



Identificação e perfil de sensibilidade de bactérias em garrotes de uso hospitalar

José Dionísio de Paula Júnior^{1,*}; Jaciane Coelho Gonçalves¹; Adelson Luíz Araujo Tinoco²; Rodrigo Oliveira Coelho¹; Geisiane Rodrigue Peron¹

¹Fundação Presidente Antônio Carlos –FUPAC

²Universidade Federal de Viçosa – UFV.

RESUMO

Este estudo teve como principais objetivos constatar a presença de bactérias em garrotes hospitalares e identificar o perfil de sensibilidade delas aos antimicrobianos mais conhecidos e utilizados. O cenário da pesquisa foi três hospitais do município de Ubá-MG e posteriormente, o Laboratório de Microbiologia da Faculdade Presidente Antônio Carlos. Foi coletado um garrote em cada setor hospitalar, somando um total de 15 garrotes. Em análise macroscópica, observou a presença de sangue em 26,66%. De todos os garrotes analisados, houve crescimento bacteriano apenas do gênero *Staphylococcus*, predominando a espécie *Staphylococcus aureus* em 57,14% sobre a de *Staphylococcus* Coagulase Negativo 43,86%. Sendo assim, os garrotes podem servir como veículo de disseminação para contaminação hospitalar, principalmente na forma de transmissão de microrganismos multirresistentes.

Palavras-chave: Infecção hospitalar. Resistência. Sensibilidade.

INTRODUÇÃO

A infecção é um dos problemas enfrentados por diversas instituições hospitalares, pode ser definido como infecção hospitalar ou infecção nosocomial, que é a adquirida depois da admissão do paciente em ambiente hospitalar ou após a sua alta (Weyland et al., 2011).

Embora as causas de infecção hospitalar estejam relacionadas com a susceptibilidade do paciente, com os métodos diagnósticos e terapêuticos utilizados, a principal causa ainda são as condições de assepsia e higiene do ambiente hospitalar (SBI, 2001). De uma maneira geral, a limpeza é realizada para a remoção de sujidade, com a finalidade primordial de impedir a disseminação de microrganismos que colonizam as superfícies (Andrade, 2000). Cabe informar, no entanto, que o índice de infecção hospitalar varia significativamente, pois está diretamente

relacionado com o nível de atendimento e complexidade de cada unidade hospitalar (Giunta & Lacerda, 2006).

O mecanismo de disseminação de microrganismos em ambiente hospitalar pode ocorrer por transmissão de contato, transmissão aérea, transmissão por vetor, transmissão por veículo comum e matérias no geral (Costa et al., 2006).

Os hospitais são importantes reservatórios para uma variedade de patógenos e diferentes microrganismos como: bactérias, fungos e vírus. (Leopoldo, 2006). O grupo de patógenos, no entanto, que se destaca é o de bactérias, que constituem a flora humana e normalmente não trazem risco à saúde do homem, devido sua baixa virulência, mas podem causar infecção em indivíduos com estado clínico comprometido, denominadas assim de bactérias oportunistas (Sasaki et al., 2011). A identificação, controle da microbiota hospitalar é fundamental para a redução da morbidade, mortalidade de pacientes e minimizar os custos hospitalares. Além disso, é primordial a conscientização dos profissionais da saúde, a respeito do papel que desempenham na cadeia epidemiológica de transmissão dessas infecções em que é considerado um problema de saúde pública mundial (Silva et al., 2006).

Entre os microrganismos associados à etiologia dessas infecções, os principais patógenos são os *Staphylococcus Coagulase Negativo* (SCN) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* e bastonetes Gram-negativos entéricos (Spicer, 2000).

O SCN é um grupo de espécie colonizante da pele, sendo frequentemente disseminado durante procedimentos invasivos ou transportado pela equipe de saúde. Nas últimas décadas o SNC tornou-se um importante agente de infecção hospitalar. Normalmente, a via de entrada desse microrganismo são os catéteres e materiais de uso hospitalar (Michelim et al., 2005). Dependendo do tipo de instrumento e do local de inserção, podem ocorrer diversos tipos de doenças. Essa situação é agravada pela seleção de cepas multirresistentes endêmicas do ambiente hospitalar (Hellbacher et al., 2006).

