



Influência de fluídos biológicos na sobrevivência de *Staphylococcus aureus* sobre diferentes superfícies secas

Rossi, D.¹; Devienne, K.F.²; Raddi, M.S.G.^{1*}

¹Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil.

Recebido 18/07/2008 - Aceito 23/09/2008

RESUMO

Sabe-se que a transmissão de infecções hospitalares, via cruzada ou ambiental, é facilitada pela sobrevivência de microrganismos em superfícies secas que pode ser favorecida pela presença de fluídos biológicos. Visando demonstrar o cuidado com substâncias corporais na rotina de limpeza, esse estudo avaliou a influência de alguns fluídos biológicos (sangue, urina e saliva artificial) na sobrevivência de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), depositados de modo similar, sobre diferentes superfícies após secagem. O sangue foi capaz de preservar a viabilidade bacteriana por até 72 dias quando depositado sobre piso cerâmico. O tecido em fibra de algodão permitiu maior tempo de sobrevivência em comparação ao tecido sintético. Esses resultados demonstram que a composição do fluído biológico e o tipo de suporte altera o tempo da sobrevivência bacteriana em condições ambientais.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*; fluídos biológicos; sobrevivência bacteriana

INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares continuam sendo um sério problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, causando aumentos significativos na morbidade, mortalidade e custos hospitalares (Boyce, 2001). Entre os principais patógenos relacionados à etiologia dessas infecções destaca-se *S. aureus* (Moraes et al., 2000).

A importância do ambiente como reservatório de microrganismos foi levantada na última década sendo considerado participante secundário na transmissão de infecções hospitalares (Shiomori et al., 2002; Cozad & Jones, 2003). Surto de infecção hospitalar foi relacionado à contaminação ambiental (Rampling et al., 2001), evidenciando a importância de procedimentos básicos de descontaminação na prevenção da disseminação de doenças.

Alguns estudos demonstram que a transmissão de infecções, via cruzada ou ambiental, é facilitada pela sobrevivência de microrganismos em superfícies secas, mesmo não sendo capazes de formar esporos (Boulange-

Petermann et al., 2004; Donskey, 2004). Uma estratégia de sobrevivência adotada por bactérias quando exposta a um estresse é manter-se no estado viável, mas não cultivável, conservando a virulência (Mizunoe et al., 2000).

O tempo de sobrevivência bacteriana em superfícies secas pode ser aumentado na presença de fluídos biológicos como sangue, escarro e urina, pois a matéria orgânica favorece a adesão bacteriana sobre superfícies inanimadas (Hirai, 1991). Além da reconhecida resistência de alguns microrganismos à dessecação, as diferentes superfícies onde são depositados também podem influenciar na preservação da viabilidade (Huang et al., 2006).

A literatura relata uma relação direta entre o tempo de sobrevivência e grau de contaminação, visto que algumas células bacterianas podem manter-se viáveis em decorrência de outras servirem de nutriente (Neely & Maley, 2000).

Visando demonstrar as precauções com substâncias corporais na rotina de limpeza, esse estudo buscou avaliar a influência de alguns líquidos biológicos na sobrevivência de *S. aureus*, sobre diferentes superfícies após secagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultura de *S. aureus* (ATCC 25923) em caldo tripticaseína soja (TSB, Difco, Detroit, MI, USA), em fase exponencial, foi centrifugada por 10 minutos a 800 g. O sedimento foi lavado e ressuspenso em água destilada estéril para obtenção de suspensão bacteriana correspondente ao padrão 1,0 da escala de McFarland (3,0 x 10⁸ unidades formadoras de colônias/mL). Sangue de carneiro, urina humana e saliva artificial (Salivan, Apsen Farmacêutica, São Paulo, Brasil) foram adicionados à suspensão bacteriana volume a volume.

