

**PESQUISA DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NÃO
FERMENTADORES PRESENTE EM TORNEIRAS DE UM HOSPITAL
PRIVADO DO MUNICÍPIO DE VOLTA REDONDA, RJ**

*Carlos Alberto Sanches Pereira¹,
Josely Alvarenga²,
Aline Luiza de Barros³,
Alexandre Oliveira da Silva⁴,*

RESUMO

Muitos micro-organismos podem sobreviver em condições muito adversas sendo necessário apenas um local úmido para sua sobrevivência e viabilidade por vários meses. Os bacilos gram negativos não fermentadores (BGNNF) têm grande afinidade com a água, por se tratar de um grupo de micro-organismos presente em várias condições ambientais. As coletas foram realizadas retirando o aerador das torneiras e introduzidos em seu interior *swab* estéril em movimentos giratórios e posteriormente inoculados em meio de transporte e com o auxílio de uma alça bacteriológica uma alíquota da amostra de cada *swab* foi coletada e esgotada em placa de Petri contendo ágar MacConkey (Himedia[®]) preparado de acordo com as instruções do fabricante e também em base ágar Nutrient (Himedia[®]) enriquecido com 10% Peptona Bacteriológica (Himedia[®]) e 5% sangue de carneiro. O *swab*, após coletada as alíquotas, foi inoculado em 2ml de caldo Brain Hearth Infusion – BHI (Himedia[®]). Os crescimentos foram observados e as colônias separadas de acordo com as características fenotípicas por tamanho, cor e formato de borda. Foi coletado um total de 53 amostras do interior de torneiras em todos os setores de uma unidade hospitalar. Deste total 18 (34%) não apresentaram crescimento bacteriano ao passo que 35 (66%) foram positivas. Proporcionalmente os setores que apresentaram o maior índice de amostras positivas foram a clínica cirúrgica com 12 (100%) seguida pela UTI 6 (66%), clínica médica 11 (61%), centro cirúrgico 2 (40%) e pelo pronto socorro 4 (9%).

Palavras-chave: BGNNF, torneiras, infecção hospitalar.

INTRODUÇÃO

A higienização hospitalar é um dos pontos mais importantes para a redução de micro-organismos causadores de infecções nosocomiais. Entretanto, uma atenção especial deve ser dada à água e os seus condutores (torneiras) que não é levado em conta em todas as

¹ Doutor em Biotecnologia industrial - USP

² Graduando Licenciatura Ciências Biológicas – UGB,

³ Biólogo, Pós Graduando Microbiologia Clínica – UGB,

⁴ Orientador Curso Ciências Biológicas – UGB,

unidades existentes em uma unidade hospitalar. Os conceitos de higiene surgem com a introdução dos aspectos de microbiologia trazidos por Pasteur que derrubam as idéias de evolução espontânea e trazem à luz da ciência o conhecimento da transmissão de algumas doenças infecto-contagiosas – A Era Bacteriológica (RABELLO *et al.*, 2001).

As infecções hospitalares são complicações relacionadas à assistência à saúde e se constituem na principal causa de morbidade e mortalidade hospitalar, gerando prejuízos aos usuários, à comunidade e ao Estado (OLIVEIRA & MARUYAMA, 2008). Um dos grandes problemas encontrados no controle das infecções hospitalares são os veículos de propagação de micro-organismos, sendo alguns deles insetos, profissionais da saúde, visitantes, sistemas de condicionamento de ar, equipamentos, bancadas, alimentação entre outros (LEITE, 2010).

Os profissionais da saúde contribuem com a infecção do paciente devido à falta de higienização correta das mãos e a manipulação inadequada dos procedimentos. Pois como ele tem contato direto com os pacientes podem transportar organismos patogênicos de paciente a paciente, sem contar o fato de estarem se auto-contaminando, outras pessoas que contribuem indiretamente são os visitantes por adentrarem ao ambiente hospitalar trazendo micro-organismos do ambiente externo, e ao sair levar os mesmos do hospital para suas casas, trabalhos entre outros (CASSETTARI, 2006).

