

IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE SUPERFÍCIES INANIMADAS DE CONTATO DE UMA UNIDADE DE PRONTO ATENDIMENTO

ISOLATED MICROORGANISMS IDENTIFICATION INANIMATE SURFACES CONTACT A UNIT RESPONSIVENESS

Glowacki, C.M¹

Sales, B. S²

Pereira-maciel, R. A²

Vasco, J.F.M²

RESUMO

A presença de bactérias em superfícies inanimadas pode causar infecções graves em pacientes internados em unidades de pronto atendimento, com a contaminação cruzada que ocorre entre a equipe de enfermagem e o paciente. A identificação de tais bactérias se torna um processo valioso para prevenir a aparição de bactérias resistentes no âmbito hospitalar. Amostras de superfícies inanimadas de contato como bancadas e equipamentos foram coletadas e analisadas utilizando técnicas bioquímicas e equipamentos de automação para identificar gênero e espécies das bactérias além de verificar a resistência a antimicrobianos via teste de disco difusão. Com a presença de tanto bactérias Gram positivas quanto negativas nas superfícies analisadas, a criação de uma equipe multidisciplinar ou até mesmo a regularização e criação de uma comissão de controle de infecção hospitalar pode ajudar a desenvolver técnicas de combate e prevenção para reduzir a aparição das infecções hospitalares tanto quanto bactérias resistentes.

Palavras-chave: Identificação bacteriana, Testes bioquímicos, Infecção hospitalar, controle de infecção.

ABSTRACT

The presence of bacteria on inanimate surfaces can cause serious infections in patients admitted to emergency units, since the cross-contamination that occurs between the nursing

¹ Acadêmico Centro Universitário Autônomo do Brasil (UNIBRASIL), Curitiba, PR – Brasil, email: christopher_marra@hotmail.com

² Professores Curso de Biomedicina do Centro Universitário Autônomo do Brasil (UNIBRASIL), Curitiba, PR.

staff and the patient. By this fact, the identification of such bacteria becomes a valuable process to prevent the appearance of resistant bacteria in hospitals. Sample from contact inanimate surfaces such as countertops and equipment were collected and analyzed using biochemical techniques and automation equipment to identify gender, species and to identify resistance to antimicrobial using disk diffusion technique. With the presence of both Gram positive and negative in the analyzed surfaces, creating a multidisciplinary team or even the settlement and creation of a hospital infection control committee may help develop control techniques and prevention to reduce the appearance of infections in hospitals as well as resistant bacteria.

Keywords: Bacterial Identification, biochemical tests, hospital infection, infection control.

INTRODUÇÃO

Pacientes que passam por unidades de pronto atendimento, os quais se dirigem ao local para receber tratamento imediato, ou pacientes que estão por espera de vagas nas unidades de terapia intensivas estão expostos a uma ampla variedade de microrganismos, patógenos ou não⁽¹⁾.

Os atendimentos de urgência e emergência das unidades de pronto atendimento têm como objetivo prestar uma assistência imediata aos pacientes em risco iminente de vida durante um período de 24 horas, regra determinada pela portaria nº 312 do Ministério da Saúde, durante o período em que estiver no local o paciente pode entrar em contato com os patógenos presentes nas superfícies inanimadas do local e desenvolver uma infecção hospitalar⁽²⁾.

Segundo a Portaria nº 2.616 /1998 do Ministério da Saúde, o conceito de infecção hospitalar é expresso a partir do momento que o paciente é admitido na unidade hospitalar e a infecção desenvolve durante o período de internação ou após a alta, este relacionado com a internação ou procedimentos hospitalares^(3,5).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), desenvolveu o Programa de Prevenção e Controle de Infecção Hospitalar, divulgado em 2007, determina que nenhuma instituição hospitalar pode funcionar no plano administrativo se não dispuser de meios de proteção capazes de evitar efeitos nocivos à saúde dos agentes, pacientes e circunstantes, a fiscalização é responsabilidade dos órgãos estaduais que devem avaliar as condições de exercício das profissões e ocupações técnicas e auxiliares diretamente relacionadas com a saúde, este programa tem como meta diminuir as altas incidências de proliferação de microrganismos multirresistentes^(5,6).

Nas bancadas, mesas, equipamentos e acessórios do local, a disseminação dos microrganismos é proveniente de contaminação cruzada, envolvendo o profissional de saúde, o paciente e o próprio ambiente. A via mais comum de se transmitir o patógeno é através das mãos. O ambiente ocupado por pacientes infectados pode tornar-se contaminado, devido à presença de bactérias em superfícies inanimadas e equipamentos, como reservatórios secundários⁽²⁾.