Três tipos de suportes com área de 1,5 cm² foram utilizados: piso cerâmico (LEF Cerâmica modelo 3020, PEI 4, qualidade A, espessura 7,7 mm), fragmentos de tecido em fibra de algodão e em fibras sintéticas. Os suportes foram lavados, esterilizados, contaminados com 20 µL dos inóculos e armazenados em placas de Petri fechadas, as quais foram mantidas à temperatura ambiente. A viabilidade bacteriana foi determinada através da imersão dos corpos de prova em tubos contendo TSB, agitados vigorosamente e incubados a 37°C por até três dias. Os testes foram realizados em triplicata, 24 horas após a contaminação dos suportes e diariamente até ausência do crescimento bacteriano nos

*Autor correspondente: Maria Stella Gonçalves Raddi - Departamento de Análises Clínicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista, UNESP - Expedicionários do Brasil, 1621 - CEP: 14.801-902 - Araraquara - SP, Brasil - Telefone: (16) 3301-6557 - Fax: (16) 3301-6559 - e-mail: raddims@fcf.unesp.br

três corpos de prova simultaneamente. Em relação ao número de corpos de prova inoculados no dia zero, foram utilizados aproximadamente 300 corpos para cada material e líquido biológico prevendo o desenvolvimento desse estudo por um período de três meses. Os experimentos foram acompanhados da suspensão bacteriana, na ausência dos fluidos biológicos, utilizando-se água.

RESULTADOS

A sobrevivência de *S. aureus* variou de acordo com o fluido biológico e suporte utilizado. Todos os suportes permitiram adesão bacteriana, confirmada nas culturas de 24 horas após a contaminação. O sangue foi capaz de preservar a viabilidade de *S. aureus* por 60 a 70 dias, dependendo do suporte carreador. A viabilidade bacteriana na presença dos diferentes fluidos e suportes é apresentada na Figura 1.

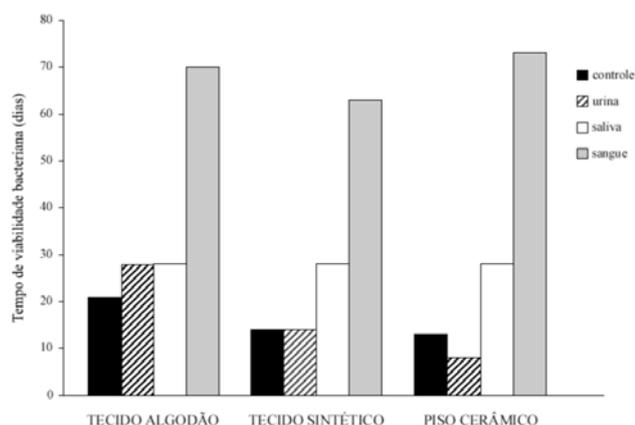


Figura 1. Sobrevivência de *Staphylococcus aureus* sobre diferentes suportes na presença de fluidos biológicos.

DISCUSSÃO

A capacidade de adaptação do microorganismo ao estresse ambiental é um importante fator para a sua sobrevivência e disseminação no meio ambiente (Lehner et al., 2005). A água é fundamental para sobrevivência bacteriana e a sua remoção induz eventos celulares irreversíveis, como desnaturação protéica, ruptura da membrana e perda de compostos citoplasmáticos, que podem ser letais (Potts, 2001; Oldenhof et al., 2005). Os presentes resultados demonstraram que, em condições secas, a viabilidade bacteriana foi mantida por até 14 dias na ausência de material orgânico, sendo esse período prolongado na presença de saliva artificial e sangue, evidenciando o efeito protetor de algumas substâncias para células bacterianas.

A literatura relata que sobrevivência bacteriana é aumentada na presença de açúcar, sangue e soro, provavelmente pelo fato da solução hipertônica reter moléculas de água, permitindo maior tempo para as células

ajustarem seu metabolismo às novas condições (Jaward et al., 1996). Sangue e urina têm em sua composição uma mistura de substâncias, sendo a concentração de proteínas totais, em média, de 70 mg/mL e 0,12 mg/mL, respectivamente (Oliveira Lima, 1977). A saliva artificial é composta por mistura de sais minerais presentes na saliva humana e carboximetilcelulose sódica (carmelose sódica), com cerca de 3 mg de solutos totais por mL. A comparação da composição desses fluidos sugere que solutos moleculares possuam maior capacidade de preservar a célula bacteriana em relação aos iônicos.