De acordo com Moreira (2002), a maioria das instituições hospitalares podem apresentar ocorrência de micro-organismos como *Bacillus* spp., *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Proteus mirabilis*, *Providencia* spp., fungos e *Shigella sonnei* que podem ser encontrados em bancadas, superfícies, poros, rejuntas e fissuras.

Muitos micro-organismos podem sobreviver em condições muito adversas sendo necessário apenas um local úmido para sua sobrevivência e viabilidade por vários meses. Os Bacilos Gram Negativos Não Fermentadores (BGNNF) têm grande afinidade com a água, por se tratar de um grupo de micro-organismos presente em várias condições ambientais. Quando encontrados em ambientes hospitalares podem ser considerados patógenos em potencial, em função da sua capacidade em se multiplicar, higiene precária e condutas terapêuticas inadequadas (uso indiscriminado de antimicrobianos de amplo espectro), o que contribui para aumentar o estado de morbidade dos pacientes imunodeprimidos colocando suas vidas em risco (LARANJEIRA *et al.*, 2010; SOARES, 2005).

Os bacilos gram negativos não fermentadores são assim denominados devido ao fato de não utilizarem a glicose na via fermentativa. São também algumas das bactérias mais difíceis de serem identificadas laboratorialmente, pois apresentam resultados negativos em muitos dos testes convencionais. Dentre os principais micro-organismos de importância clínica, destacam-se *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Achromobacter* spp., *Inquilinus* spp., *Burkholderia* spp., *Stenotrophomonas* spp. (PAIXÃO, 2010).

Os BGNNF por não usarem a via fermentativa da glicose geralmente usam a via Entner-Doudoroff para obter ATP através da glicose, oxidando-a. As bactérias que realizam esse processo obtêm menos energia sob a forma de ATP do que as bactérias que realizam a via de Embden-Meyerhof; por outro lado, essas bactérias obtêm outra forma de coenzima reduzida NADPH. Esta é a coenzima utilizada preferencialmente em vias anabólicas, fornecendo elétrons e íons de hidrogênio para os processos de biossíntese celular (ANVISA, 2004; VERMELHO *et al.*, 2008).

As torneiras de um modo geral apresentam um ambiente em seu “corpo” que pode ser favorável a proliferação de BGNNF entre outras bactérias. Desta forma, a limpeza periódica dessas torneiras, poderia estar minimizando a população desses micro-organismos que ainda são de certa forma desconhecidos pelos profissionais de saúde. Em função da capacidade de sobrevivência dos BGNNF é possível que vários procedimentos médicos possam estar contaminados com algumas células e que em pacientes com imunodepressão esta condição poderá ser fatal. O presente trabalho visa à pesquisa de bacilos gram negativos não fermentadores em todas as torneiras de uma unidade hospitalar privada do município de Volta Redonda, o isolamento desses micro-organismos bem como identificação.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das amostras foi feita entre os dias 16 de maio de 2011 e 13 de junho de 2011 nas torneiras dos vários setores do Hospital Maternidade São Camilo, na cidade de Volta Redonda – RJ, entre eles a Unidade de Terapia Intensiva, Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Pronto Socorro e Centro Cirúrgico. As coletas foram realizadas retirando o aerador das torneiras e introduzidas em seu interior *swab* estéril em movimentos giratórios e posteriormente inoculados em meio de transporte de Aimes e encaminhados ao laboratório de

microbiologia do Centro Biológico do Centro Universitário Geraldo Di Biase, onde as amostras foram processadas.

Com o auxílio de uma alça bacteriológica uma alíquota da amostra de cada *swab* foi coletada e esgotada em placa de Petri contendo ágar MacConkey (Himedia[®]) preparado de acordo com as instruções do fabricante e também em base ágar Nutrient (Himedia[®]) enriquecido com 10% Peptona Bacteriológica (Himedia[®]) e 5% sangue de carneiro. O *swab*, após coletada as alíquotas, foi inoculado em 2ml de caldo Brain Hearth Infusion – BHI (Himedia[®]), para controle da recuperação dos micro-organismos, já que em meio líquido os nutrientes estão mais disponíveis. As placas de Petri e os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a temperatura de 35±2°C por 48 horas.