O alto tempo de permanência do paciente em uso de antimicrobianos facilita o aparecimento de cepas patogênicas no ambiente hospitalar que podem apresentar resistência a antibióticos usados para a terapia, um exemplo é o *Staphylococcus aureus* MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), importante patógeno associado às infecções hospitalares em todo o mundo. Um dado importante é que esses microrganismos apresentam resistência cruzada a outros Beta-lactâmicos (cefalosporinas e carbapenems), mostrando-se também resistentes à macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, mupirocina e cotrimoxazol⁽⁴⁾.

Mediante o aumento da frequência de bactérias patogênicas isoladas de pacientes hospitalizados, esta pesquisa tem como objetivo identificar os microrganismos e conhecer o perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas de superfícies inanimadas desta unidade de pronto atendimento que se encontram na região metropolitana do Paraná para melhorar as intervenções realizadas para com o cuidado ao paciente bem como estabelecimentos de possíveis protocolos de controle pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH).

METODOLOGIA

O presente artigo tem como intuito cumprir um dos objetivos do projeto de pesquisa aprovado sob o parecer 639.258 no dia 07/05/2014 (anexo 1).

O procedimento consistiu-se na avaliação microbiológica de 24 amostras de superfícies inanimadas, coletadas aleatoriamente de bancadas, eletrônicos, pias e macas, sendo colhidas em uma unidade de pronto atendimento da região metropolitana utilizando swabs embebidos em meio de cultivo líquido *Brain Heart Infusion* (BHI), transportadas no mesmo e mantidas em recipientes isotérmicos até a chegada ao laboratório de microbiologia do Centro Universitário Autônomo do Brasil (UniBrasil), que possibilitou a realização das análises microbiológicas. Com o objetivo de se obter uma melhor precisão e confiabilidade dos resultados, as análises de cada amostra foram realizadas em duplicata na fase de leitura da coloração de gram e repique em meio seletivo para garantir o sucesso de identificação. Após

um período de incubação de 24h no meio de transporte mantido na estufa em $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, os swabs foram utilizados para semeadura por rolamento em 24 placas de meio de cultivo Mueller-Hinton, um meio não seletivo, que possibilitou o crescimento de todos os tipos bacterianos passíveis de estudo. Após incubação de 24 horas, cada colônia característica fora isolada utilizando-se de uma semeadura quantitativa em um meio de cultivo específico, sendo bacilos Gram negativos semeados em meio MacConkey e cocos Gram positivos semeados em ágar sangue, estas foram mantidas mais 24 horas em incubação antes de prosseguir com a pesquisa.

Após o crescimento, cada bactéria foi submetida a um estudo microbiológico da caracterização de gênero e espécie. Bactérias identificadas como cocos Gram positivos pela técnica de coloração de Gram passaram por testes bioquímicos manuais como o teste da catalase, coagulase e DNase. Todas as cepas bacterianas passaram por teste de resistência aos antimicrobianos pela técnica de difusão em disco (Kirby-Bauer) para detectar a sensibilidade a penicilina. As bactérias que foram identificadas como bacilos Gram negativos foram identificadas pelo sistema de automação Microscan WalkAway® 96 SI, localizado no laboratório LANAC (laboratório de análises clínicas – Curitiba), o qual utiliza o sistema-D de inoculação e painéis cromogênicos, o que possibilitou a identificação do gênero, a espécie e a resistência a antimicrobianos sendo CGP testado com oxacilina, penicilina e eritromicina enquanto os BGN foram testados para todos os principais antimicrobianos de uso através do equipamento MicroScan.