Alguns autores relacionam a dificuldade do controle de infecções hospitalares em decorrência da maior sobrevivência de bactérias no sangue quando comparada a líquidos inerte (Smith et al., 1996). Bactérias, ao persistirem no ambiente hospitalar, apresentam maior sobrevivência por tornarem-se mais adaptadas (Wagenvoort et al., 2000).

Apesar de roupa suja ser identificada como fonte de microorganismos patogênicos, o risco de transmissão de doenças para os pacientes é negligenciado (Konkewicz, 2008). Todavia, na cadeia epidemiológica das infecções hospitalares a vestimenta deve ser considerada, pois os diferentes tipos de tecidos também podem influenciar na adesão e preservação da viabilidade bacteriana. A hidrofobicidade do tecido composto por fibras sintéticas pode explicar a menor sobrevivência bacteriana quando comparado ao tecido de fibras de algodão. As fibras de poliéster são capazes de reter apenas 2-5% de água (Vasconcelos, 2005), o que poderia justificar maior dificuldade de adaptação da bactéria sobre esse suporte.

O processo de lavagem mecânica de roupas hospitalares está associado ao uso de água quente e detergente, essenciais para remover a contaminação bacteriana. A fibra de algodão (cru ou tipo cretone) é empregada na confecção de roupas de paciente (camisola, pijama), bem como para lençóis e fronhas, por serem mais resistentes a danificação, apesar da fibra de poliéster absorver menos fluido corporal. As características dos tecidos utilizados na confecção de roupas hospitalares são padronizadas pela ABNT (EB 918/77 para algodão tipo cretone ou perfeitamente similar, NT 01465 para algodão cru liso e NT 01082 para algodão cru trançado).

Apesar do piso não ter implicação direta na transmissão da maioria das infecções hospitalares, procedimentos de desinfecção dos mesmos demonstram ter impacto no controle de surtos hospitalares (Dessel et al., 2002). A capacidade do piso cerâmico em conservar a viabilidade de *S. aureus*, mesmo na ausência de material orgânico, foi demonstrada. Pisos, cerâmicos ou não, não devem possuir índice de absorção de água superior a 4%, conforme RDC nº 50, de 21 de fevereiro de 2002, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistências de saúde (Brasil, 1998).

Patógenos causadores de infecções hospitalares

podem sobreviver em superfícies por meses e têm a capacidade de serem fonte contínua de contaminação, caso a desinfecção não seja alcançada (Kramer et al., 2006). Apesar da dificuldade em se avaliar as implicações epidemiológicas da sobrevivência de *S. aureus* sobre diferentes superfícies através de testes laboratoriais, os presentes resultados mostraram que a matéria orgânica, principalmente sangue, aumenta a sobrevivência bacteriana mesmo após dessecação. A compreensão dos mecanismos de sobrevivência e resistência à dessecação poderá auxiliar na prevenção e controle das infecções hospitalares relacionadas com o meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica/CNPq/UNESP (DR)

ABSTRACT

Influence of biological fluids on survival of Staphylococcus aureus on various dried surfaces

It is known that the transmission of hospital infections, whether environmental or cross infection, is facilitated by the enhanced survival of microorganisms on dry surfaces that is caused by the presence of biological fluids. To demonstrate the need for care with bodily substances in the routine of cleaning, this study evaluated the influence of some body fluids (blood, urine and artificial saliva), deposited in the same way on various surfaces and allowed to dry, on the survival of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Blood was able to preserve bacterial viability for up to 72 days when deposited on ceramic flooring. Fabric of cotton fiber allowed longer survival than synthetic fabric. These results show that the composition of biological fluid and type of support influence bacterial survival in normal conditions.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; biological fluids; bacterial survival