Decorrido o período de incubação, as placas e tubos foram observados para confirmação de crescimento. Nas placas que não houve crescimento os tubos foram analisados para confirmação ou descarte de crescimento de micro-organismos. Quando houve crescimento em caldo, este foi semeado por esgotamento com auxílio de alça bacteriológica em placas de Petri com meios ágar MacConkey (Himedia[®]) e ágar Nutrient (Himedia[®]) enriquecido com 10% Peptona Bacteriológica (Himedia[®]) e 5% sangue de carneiro e quando não houve crescimento no caldo a amostra foi considerada negativa.

Os crescimentos foram observados e as colônias separadas de acordo com as características fenotípicas por tamanho, cor e formato de borda. As colônias fenotipicamente diferentes foram coletadas com alça e inoculadas em 2ml de caldo Brain Hearth Infusion – BHI (Himedia[®]) e o repique feito por três vezes. Após o terceiro repique uma alíquota do crescimento foi novamente semeada por esgotamento em placas contendo ágar MacConkey (Himedia[®]) e ágar Brain Herth Infusion – BHI (Himedia[®]) e incubadas em estufa bacteriológica a temperatura de 35±2°C por 48 horas.

Ao término deste período as placas com os micro-organismos isolados foram submetidos à coloração de Gram para observação das características morfo-tintoriais e aos testes da catalase e oxidase. Um novo repique em 2ml de caldo Brain Hearth Infusion – BHI (Himedia[®]) foi feito por três vezes e 1ml deste crescimento foi inoculado em criotudos contendo 1ml de caldo Brain Hearth Infusion – BHI (Himedia[®]) glicerinado a 20% e congelados em freezer a temperatura de -40°C.

Após todas as amostras terem sido processadas e congeladas iniciou-se a etapa de identificação dos isolados. Para isso as amostras foram descongeladas e uma alíquota foi inoculada em tubos contendo 2ml de caldo Brain Heart Infusion – BHI (Himedia[®]) e o repique feito por três vezes. As amostras de micro-organismos gram negativos foram semeadas por esgotamento com alça em placas de Petri contendo ágar MacConkey (Himedia[®]) e as amostras de gram positivos foram semeadas em ágar Brain Heart Infusion – BHI (Himedia[®]) e incubados em estufa bacteriológica a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

As amostras de micro-organismos gram negativos com resultado positivo para o teste da oxidase foram inoculadas em Painel NF III (Probac[®]) de acordo com as instruções do fabricante e as amostras negativas para o teste da oxidase foram inoculadas em Painel para Enterobactérias (Probac[®]) e também em Painel NF III (Probac[®]), que foi usado como contraprova. As amostras de micro-organismos gram positivos foram todas positivas para o teste da catalase e a identificação foi feita com Sistema API[®] Staph (bioMérieux[®]).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi coletado um total de 53 amostras do interior de torneiras em todos os setores de uma unidade hospitalar. Deste total 18 (34%) não apresentaram crescimento bacteriano ao passo que 35 (66%) foram positivas. Proporcionalmente os setores que apresentaram o maior índice de amostras positivas foram a clínica cirúrgica com 12 (100%) seguida pela UTI 6 (66%), clínica médica 11 (61%), centro cirúrgico 2 (40%) e pelo pronto socorro 4 (9%). Esses achados evidenciam que a UTI vem sendo um dos setores mais prevalentes em isolados bacterianos conforme mencionado por Schulster, (2004).

Em concordância com os resultados obtidos por NETO *et al*, (2010), um quantitativo considerável de enteropatógenos foram isolados do interior de torneiras da unidade hospitalar, sendo que *Rauoltella ornithinolytica* e o Grupo Entérico 137 foram os achados mais prevalentes, ambos em número de 2 (4%), seguindo-se da *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *Proteus mirabilis* com um achado de cada espécie, (3%), tabela 1.