Um importante patógeno, o *S. aureus*, é responsável por mais de 30% dos casos de infecções hospitalares. Ele acomete desde leves patologias à doenças sistêmicas potencialmente fatais (Murray, 2004). O principal reservatório de *S. aureus* é o homem, sendo comum a infecção cruzada, ocorrendo por vias aéreas ou contato

direto com pessoas e objetos inanimados (Mudin et al., 2003). Sua resistência aos antimicrobianos é um grave problema mundial, foco de várias pesquisas, o que se torna uma preocupante causa de infecção hospitalar (Souza & Figueiredo, 2008).

O problema da resistência microbiana é um desafio que persiste ao longo dos anos, o uso indiscriminado de antimicrobianos, sem acompanhamento de um profissional especializado, promove a seleção de cepas bacterianas resistentes, e conseqüentemente, a resistência desses microrganismos (Souza & Figueiredo, 2008).

Deste modo, esta pesquisa tem como objetivo constatar a presença de bactérias em garrotes hospitalares e identificar o perfil de sensibilidade dessas bactérias aos antimicrobianos mais conhecidos e utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo analítico com delineamento transversal. A pesquisa ocorreu no período de 01/04/2008 a 30/09/2008. Os cenários da pesquisa foram três hospitais do município de Ubá, Minas Gerais, Brasil e posteriormente o laboratório de microbiologia da Faculdade Presidente Antônio Carlos de Ubá - (FUPAC).

O trabalho obedeceu a todos os critérios de pesquisa com seres humanos, de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FUPAC.

Antes de coletar as amostras, foram esclarecidos às instituições, os objetivos do estudo, a garantia do caráter confidencial da pesquisa, bem como o compromisso de divulgação dos resultados do trabalho. A coleta dos dados sucedeu-se em dias que os funcionários não conheciam, a fim de prevalecer maior fidedignidade da amostra.

Foi coletado um garrote por setor hospitalar, somando um total de 15 garrotes. Os setores foram: Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Unidade de Terapia Intensiva, Centro Cirúrgico, Ambulatório de Pronto Atendimento de Urgência. Após coletados, os garrotes foram embalados em sacos ésteres separadamente e acondicionado em caixas térmicas. As amostras foram encaminhadas para Laboratório de Microbiologia da FUPAC, com tempo estimado de até duas horas. A coleta e o processamento do material foram realizados de acordo com as recomendações do Centers for Disease Control and Prevention (Verani et al., 2010).

O método de inclusão foram os garrotes exclusivamente de látex, de propriedade das instituições e já utilizados pelos funcionários por no mínimo em um momento. Por outro lado, o método de exclusão foram os garrotes de uso pessoal de algum membro da equipe de saúde.

Análise laboratorial

Na fase Microbiológica, os garrotes passaram por inspeção macroscópica para avaliar seu estado geral e presença de resíduos sanguinolentos.

Para a seleção das amostras bacterianas, utilizou-se a técnica de *swabs*, estéreis umedecidos em solução salina 0,9% estéril em todo o corpo do garrote. Os resíduos dos

swabs foram semeados em meios de cultivo não seletivo (ágar sangue de carneiro 5%), para apresentar a situação microbiológica dos garrotes; todas as placas foram incubadas a 35°C por 24h em estufa bacteriológica.

As colônias foram classificadas, macroscopicamente, quanto à coloração e hemólise e isoladas novamente em meio ágar nutriente e incubadas a 35°C por 24h em estufa bacteriológica. Após o período de incubação, foi realizada a coloração de Gram. Nas amostras que revelaram pelo Gram a presença de colônia de cocos gram positivos; foram feitas prova de atividade de catalase e coagulase e fermentação de manitol (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) para identificação em espécie bacteriana.

Provas bioquímicas específicas como coagulase e catalase foram utilizadas para a caracterização do grupo bacteriano. Para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos, o método utilizado foi por disco-difusão (Kirby-Bauer) seguindo o protocolo Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.

