



Universidade Federal Fluminense

ESCUELA DE ENFERMERÍA  
AURORA DE AFONSO COSTA



Notas Previas



## Aspectos fenotípicos y genotípicos de *Pseudomonas aeruginosa* en heridas crónicas: estudio descriptivo

Fernanda Soares Pessanha<sup>1</sup>, Bruna Maiara Ferreira Barreto<sup>1</sup>,  
Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira<sup>1</sup>, Geraldo Renato de Paula<sup>2</sup>,  
Lenise Arneiro Teixeira<sup>2</sup>, Ana Clara Silveira Marques<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad Federal Fluminense

<sup>2</sup> Facultad de Farmacia, Universidad Federal Fluminense

<sup>3</sup> Instituto Biomédico, Universidad Federal Fluminense

### RESUMEN

Infecciones en las heridas pueden prolongar la fase inflamatoria del proceso de cicatrización. La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* es comúnmente encontrada en heridas crónicas y colabora para la cronicidad, además de presentar resistencia natural a los antimicrobianos, lo que dificulta el tratamiento y puede variar conforme los productos empleados en las lesiones. **Objetivo:** analizar las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* encontradas en las heridas crónicas de pacientes ambulatorios tratados con gel de carboximetilcelulosa a 2% o placa de poliuretano. **Método:** estudio descriptivo, con abordaje cuantitativo, por medio de la colecta de material biológico de las heridas por *swab*, cultura, identificación y caracterización molecular de los microorganismos encontrados.-

**Descriptores:** Úlcera; Infección Heridas; *Pseudomonas Aeruginosa*; Enfermería.

## SITUACIÓN PROBLEMA Y SIGNIFICADO

El proceso de cicatrización de heridas puede ser acelerado o retardado por diversos factores, tales como la presencia de microorganismos y los productos empleados. Heridas crónicas llevan, en media, quince semanas para cicatrizar<sup>(1)</sup> y presentan un estado de inflamación prolongado<sup>(2)</sup>. El patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa* es comúnmente encontrado en esos casos y es de difícil tratamiento, por presentar resistencia natural a los antimicrobianos<sup>(2)</sup>.

Por eso, la relevancia de esta investigación está en la comprensión de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos de estas bacterias para orientar antibioticoterapias específicas, disminuir el tiempo de tratamiento de los pacientes y reducir gastos en el sistema de salud.

La aplicación de análisis moleculares de las bacterias es el principal factor que justifica este estudio, teniendo en cuenta que la exclusiva caracterización fenotípica<sup>(2)</sup> limita la especificidad de los análisis microbiológicos.

## HIPÓTESIS

Las heridas crónicas de pacientes ambulatorios presentan *Pseudomonas aeruginosa* con diferentes perfiles de resistencia a los antimicrobianos cuando son tratadas con gel de carboximetilcelulosa a 2% o con placa de poliuretano.

## OBJETIVOS

Objetivo general: analizar las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* encontradas en las heridas crónicas.

Objetivos específicos: identificar fenotípicamente las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*;

describir su susceptibilidad a los antimicrobianos; detectar genes envueltos en la resistencia a los antimicrobianos a través de la reacción en cadena de la polimerasa; verificar la diversidad genética por medio de la electroforesis en gel de campo pulsado; discutir la influencia de los productos en las características de las cepas encontradas.

## MÉTODO

Investigación descriptiva, de abordaje cuantitativo, con la recolección de los datos realizada en el Ambulatorio de Reparación de Heridas, del Hospital Universitario Antonio Pedro, y en el Policlínico Regional de Engenhoca, ambos en Rio de Janeiro. La población atendida es de aproximadamente 200 pacientes por año, prioritariamente mujeres con más de 50 años, con úlceras venosas crónicas<sup>(3)</sup>. La muestra final será determinada por conveniencia, con 70 pacientes o cuatro meses de colecta de datos (noviembre de 2014 a febrero de 2015), u sea, lo que se alcance primero.

Criterios de inclusión: tener más de 18 años; presentar herida crónica; usar gel de carboximetilcelulosa a 2% o placa de poliuretano en el curativo. Criterios de exclusión: presentar úlcera crónica cubierta totalmente por necrosis; usar medicamentos inmunosupresores. Criterio de discontinuidad: cambiar de producto durante los quince días de acompañamiento.