Os resultados das pesquisas de Sexton *et al*, (2006), Hayden *et al*, (2008) e Oliveira e Damasceno (2010) corroboram com os resultados encontrados na presente pesquisa, uma vez que foi encontrada uma prevalência de bacilos gram negativo não fermentadores no interior

de torneiras de ambiente nosocomial. No presente estudo o BGNNF mais prevalente foi a *Chryseomonas luteola* 9 (22%) acompanhados de *Roseomonas* Genomovar 5 com sete isolados (16%), *Stenotrophomonas maltophilia* 4 (9%), *Burkholderia* spp. 3 (8%), *Burkholderia cepacia* 2 (4%), *Pseudomonas aeruginosa* 1 (3%) e *Chryseobacterium indologenes* 1 (3%) bem como de quatro isolados (10%) de *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp. 4 (10%), tabela 1.

Na presente pesquisa o ambiente hospitalar destacou-se como potencial reservatório de bacilos gram negativos não fermentadores com prevalência de *Chryseomonas luteola* e *Roseomonas* Genomovar 5. A grande frequência de contaminação na UTI é coerente com a estrutura física, elevada quantidade de equipamentos e condições dos pacientes em cuidados intensivos, que tendem a apresentar mais fatores de risco e maiores taxas de infecção. Nesse ambiente, o risco de aquisição de infecções pode ser reforçado na presença de pacientes colonizados ou se a permanência exceder uma média de 15 dias, conforme destacado pelo guideline sobre o gerenciamento de organismos multirresistentes nos estabelecimentos de saúde (SEHULSTER, 2004).

TABELA 1. Resultados quali-quantitativo de micro-organismos isolados

Micro-organismos isolado	Número de isolados	Percentual (%)
BGNNF	27	64
<i>Chryseomonas luteola</i>	9	22
<i>Roseomonas</i> Genomovar 5	7	16
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	9
<i>Burkholderia</i> spp.	3	8
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	3
Enterobactérias	7	16
Grupo Entérico 137	2	4
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	3

<i>Proteus mirabilis</i>	1	3
<i>Bacillus</i> spp.	4	10
<i>Staphylococcus</i> spp.	4	10
Total	42	100

Tal premissa reforça a idéia de que muitas vezes os profissionais, após procedimentos com pacientes, não se atêm à importância da higienização das mãos e retoma as atividades sem se dar conta da possibilidade de disseminar micro-organismos. A contaminação de locais aparentemente limpos reforça a possibilidade da disseminação de patógenos, locais esses analisados como superfícies limpas; sem aparente sujidade, fazendo com que muitas vezes sejam ignoradas medidas eficazes de limpeza. O trânsito de pessoas como equipe de saúde e visitantes, na unidade e, conseqüentemente, o contato com pacientes, objetos e superfícies diversas conferem possibilidades de disseminação de patógenos se não observadas às devidas precauções, com destaque para a higienização das mãos. Entretanto, outras vias podem contribuir na transferência de patógenos (SCOTT, 2007).

Os bacilos gram negativos não fermentadores como as espécies *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* e bacilos gram positivos como o *Clostridium difficile* tem sido relado como os micro-organismos mais prevalentes recuperados de superfícies inanimadas de ambiente nosocomial em vários países como EUA, França, Irlanda, Reino Unido, Suíça, Alemanha, Katar, México, Hawaii e Japão destacando-se torneiras e camas (SEXTON, 2006; HAYDEN, 2008). Conforme pesquisa realizada por Oliveira e Damasceno (2010) resultados semelhantes foram evidenciados destacando-se as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium defficile*, *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) e *Enterococcus* vancomicina resistente (VRE). Tendo em vista os resultados obtidos na presente pesquisa e os citados acima vem constatar que no ambiente nosocomial, superfícies como o interior de torneiras são potenciais reservatórios de proliferação e disseminação de vários micro-organismos.