O teste da catalase consistiu em colocar uma amostra de bactéria do garrote em contato com o peróxido de hidrogênio 3%, e posteriormente foi observada a formação de bolhas de oxigênio.

A prova da coagulase foi através da mistura em tubo de ensaio, contendo a colônia do isolamento em ágar nutriente em 0,5 mL. Após homogeneização, a mistura foi incubada a 35°C. A formação de coágulos às 2h, às 6h ou às 24h de incubação foi interpretada como prova positiva. O teste de manitol consistiu na retirada de colônias isoladas do meio nutriente, onde a fermentação é constatada com a virada do meio para amarelo. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação foi considerada como prova negativa.

O reprocessamento das amostras para avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo teste de difusão em ágar, conforme as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006). A suspensão foi preparada em solução salina utilizando três a cinco colônias com morfologia similar, obtendo-se a turbidez correspondente a 0,5 na escala de Mc Farland. A partir desta suspensão, foi realizada a semeadura com *swab* na superfície do meio de cultura. Os antibióticos utilizados no teste foram: Cefalexina 30 Mcg, Ciprofloxacino 5 Mcg, Gentamicina 10 Mcg, Oxacilina 1 Mcg, Penicilina G 10 U, Sulfametazol + Trimetropin 25 Mcg e Tetraciclina 30 Mcg e Cefoxitina 30 Mcg, Cloranfenicol 10 Mcg, Ampicilina 10 Mcg. As placas foram incubadas por 24 horas a 35°C e após este período realizou-se a interpretação dos diâmetros dos halos de inibição segundo CLSI. Para a sorogrupagem das amostras bacterianas, foi utilizado o kit comercial para identificação microbiana (Color Slide® Saph Kit).

RESULTADOS

Foi analisado o total de 15 garrotes. Na análise macroscópica observou a presença de sangue em quatro (26,66%) dos garrotes e ausência em 11 (73,34%). Todos apresentaram crescimento microbiano. Foram isoladas 21 cepas identificadas como *Staphylococcus aureus*, e *Staphylococcus Coagulase Negativo* (SCN) representado na (tabela 1).

Tabela 1 : Frequência de colonização por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* Coagulase Negativo (SCN) dos garrotes hospitalares

	N° de amostras	Porcentagem (%)
S. aureus	12	57,14
SCN	9	42,86
Total	21	100

O perfil de sensibilidade das 12 cepas isoladas de *S. aureus* frente aos grupos de antibióticos utilizados como Beta-lactâmicos (Penicilina, Ampicilina, Oxacilina, Cefalexina, Cefoxitina), Aminoglicosídeos (Gentamicina), Quinolonas (Ciprofloxacina), Sulfonamidas (Sulfametazol + Trimetopim), Cloranfenicol e a Tetraciclina, observada no (gráfico 1).

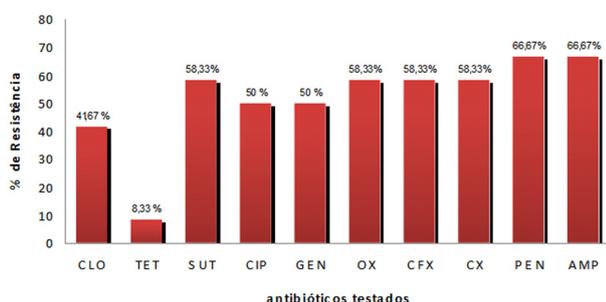


Gráfico 1: Resistência de *Staphylococcus aureus* aos agentes antimicrobianos testados

CLO – Cloranfenicol; TET – Tetraciclina; SUT – Sulfametazol + Trimetopim; CIP – Ciprofloxacina; GEN – Gentamicina; OX – Oxacilina; CX – Cefoxitina; CFX Cefalexina; PEN – Penicilina; AMP – Ampicilina.

O perfil de sensibilidade dos nove isolados de *Staphylococcus* Coagulase Negativo (SCN) frente aos grupos de antibióticos utilizados, (gráfico 2).