Son realizadas dos consultas de enfermería (D0 y D15) con la recolección de los datos de identificación y clínicos de los pacientes por intermedio de un protocolo propio para valorar a los clientes con lesiones tisulares. La descripción de la lesión incluye cálculo del área por planimetría, fotografía y colecta del *swab* en el tejido de granulación.

Los análisis de los laboratorios son hechas

en la Facultad de Farmacia de la UFF/RJ, donde los *swabs* son procesados para su desarrollo en un caldo de soya trifosfato y en agar cetrimida, específico para el crecimiento de *P. aeruginosa*. Los crecimientos microbianos sugestivos serán sometidos primeramente a testes de identificación fenotípicos.

Los antimicrobianos empleados en los testes de susceptibilidad por disco-difusión y concentración mínima inhibitoria serán determinados de acuerdo con el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los resultados de estos testes direccionarán las búsquedas por los genes específicos determinantes de las resistencias a los antimicrobianos encontradas, empleando *primers* específicos en reacciones de amplificación de la polimerasa (PCR). Los amplicons serán sometidos a la electroforesis en gel de agarosa a 1,5%, impregnados con solución de bromuro de etidio y visualizados con luz ultravioleta.

El análisis de la diversidad genética será determinado por la fragmentación del DNA total bacteriano con enzimas de restricción *SpeI* y sumisión a la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) utilizando el sistema CHEF-DR III. Los geles serán inspeccionados visualmente con luz ultravioleta tras la impregnación con solución de bromuro de etidio.

El análisis de los datos se realizará en dos etapas. La primera será de evaluación de los datos clínicos y de las heridas, los cuales serán tabulados en planillas en el software Microsoft Excel (Número de serie KGFVY-7733B-8WCK9-KTG64-BC7D8). Posteriormente, se someterán a la evaluación de la normalidad por el test de Shapiro-Wilk, en caso de que la muestra final tenga menos de 50 sujetos, o Kolmogorov-Smirnov, se está tiene más de 50 participantes,

y analizados por estadística descriptiva en el software BioStat 5.3 (licencia de uso gratuita).

La segunda etapa de análisis será compuesta por correlaciones de los resultados de los testes microbiológicos en relación al uso de los productos. Algunas de las variables analizadas: perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos y evaluación de los determinantes genéticos de resistencia; diversidad genética de las *P. aeruginosa* inter e intra-pacientes; perfil de tiempo de uso del producto en semanas. Esos datos también serán sometidos a la evaluación de la normalidad conforme el tamaño de la muestra. Los investigadores utilizarán el test de Pearson (datos normales) o de Spearman (datos no normales), con nivel de significancia de 0,05.

## CITAS

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

---

Detalles del Proyecto: Proyecto de Disertación del Máster Académico en Ciencias del Cuidado en Salud - UFF

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. dr<sup>a</sup>. Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira

**Co-orientador:** Prof. dr. Geraldo Renato de Paula

---

Todos los autores participaron de las fases de esa publicación en una o más etapas a continuación de acuerdo con las recomendaciones del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013): (a) participación substancial en la concepción o confección del manuscrito o de la recolecta, análisis o interpretación de los datos; (b) elaboración del trabajo o realización de la revisión crítica del contenido intelectual; (c) aprobación de la versión sometida. Todos los autores declaran para los debidos fines que es de su responsabilidad el contenido relacionado con todos los aspectos del manuscrito sometido al OBJN. Garantizan que las cuestiones relacionadas con la exactitud o integridad de cualquier parte del artículo fueron debidamente investigadas y resueltas. Eximiendo por lo tanto el OBJN de cualquier participación solidaria en eventuales procesos judiciales sobre la materia en aprecio. Todos los autores declaran que no poseen conflicto de intereses, de orden financiera o de relacionamiento, que inflencie la redacción y/o interpretación de los resultados. Esa declaración fue firmada digitalmente por todos los autores conforme recomendación del ICMJE cuyo modelo está disponible en [http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE\\_final\\_13-06-2013.pdf](http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE_final_13-06-2013.pdf)

---

Recibido: 11-29-2014

Revisado: 01-26-2015

Aprobado: 01-26-2015