CONCLUSÃO

As UTIs merecem atenção especial devido ao seu aspecto físico que favorece a disseminação de patógenos somada à presença dos pacientes em cuidados intensivos com maior risco para aquisição de infecções. A organização do espaço físico entre leitos e equipamentos, assim como a aplicação de protocolos de limpeza dessas superfícies consoante as características do setor, somados à orientação do paciente, familiares e visitantes quanto à higienização das mãos e educação permanente dos profissionais podem reduzir a disseminação ambiental e aquisição de patógenos.

Diante das observações da disseminação de patógenos no ambiente hospitalar, faz-se necessário maior conhecimento, controle das fontes, vias disseminadoras e disponibilização de recursos que viabilizem as técnicas para identificação e comparação de patógenos, mais acuradas nos laboratórios hospitalares. Cabe ressaltar, ainda, a relevância de atentar para a qualidade da limpeza ambiental, métodos de execução, produtos, grau de conhecimento dos profissionais.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica, 2004.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/microbiologia/mod_5_2004.pdf> Acesso em 23 set. 2011.

CASSETTARI, V. C. *et al.* Surto em berçário por *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido atribuído à colonização de profissional de saúde portador de onicomicose. **Jornal de Pediatria do Rio de Janeiro**, v. 82, n. 4, 2006.

HAYDEN, M. K. *et al.* Risk of hand or glove contamination after contact with vancomycin-resistant *Enterococcus* or the colonized patients' environment. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 2, n. 29, p. 149-154, 2008.

LARANJEIRA, V. S. *et al.* Pesquisa de *Acinetobacter* sp e *Pseudomonas aeruginosa* produtores de metalo-beta-lactamase em hospital de emergência de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 462-464, 2010.

LEITE, R. M. **Bactérias emergentes causadoras de infecções nosocomiais e seus fatores de resistência.** 2010. 80 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Centro Universitário Geraldo Di Biase, Volta Redonda, RJ.

MOREIRA, L. R. C. Bancadas hospitalares: superfícies e porosidade como fontes potenciais de infecção. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 3, n. 58, p. 85-89, 2002.

NETO, G. T. C. *et al.* Detecção de Enterobactérias em superfícies de uma unidade mista de saúde no município de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista de Investigação Biomédica do Uniceuma**, v. 1, n. 2, p. 77-84, 2010.

OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. **Rev Esc Enferm USP**, v. 4, n. 44, p. 1118-1123, 2010.

OLIVEIRA, R.; MARUYAMA, A. T. Controle de infecção hospitalar: histórico e papel do Estado. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 10, n. 3, p. 775-783, 2008. Disponível em <<http://www.fen.ufg.br/revista/v10/n3/v10n3a23.htm>>. Acesso em: 2 nov. 2011.

PAIXÃO, V. A. Prevalence and antimicrobial susceptibility of respiratory pathogens in patients with cystic fibrosis. **Brazil Journal Infect Diseases**, v. 14, n. 4, p. 85-90, 2010.

RABELLO, S. B. *et al.* Presença de bactérias em instrumentos e superfícies do ambiente odontológico. **Revista Brasileira de Odontologia**. V. 3, n. 58, p. 67-73, 2001.

SCOTT, P. *et al.* An Outbreak of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex Infection in the US Military Health Care System Associated with Military Operations in Iraq. **Clinical Infectious Diseases**. V. 1, n. 44, p. 1577-1584, 2007.

SEHULSTER, L. M. *et al.* Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Chicago, IL: **American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association**; 2004.

SEXTON, T. *et al.* Environmental reservoirs of methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. **J Hosp Infect**, v. 2, n. 62, p. 187-194, 2006.

SOARES, M. C. S. T. **Estudo de resistência aos antimicrobianos em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em hospitais da cidade de Niterói, RJ.** 2005. 78 f. Dissertação (Patologia). Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

VERMELHO, A. B. *et al.* **Bacteriologia Geral.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.