RESULTADOS

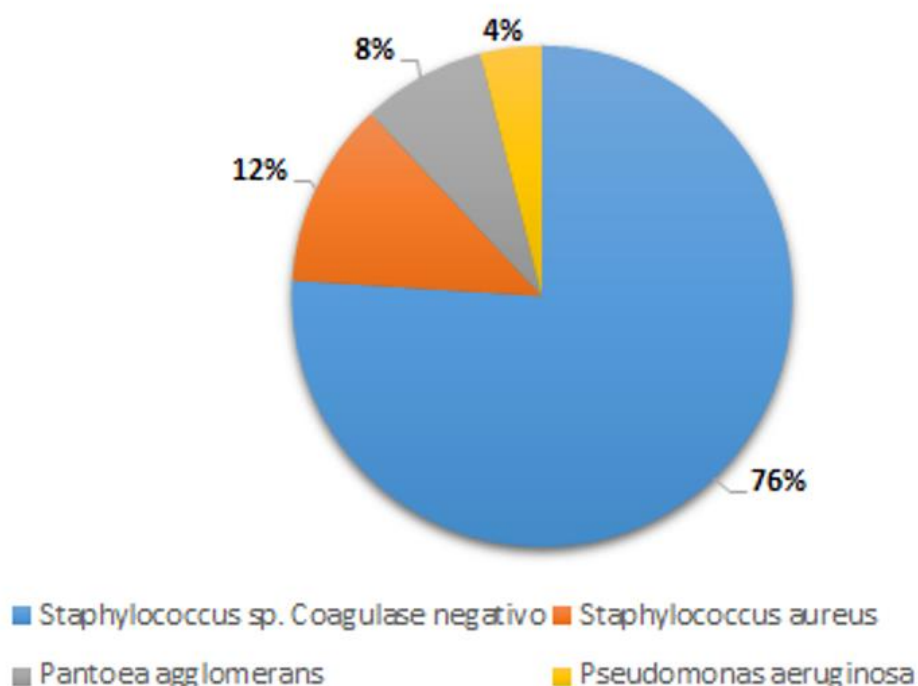
As culturas que foram semeadas a partir das amostras coletadas das superfícies inanimadas do pronto atendimento, depois de cultivadas por 24h em estufa, deram origem a vários tipos de bactérias distintas em cada meio de cultura. Visivelmente houve o crescimento de cocos gram positivos (CGP), bacilos gram positivos (BGP) os quais estão presente normalmente no ambiente sendo apenas patológicas em certas ocasiões como, por exemplo, em imunodeprimidos e bacilos gram negativos (BGN). Foram realizados os procedimentos de isolamento para obter culturas puras, foram encontrados 22 CGPs e 2 BGNs.

A partir da leitura dos testes bioquímicos, em relação aos CGPs foram isoladas 19 cepas catalase positiva, porém coagulase e DNase negativas, estas foram caracterizadas como *Staphylococcus* sp coagulase negativo visto que estes geralmente são caracterizados como *Staphylococcus epidermidis*, presente na pele e mucosas. Ainda dentro do grupo de CGP 3 cepas que apresentaram beta hemólise além da positividade para os testes de catalase,

coagulase e DNase foram caracterizadas como *Staphylococcus aureus*, e apresentaram sensibilidade a penicilina, oxacilina e eritromicina, mostrando-se cepas sensíveis.

Os BGN após serem isolados em meio de cultivo MacConkey, foram identificados utilizando o equipamento Microscan WalkAway 96 SI, localizado no laboratório LANAC. Estes foram identificados como duas cepas de *Pantoea agglomerans* e uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. Ambas as cepas seguiram um padrão de sensibilidade aos antibióticos esperados, onde a cepa *P. agglomerans* apresentou ser sensível aos carbapenêmicos e betalactâmicos, enquanto a cepa de *P. aeruginosa* que apesar de possuir resistência à levofloxacina, ciprofloxacina e aztreonam mostrou-se sensível a amicacina e alguns betalactâmicos como meropenem. O gráfico I mostra a relação entre as bactérias encontradas após o isolamento e a identificação de gênero e espécie.

Gráfico I: Bactérias encontradas após o isolamento e a identificação de gênero e espécie em superfície inanimada em uma unidade de pronto atendimento



DISCUSSÃO

Um dos principais problemas que deve ser superado ao examinar superfícies inanimadas ou utensílios é a remoção de percentagens significativas da flora do local, sendo assim apesar de serem capazes de causar uma infecção estão presentes nas superfícies normalmente ⁸. Os bacilos gram positivos, que são de contaminação de superfícies e não apresentam característica de contaminação no âmbito do qual foi coletada não foram identificadas deixando então apenas CGP e BGN como objetos de pesquisa.

Não houve o crescimento em todas as amostras coletadas, algumas das superfícies inanimadas não apresentaram desenvolvimento bacteriano, porém nos locais apresentaram crescimento de múltiplas espécies após 24h de incubação. Isto indica que o controle de desinfecção não está sendo realizado de maneira homogênea no pronto socorro, locais como a sala de emergência que deveria ter prioridade em relação à recepção apresentou crescimentos em grande abundancia. Uma das maneiras de reduzir o aparecimento destas bactérias é a utilização de compostos quaternários de amônia é recomendada para âmbitos hospitalares, pois além de serem desinfetantes antissépticos tem sua própria ação antimicrobiana, atribuída à inativação de enzimas produtoras de energia, desnaturando proteínas essenciais das células e rompendo a membrana celular. São recomendados para sanitização do meio hospitalar, como superfícies não críticas, chão, móveis e paredes⁽⁹⁾.

