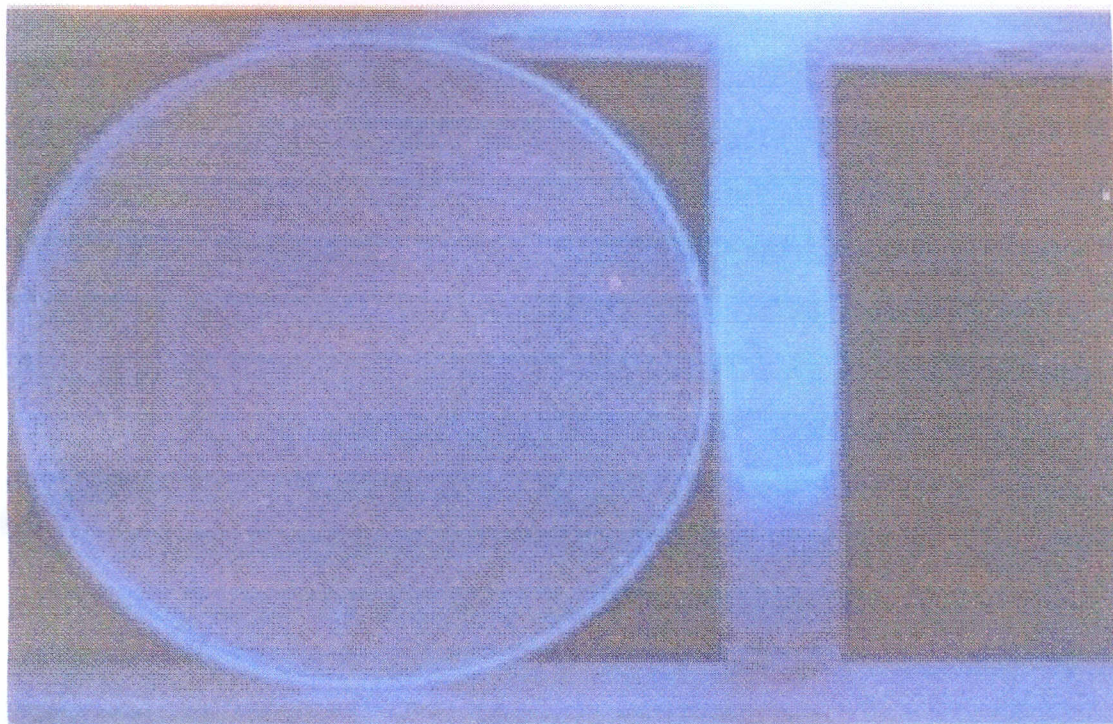
E- Tubos ágar triplice açúcar ferro (TSI): à esquerda inoculado com *P.aeruginosa* que produz pigmento marrom – reação alcalina – cor avermelhada do meio, característica do bacilo não fermentador. À direita não inoculado.



F- Reação de *P.aeruginosa* em meio OF glicose de King em tubos aberto – fechado à esquerda. Cor amarela só no meio de King, aberto acima da constrição no tubo Uni-OF (direita) – indica oxidação da glicose.



G- Meio fluorescência- desnitrificação (FN) inoculado – produz gás nitrogênio a partir de nitrato – observar bolhas de gás no interior do ágar.



- H- Tubo de meio FN inoculado com *P.aeruginosa*: todas as cepas produzem fluorosceína – observar fluorescência azul brilhante com lâmpada de Wood – Colônias não são fluorescentes em ágar sangue à esquerda.



- I- Coloração de flagelos de *P.aeruginosa* (polar único).
Fonte: KONEMAN, 1993