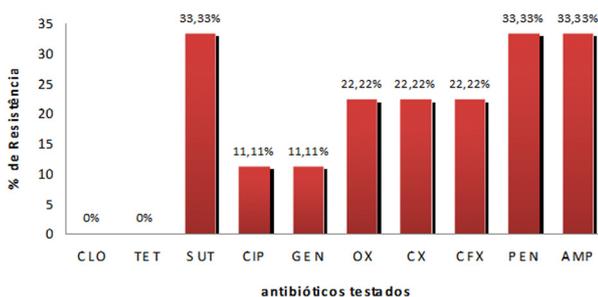


Gráfico 2: Resistência de *Staphylococcus* Coagulase Negativo (SCN) aos agentes antimicrobianos testados

CLO – Cloranfenicol; TET – Tetraciclina; SUT – Sulfametazol + Trimetopim; CIP – Ciprofloxacina; GEN – Gentamicina; OX – Oxacilina; CX – Cefoxitina; CFX Cefalexina; PEN – Penicilina; AMP – Ampicilina.

DISCUSSÃO

Dos garrotes analisados, apresentou crescimento bacteriano apenas do gênero *Staphylococcus*, predominando a espécie *S. aureus* sobre a de SCN. A ocorrência

exclusiva do gênero desta bactéria se deve ao fato desses microrganismos pertencerem a microbiota da pele e ao fato dos garrotes serem utilizados indiscriminadamente entre consecutivos pacientes, independente de seu estado infeccioso (Hellbacher et al., 2006). Em estudo de Rourke et al. (2001), que foram avaliados 200 garrotes microbiologicamente e macroscopicamente durante um período de duas semanas, também apresentou o predomínio do gênero *Staphylococcus* com percentual mais elevado, quando comparado com a presente pesquisa.

Os dois gráficos apresentam uma relação entre as bactérias do gênero *Staphylococcus*, com suas respectivas porcentagens de resistência aos antimicrobianos, potencialmente úteis contra estes microrganismos (CLSI, 2006). O gráfico 1 apresenta um alto percentual de *S. aureus* resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos, destacando um elevado percentual de *S. aureus* resistentes a Oxacilina. Nota-se também que para os antibióticos das classes das quinolonas, os isolados resistentes apresentaram significância para a pesquisa. Já para os antibióticos Cloranfenicol e Tetraciclina apresentaram maior sensibilidade para as amostras bacterianas. Em pesquisa de Leite et al., (2009), realizado em 1900 amostras de pacientes usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), sobre a frequência de bactérias e sua sensibilidade a antibióticos, apresentou diferente relação antimicrobiana, onde a gentamicina, foi a que mais se destacou, inibindo crescimento de 86,4% dos microrganismos submetidos ao TSA. Em seguida, a Cefalotina apresentou ação contra 57,8% dos bastonetes testados, e a Ampicilina, inibiu apenas 32% da bactérias testadas.

Foi constatado no gráfico 2, um percentual significativo para os antibióticos beta-lactâmicos, destacando também uma considerável porcentagem de cepas resistentes a oxacilina denominado MRSCN (*Staphylococcus* Coagulase Negativo Oxacilina Resistentes). Em relatório de pesquisa do Programa de Vigilância Antimicrobiana realizado entre um período de 10 anos (1997-2006), revelou um aumento da resistência à maioria dos antibióticos por toda a América Latina, o percentual de MRSA de vancomicina $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ diminuiu de 96,6% em 1999-2001 para 92,3% em 2002-2006. Apresentando tendências de resistência bacteriana no período investigado (Picao et. al 2008).

O alto perfil de resistência aos antibióticos Beta-lactâmicos, tanto para *S. aureus* e SCN, constatado nos dois gráficos, deve-se ao fato dessa classe de antibióticos ser de primeira escolha no tratamento de infecções estafilocócicas (Castanheira & Ribeiro, 2005). Provavelmente, isso ocorre pelo uso intensivo e contínuo dessas drogas aos enfermos, exercendo, conseqüentemente, a seleção bacteriana (Castanheira & Ribeiro, 2005). Goodman & Gilman (2003), descrevem que as infecções constituem fatores de risco para o agravamento das enfermidades e, à medida que a resistência bacteriana aos antibióticos aumenta, diminui a possibilidade de tratamento, adequado às infecções, o que contribui para ineficiência da ação dos antimicrobianos.