De acordo com a literatura, as evidências estão aumentando no sentido de que o ambiente contribui significativamente, na disseminação de infecções nas unidades de saúde. Embora as investigações sobre esta associação sejam complexas, e de custos financeiros altos, elas são necessárias e fundamentais⁽¹⁰⁾. Um fato importantíssimo de se levantar é que, apesar de várias das amostras adquiridas estarem em locais em que os pacientes nunca entraram em contato, a transmissão cruzada através dos profissionais da saúde para paciente pode ocorrer constantemente e visto que o enfermeiro, na maioria das vezes, utiliza luvas de proteção, o risco é apresentado apenas para os pacientes, que em casos, com imunidade reduzida devido à recuperação cirúrgica ou a utilização de imunossupressores, reduzem a atividade do sistema imunológico facilita a aparição de uma infecção por bactérias que em pacientes imunodeprimidos seriam irrelevantes⁽¹⁰⁾.

As cepas de *Staphylococcus aureus*, o segundo bactéria mais importante em infecções humanas, apesar de que encontrado em 20-40% das narinas dos adultos, podem produzir infecções oportunistas significativas podendo causar desde infecções cutâneas até doenças sistêmicas potencialmente fatais, a produção de coagulase e beta hemólise são duas características que associam os estafilococos à virulência, embora a primeira pareça ser mais confiável⁽¹¹⁾. As cepas caracterizadas como *Staphylococcus* sp, são em 95% das vezes

caracterizadas como *Staphylococcus epidermidis* quando isoladas de superfícies em hospitais, apresentam risco para pacientes com processos invasivos como a introdução de cateteres ou sondas causando infecções na circulação sanguínea, no trato urinário e no trato respiratório, mas apresentaram-se sensíveis a oxacilina e a meticilina, as principais drogas das quais adquirem resistência em âmbito hospitalar⁽¹⁹⁾.

Em relação aos dois BGN encontrados, observou-se o crescimento de *Pantoea agglomerans*, importante patógeno de plantas, mas que pode causar doença em casos raros e já foi encontrado em feridas, sangue e urina, como patógeno oportunista⁽¹²⁾. Até 1989 era conhecida como *Enterobacter agglomerans* e já foi responsável por vários surtos de septicemia de âmbito nacional nos EUA⁽¹⁰⁾. O termo *Pantoea* é derivado de uma palavra grega que significa “de todos os tipos e fontes”, descrevendo assim que esta bactéria pode ser proveniente de vários tipos de fontes geográficas e ecológica⁽¹⁰⁾. No Brasil esta cepa já causou surtos nosocomiais em centros de atendimento pediátricos no Distrito Federal, neste caso os principais fatores de contaminação foram vômito e contaminação em tubos de transfusão⁽¹²⁾.

A segunda cepa isolada, identificada como *Pseudomonas aeruginosa* aparece em microambientes de hospital ricos em água constituem-se próprios para o desenvolvimento da mesma, este é um importante agente causador de infecções nosocomiais frequentemente identificado como agente causal de infecção hospitalar pela habilidade que possui de sobreviver em locais de umidade elevada como pias e aparelhos de respiração como mascarar de ventilação. Quase todos os equipamentos e materiais hospitalares, principalmente com componentes líquidos, podem servir de reservatório para *Pseudomonas* sp incluindo equipamentos de ventilação respiratória, de terapia intravenosa e até alguns germicidas como sabonete líquido antibacteriano^(13,14). No Brasil, dados do programa SENTRY de Vigilância de Resistência (SENTRY Antimicrobial Surveillance Program), um programa mundial e longitudinal de vigilância de resistência a antimicrobianos. Esse programa conta com dados adquiridos até 2007 que mostraram que este patógeno foi o mais frequentemente isolado em pacientes com pneumonia hospitalar e em 1997 revelou que 71,6% das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram sensíveis à penicilina, sendo esta a segunda causadora mais frequente de infecção urinária e infecção de ferida cirúrgica^(13,15). Este microrganismo pode ocasionar infecções otológicas, oftalmológicas, ósseas, articulares, da pele e tecidos moles. Os antimicrobianos com atividade contra este microrganismo são penicilinas, cefalosporinas e carbapenems, o uso de cada tipo de medicamento depende do local da infecção⁽¹⁰⁾.

