

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES COLETADAS DOS ESPÉCULOS UTILIZADOS EM COLETAS DE EXAMES CITOPATOLÓGICOS EM POSTOS DE SAÚDE DA REDE PÚBLICA DE UM MUNICÍPIO DE MÉDIO PORTE NO RIO GRANDE DO SUL

INDIANARA AMARAL ALVES¹
MÁRCIA ENEIDA ALVES DE OLIVEIRA²
VERIDIANA ALVES DE OLIVEIRA¹
DANIEL BEDINOTE DA ROCHA³
DIEGO ANTONIO VIANA GOMES⁴

RESUMO

Bactérias multirresistentes podem ser genericamente definidas como aquelas que não são susceptíveis aos antibióticos de primeira escolha na prática clínica. As amostras foram coletadas dos espéculos, (material utilizado na coleta de CP) de seis postos de saúde. Objetivou-se realizar testes microbiológicos culturais no espéculos dos postos de saúde de uma cidade de médio porte no interior do Rio Grande do Sul. Foram encontradas 19 cepas que apresentaram fenótipo de multirresistência. É preciso melhorar os processos de armazenamento e esterilização dos espéculos destes postos de saúde.

Palavras-chaves: Bactérias, multirresistência, espéculo e antibióticos.

ABSTRAT

Multiresistant bacteria can be broadly defined as those that are not susceptible to the antibiotics of choice in the clinical practice. Samples were collected from specula, (material used in the collection of CP) of six clinics. The objective of microbiological testing in specula cultural health station in a midsize city in Rio Grande do Sul. Were found 19 strains with multidrug resistance phenotype. We need to improve the processes of storage and sterilization of specula these clinics.

Keywords: Bacteria, multidrug resistance, speculum and antibiotics

¹ Acadêmica do Curso de Enfermagem ULBRA/Torres

² Acadêmica do Curso de Fisioterapia ULBRA Torres-RS

³ Professor - Orientador do Curso de Enfermagem ULBRA Torres (dbdarocho@yahoo.com.br)

⁴ Professor - Orientador do Curso de Biologia ULBRA/Torres

INTRODUÇÃO

Bactérias multirresistentes podem ser genericamente definidas como aquelas que não são susceptíveis aos antibióticos de primeira escolha na prática clínica (MUNÓZ, 2008). A resistência microbiana é um acometimento biológico natural (seleção natural), o uso inadequado dos antibióticos pode ser uma das principais causas deste processo (LEVY et al., 2004).

Agentes antimicrobianos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de microrganismos. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte das bactérias, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003; TORTORA et al., 2005; MADIGAN et al., 2010).

O processo de resistência bacteriana usa dos seguintes mecanismos: destruição ou inativação de enzimas, alterações na permeabilidade da membrana, alterações da parede celular e outros (RUBIO CALVO et al., 2006). O desenvolvimento de cepas resistentes a antibióticos se dá principalmente por duas formas: por mutação genética

natural e induzida, sendo o processo de seleção natural fundamental nesta criação de novas cepas. O potencial de transferência de genes de resistência de uma cepa para outra através do deslocamento de fragmentos de DNA.

Segmentos instáveis de DNA cromossômico (trânsposons) podem ser transferidos, bem como, fragmentos de DNA extra-cromossômicos (plasmídeos) levando genes de resistência de uma cepa à outra. Pode ocorrer também a transferência de fragmentos de DNA veiculados de bacteriófagos (vírus que infectam bactérias). Este tipo de transferência pode ocorrer inclusive entre bactérias de gêneros diferentes (TORTORA et al., 2005).

Os exemplos mais comuns no ambiente hospitalar de resistência são os *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina e os Gram-negativos (como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter cloacae*) resistentes aos aminoglicosídeos (ÁLVAREZ-LERMA et al., 2007). Existe assim, grande variação no padrão de susceptibilidade destes agentes e esta resistência pode se estender a múltiplos antibióticos (MUNÓZ, 2008). O que pode ser observado na tabela abaixo.

Tabela 1. Bactérias Multirresistentes e Antibiogramas

BACTÉRIA	ANTIBIOGRAMA
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> R à oxacilina
Estafilococos Resistentes a Vancomicina (VISA / VRSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> R ou I à vancomicina
Enterococos Resistentes a Vancomicina (VRE)	<i>Enterococcus faecium</i> e, menos freqüentemente, <i>E. faecalis</i> R à vancomicina
ESBL (beta-lactamases de espectro estendido)	<i>Escherichia coli</i> e <i>Klebsiella spp.</i> (e outras BGN) "ESBL"
Enterobactérias produtoras de Carbapenemase	<i>Klebsiella spp.</i> (KPC) e outras Enterobacteriaceae R à imipenem e/ou meropenem
BGN hiperprodutoras de betalactamases AmpC	<i>Citrobacter</i> ; <i>Enterobacter</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Providencia stuartii</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> ; e outras BGN produtoras de beta-lactamases AmpC plasmidial
<i>Acinetobacter</i> pan-resistente	<i>Acinetobacter spp.</i> R a imipenem/meropenem
<i>Pseudomonas</i> pan-resistente	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> R à imipenem/meropenem e a outros antibacterianos, exceto polimixinas.
Bactérias naturalmente multirresistentes	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> e <i>Burkholderia cepacia</i>

Legenda: R- resistente, I- intermediário, S- sensível e BGN- bacilos gram negativos

Os reservatórios destes agentes no ambiente hospitalar são principalmente os pacientes infectados e/ou carreadores (principalmente profissionais da área da saúde). Entretanto, pode ocorrer o reservatório ambiental através de artigos ou equipamentos contaminados por estes agentes (ANDRADE et al., 2000; KIRKLAND et al., 2012).