A prevalência de microrganismos encontrados, que estão descritos na tabela 1 e o perfil de sensibilidade demonstrado nos gráficos 1 e 2, são semelhantes à pesquisa de Oliveira & Silva (2000), que analisaram o nível de contaminação em 98 estetoscópios utilizados em quatro

hospitais com diferentes características. Foram isoladas 96 amostras bacterianas sendo 19/96 (19,8%) *Staphylococcus aureus*, 72/96 (75,0%) *Staphylococcus* coagulase negativo e 05/96 (5,2%) de outras espécies, em alguns casos houve a associação entre as duas bactérias, em única amostra coletada, e das amostras de *S. aureus* isoladas houve a determinação de 05/19 (26,3%) de linhagens resistentes a oxacilina MRSA.

Neste caso, infecções causadas por MRSA destacam-se por sua frequência de patogenicidade e elevada toxicidade para a saúde do paciente, conseqüentemente, promovendo elevados custos para as instituições de saúde durante a prestação do cuidado (Menegotto & Picoli, 2007).

Com um percentual considerável de substância sanguinolenta observada macroscopicamente nos garrotes, torna-se preocupante para o risco de contaminação durante o manuseio deste material. Em investigação de Rourke et al. (2001), em que 37,5% dos garrotes apresentaram substância sanguinolenta, o mesmo estudo apresentou dados que evidenciam a falta de desinfecção dos garrotes, onde apenas 3% dos profissionais empregavam um garrote específico para pacientes com doenças potencialmente transmissíveis.

A pesquisa mostrou que houve crescimento bacteriano do gênero *Staphylococcus* e os garrotes podem servir como veículo de disseminação para contaminação hospitalar, principalmente na forma de transmissão de microrganismos multirresistente. O estudo alerta ainda sobre a necessidade de um controle eficaz na utilização de antimicrobianos no ambiente hospitalar, para minimizar a ocorrência de resistência bacteriana.

ABSTRACT

Identification and sensitivity profile of bacteria on tourniquets used in hospitals

The aim of this study was to investigate the presence of bacteria on rubber tourniquets in hospitals and determine their sensitivity profile to the best-known, routinely used antimicrobials. The material was collected from three hospitals in the city of Ubá (MG, Brazil) and analyzed at the Microbiology Laboratory of President Antônio Carlos Faculty in Ubá. We collected one tourniquet from each hospital unit, giving a total of 15. Macroscopic inspection showed the presence of blood on 4 specimens (26,66%). Every tourniquet gave rise to bacterial growth of only one genus, *Staphylococcus*. The species *S. aureus* (57,14%) predominated over coagulase-negative staphylococci (43,86%). Consequently, the tourniquets may serve as a vehicle for the spreading of infection in the hospital, especially the transmission of multidrug-resistant microorganisms.

Keywords: Cross-infection. Resistance. Sensitivity.

REFERÊNCIAS

Andrade D, Angerami ELS, Padovani CR. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. Rev Saúde Pública. 2000;34(2):163-9.

Castanheira R, Ribeiro I. Tratamento e prevenção das infecções e da colonização por *Staphylococcus aureus*. Rev Port Pneumol IX. 2005;32(5):395-409.

Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI approved standard M100-S16. Wayne, PA: CLSI; 2006.

Costa SB, Pelli A, Carvalho GP, Oliveira AG, Silva PR, Teixeira MM, Martins E, Terra SAP, Teixeira MM, Resende ME, et al. Formigas como vetores mecânicos de microrganismos no Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;40(6):2-9.

Giunta APN, Lacerda RA. Inspeção dos Programas de Controle de Infecção Hospitalar dos serviços de saúde pela Vigilância Sanitária: diagnóstico de situação. Rev Esc Enferm USP. 2006;40(1): 64-70.