CONCLUSÃO

Neste âmbito é comum a exposição a procedimentos invasivos, que rompem as barreiras de defesas naturais do hospedeiro induzindo a entrada de microrganismos diversos, frequente em pacientes de unidades de pronto atendimento. Diante disso, são de extremo grau a preocupação de pesquisadores e médicos quanto aos procedimentos invasivos e a cadeia de infecção de seus precedentes⁽¹²⁾.

Como fora visto, a presença de *Staphylococcus* sp. e *Pseudomonas aeruginosa* pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e este fato evidencia a necessidade real de capacitação dos funcionários e criação de equipes de trabalho multidisciplinares que visem à implementação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle⁽¹⁰⁾.

A criação de uma CCIH, apesar de obrigatório nas unidades de pronto atendimento, muitas vezes não é realizada e seria de extrema importância para o controle bacteriano visto que estes são encarregados da execução programada de controle de infecção hospitalares. Uma CCIH é encarregada de elaborar, implementar, manter e avaliar programa de controle de infecção hospitalar, adequado às características e necessidades da instituição; implantação de um Sistema de Vigilância Epidemiológica das Infecções Hospitalares; adequação, implementação e supervisão das normas e rotinas técnico-operacionais, visando a prevenção e controle das infecções hospitalares; realizar investigação epidemiológica de casos e surtos, sempre que indicado, e implantar medidas imediatas de controle entre vários outros recursos que ajudariam a prevenir e controlar a infecção hospitalar^(17,18).

REFERÊNCIAS

1. Oliveira AC, Andrade FS, Diaz MEP, Iquiapaza RA. Colonização por micro-organismo resistente e infecção relacionada ao cuidar em saúde. Acta Paul Enferm. 2012;25(2):18-39.
2. Abegg PT, Silva LL. Controle de infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo. Semina cienc. biol. saude. 2011;32(1):47-58.
3. Silva PD. Características bioquímicas de cepas típicas e atípicas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite mastítico e de amostras ambientais de fazendas leiteiras brasileiras. Brazilian Journal of Microbiology. 2000;31(2):103-106.
4. Carvalho MM, Nunes MRCM, Araújo TME, Monteiro CFS, Carvalho LRB. Infecções hospitalares nas Unidades de Terapia Intensiva em um hospital público. Revista Interdisciplinar NOVAFAP. 2011;4(4):42-48.

5. Ferrari NBM. Detecção fenotípica e genotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina - MRSA / Phenotypic and genotypic detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*- MRSA. 2005;93(1):3-10.
6. Trabulsi LR, et al. Microbiologia. Livraria Atheneu. 1991.
7. Jay JM. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Artmed; 2005.
8. Meirelles EK, Fernando AJC. Desinfecção e Esterilização. Acta ortop bras. 1994;2(4):1-3.
9. Andrade D, Leopoldo VC, Hass VJ. Ocorrência de Bactérias Multiresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. Rev. bras. ter. intensiva. 2006;18(1):27-32.
10. Koneman EW. Diagnostico Microbiológico. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
11. Ministério da Saúde (BR). Portaria Nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Diário Oficial da União. 1998.
12. Carvalho KS. Contaminação de superfícies em enfermarias de pacientes com infecções por *Staphylococcus aureus* no hospital de clínicas da universidade federal de Uberlândia, Uberlândia-MG. Dissertação. Universidade Federal de Uberlândia. 2005.
13. Eliana LB, et al. Nosocomial outbreak of *Pantoea agglomerans* in a pediatric urgent care center. Braz J Infect Dis. 2007;11(2):1-10.
14. Gardner S., Shulman S.T. A nosocomial common source outbreak caused by *Pseudomonas pickettii*. Pediatric Infect Dis. 1984;3:420-2.
15. Veronica M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente em unidade de cuidados intensivos: desafios que procedem? Acta Paul Enferm 2007;20(1):7-11.

16. Scott G. Prevention and control of infections in intensive care. *Intensive Care Med.* 2000; 26 Suppl 1: S22-5. Review.
17. Hélio S, et al. Sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório de pacientes com infecções respiratórias adquiridas na comunidade: resultados brasileiros do Programa SENTRY de Vigilância de Resistência a Antimicrobianos dos anos de 1997 e 1998. *J Pneumol.* 2000;27(1):25-34.
18. Cunha BA, Shea KW. Emergence of antimicrobial resistance in community-acquired pulmonary pathogens. *Semin Respir Infect.* 1998;13: 43-53.
19. Cristina FT. *Estafilococos coagulase-negativa – um risco real para a saúde pública.* Pgvs/incqs fiocruz. 2009; 5-13.