REFERÊNCIAS

- Boulangue-Petermann L, Robine E, Ritoux S, Cromieres B. Kinetics of bacterial survival on polymer coatings with particular reference to indoor air quality. *Biofouling* 2004; 20:203-10.
- Boyce JM. MARSA patients: proven methods to treat colonization and infection. *J Hosp Infec* 2001; 48(Suppl A):S9-S14.
- Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 2.616 de 12 de maio de 1998. Programa de Controle de Infecção Hospitalar. Disponível em URL: http://www.anvisa.gov.br/legis/portaria/2616_98.html [11 set 2005]
- Cozad A, Jones RD. Disinfection and prevention of infectious disease. *Am J Infect Control* 2003; 31:243-54.
- Dessel HV, Kamp-Hopmans TEM, Fluit AC, Brisse S, de Smet AMGA, Dijkshoorn L, Troelstra A, Verhoef J, Mascini EM. Outbreak of a susceptible strain of *Acinetobacter* species 13 (*sensu* Tjernberg and Ursing) in an adult neurosurgical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2002; 51:89-95.
- Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004; 39:219-26.
- Hirai Y. Survival of bacteria under dry conditions; from a viewpoint of nosocomial infection. *J Hosp Infect* 1991; 19:191-200.
- Huang R, Mehta S, Price CS. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* survival on hospital fomites. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:1267-8.
- Jaward A, Heritage J, Snelling AM, Gascoyne-Binzi DM, Hawkey PM. Influence of relative humidity and suspending menstrual on survival of *Acinetobacter* spp on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2881-7.
- Konkewicz LR. Prevenção e controle de infecções relacionado ao processamento das roupas hospitalares [Online]. Disponível em URL: <http://www.cepis.org.pe/bvsacd/cd49/lavanderiahospitalar.pdf>. [08 jul 2008].
- Kramer A, Schwebke I, Kamp G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis* 2006; 6:130.
- Lehner A, Riedel K, Eberl L, Breeuwer P, Diep B, Stephan R. Biofilm formation, extracellular polysaccharide production, and cell-to-cell signaling in various *Enterobacter sakazakii* strains: aspects promoting environmental persistence. *J Food Prot* 2005; 68:2287-94.
- Mizunoe Y, Wai SN, Yshikawa T, Takade A, Yoshida S. Resuscitation of viable but nonculturable cells of *Vibrio parahaemolyticus* induced at low temperature under starvation. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 186:115-20.
- Moraes BA De, Cravo CAM, Loureiro MM, Solari CA, Asensi MD. Epidemiological analysis of bacteria strains involved in hospital infection in a university hospital from Brazil. *Rev Inst Med Tropical São Paulo* 2000; 42:201-7.
- Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol* 2000; 38:724-6.

- Oldenhof H, Wolkers WF, Fonseca F, Passot S, Marin M. Effect of sucrose and maltodextrin on the physical properties and survival of air-dried *Lactobacillus bulgaricus*: an in situ fourier transform infrared spectroscopy study. *Biotechnol Prog* 2005; 21:885-92.
- Oliveira Lima A. *Métodos de laboratório aplicados à clínica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1977. 669p.
- Potts M. Desiccation tolerance: a simple process. *Trends Microbiol* 2001; 9:553-9.
- Rampling A, Wiseman L, Hyett AP. Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2001; 49:109-66.
- Shiomori T, Miyamoto H, Makishima K, Yoshida M, Fujiyoshi T, Udaka T, Inaba T, Hiraki N. Evaluations of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *J Hosp Infect* 2002; 50:30-5.
- Smith SM, Eng RH, Padberg FTJr. Survival of nosocomial pathogenic bacteria at ambient temperature. *J Med* 1996; 27:293-302.
- Vasconcelos AJC. *Obtenção de tecidos de poliéster de baixo peso por tratamento enzimático*. [Dissertação] Minho: Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade do Minho; 2005.
- Wagenvoort JH, Sluijsmans W, Penders RJ. Better environmental survival of outbreak vs. sporadic MRSA isolates. *J Hosp Infect* 2000; 45:231-4.