Goodman LS, Gilman A. As Bases farmacológicas da terapêutica. 10 ed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill, 2003. 1647 p.

Hellbacher C, Törnquist E, Söderquist B. *Staphylococcus lugdunensis*: clinical spectrum, antibiotic susceptibility and genotypic patterns of 39 isolates. Clin Microbiol Infect. 2006;12(1):43-9.

Leite BA, Lima ARV, Barros HCS Barros, Leite RB, Araújo IC, Tadeo IVN, Tadeo LAM. Frequência de bactérias gram-negativas em uroculturas de pacientes ambulatoriais, do sistema único de saúde (SUS) de Maceió (AL), e sua sensibilidade a antibióticos. Rev Bras Anal Clin. 2009;41(1):15-20.

Leopoldo VC, Andrade D, Hass VJ. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um centro de terapia intensiva de hospital brasileiro de emergências. Rev Bras Ter Intensiva. 2006;18(1):4-12.

Sociedade Brasileira de Infectologia – SBI. Prevenção da Infecção Hospitalar: Projeto Diretrizes. São Paulo: Associação Médica Brasileira; Conselho Federal de Medicina; 2001.

Menegotto FR, Picoli SU. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospitais. RBAC. 2007;39(2):147-50.

Michelim L, Lahude M, Araujo PR, Giovana DSH, Muller G, Delamare APL, Olavo S, Costa P, Echeverrigaray S. Pathogenic factors and antimicrobial resistance of *Saphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive care units. Braz J Microbiol. 2005;36(1):17-23.

Mudin GJ, Dezena RA, Oliveira ACS, Silva PR, Cardoso M, Pereira GA, Moraes AC, Terra APS. Avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* nos leitos do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à posição no colchão antes e após a limpeza. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(6):685-8.

- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Staphylococcus e microrganismos correlatos In: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiologia médica. 4 ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2004. p. 188-201.
- Oliveira AC, Silva RS. Isolamento de amostras multirresistentes de staphylococcus aureus em estetoscópios usados no ambiente hospitalar. Rev Bras Anal Clin; 2000;32(4):285-8.
- Picao R, Sader H, Jones R *et al.* Analysis of resistance and vancomycin “reverse creep” in Latin American *Staphylococcus aureus*: ten-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2006). Clin Microbiol Infect. 2008;14(1):173.
- Rourke C, Bates C, Read RC. Poor hospital infection control practice in venepuncture and use of tourniquets. J Hosp Infect. 2001;49(1):59-61.
- Sasaki VDM, Romanzini AE, Jesus APM, Carvalho E, Gomes JJ, Damiano VB. Vigilância de Infecção de sítio cirúrgico no pós-alta hospitalar de cirurgia cardíaca reconstrutora. Texto Contexto Enferm, Florianópolis, 2011 Abr-Jun; 20(2): 328-32.
- Silva RC, Valiente SCR, Borges TF, Lima VAB, Reis C. Avaliação do Potencial de Jalecos como fonte de veículo da transmissão de microrganismos na clínica cirúrgica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. In: 6. Congresso Pan Americano de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar; 2006; 10. Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar; 2006; Porto Alegre: AB Eventos; 2006.
- Spicer JW. Bacteriologia, micologia e parasitologia clínica: um texto ilustrado em cores. Tradução de Marta Guimarães Cavalcanti. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000;1(85):18-101.
- Souza LBG, Figueiredo BB. Prevalência de infecções nosocomiais provocadas por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (M.R.S.A) no Hospital Universitário Regional de Maringá. RBAC. 2008;40(1):31-4.
- Weyland B, Perazzi BA, García SC, Rodríguez C, Vay C, Famiglietti A. Etiología bacteriana de la neumonía nosocomial y resistencia a los antimicrobianos en pacientes con y sin tratamiento antimicrobiano previo. Rev Argent Microbiol. 2011;43(1):18-23.
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised Guidelines from CDC, 2010. MMWR Recomm Rep. 2010;59(10): 1-36.

Recebido em 08 de junho de 2012

Aceito para publicação em 13 de agosto de 2012