De maneira mais comum, a transmissão de bactérias multirresistentes se dá através de uma forma cruzada, profissionais de saúde, tanto pelo contato direto entre um paciente e outro, como pelo contato indireto devido ao manuseio de artigos ou superfícies contaminadas (ANDRADE et al., 2000). As cepas de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos não apresentam maior potencial de transmissibilidade ou virulência quando comparadas às cepas sensíveis. Entretanto, as infecções

devidas a agentes multirresistentes apresentam opção terapêutica restrita. Doenças causadas por bactérias multirresistentes podem ser encontradas em todo mundo (KÖCK et al., 2010; SCHWEICKERT et al., 2010).

Do ponto de vista da etiologia, em geral *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus* são microrganismos frequentemente associados a infecções em pacientes críticos, embora a sua ordem de prevalência varia dependendo da localização da infecção. *P. aeruginosa* e *S. aureus* causam em torno de 20% das pneumonias associadas à ventilação mecânica, seguido por *A. baumannii*, com valores em torno de 8-10% e *E. coli* (5-8%). Com relação a infecção do trato urinário domina claramente *E. coli* (25-30%). Quanto a bacteremia primária e ligada à cateter claramente predominante estafilococos coagulase negativa, dando

origem a 35-45%. O *S. epidermidis* é isolado em cerca de dois terços da bacteremia. *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. faecalis* estão localizados em torno de 5-10% (RICHARDS et al., 2000; ÁLVAREZ-LERMA et al., 2007).

O exame de citologia cervico vaginal é um exame de suma importância para prevenção de câncer de colo uterino (BRASIL, 2012). Ele é realizado nos postos de saúde como estratégia fundamental para combater tal moléstia. Consiste em introduzir suavemente um instrumento chamado de espéculo (este entra em contato com as paredes da vagina da paciente, logo deve ser esterilizado) na posição horizontal e direcionando-o no sentido do colo. Com a manipulação lenta, o espéculo pode ser virado, para possibilitar a visualização das paredes vaginais e a visualização do colo uterino para a realização da raspagem e posterior confecção da lâmina (SMELTZER et al., 2003; FREITAS et al., 2006). Os materiais de coleta utilizados para os procedimentos nas pacientes do preventivo devem ser estéreis, este fato evita uma contaminação cruzada neste exame.

Baseado na importância do processo de esterilização deste instrumento, objetivou-se realizar testes microbiológicos culturais no espéculos dos postos de saúde de uma cidade de médio porte no interior do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas dos espéculos, (material utilizado na coleta de CP) de seis postos de saúde, com o

auxílio de swabs estéreis umedecidos em H₂O peptonada e semeados em meios de cultura Brain Heart Infusion Agar (BHI Agar). Incubou-se por 24 horas à 37°C (BROWN et al., 2007). Selecionaram-se aleatoriamente 30 cepas bacterianas através de um mapa de placa (OLIVEIRA et al., 2006). As colônias foram isoladas em BHI Agar, pela técnica de esgotamento em estrias e selecionadas aquelas que cresceram em até 24h a 37°C (SEELEY et al., 1991). Para os testes de sensibilidade aos agentes antimicrobianos foi utilizado o método de difusão em placa (antibiograma) com discos impregnados com os agentes antimicrobianos Ampicilina, Tetraciclina, Amoxicilina, Clorafenicol, Clindamicina, Kanamicina, Neomicina, Estreptomicina e Polimixina B. Os antibiogramas foram realizados em diluição de 0,5 na escala de Mac Farland em duplicata semeadas em placas com 25ml de Agar Muller Hinton, incubados 18-24h. Os halos de inibição foram mensurados através de seu diâmetro inibitório (mm). Foram utilizados as cepas de controle de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Para seleção de bactérias multirresistente foi selecionada as cepas que apresentaram o fenótipo de resistência a dois ou mais agentes antimicrobianos testados (NATIONAL, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras isoladas selecionaram-se 30 cepas bacterianas dos espéculos utilizados em coleta do exame de preventivo. Sendo que 19 cepas apresentaram fenótipo de multirresistência conforme Tabela 2.

Tabela 2. Perfil de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos das Cepas Isoladas dos Espéculos.

ISOLADO	EST	NK	AMC	AP	TET	CLO	NEO	POL	CLI
C.RV.ES1	R	R	R	R	I	I	R	R	R
M.RV.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TSA.RV.ES1	R	R	R	R	R	R	I	R	R
SB.RV.ES1	R	R	R	R	I	R	R	R	R
S.SF.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SB.SF.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TSA.SF.ES1	R	R	R	R	R	R	R	S	I
C.SF.ES1	R	R	R	R	R	I	R	R	I
M.SF.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TSA.SB.ES1	S	S	I	I	S	I	R	R	R
C.VSJ.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
M.VSJ.ES1	R	R	R	R	I	R	R	R	R
SB.VSJ.ES1	I	R	R	R	I	S	S	R	I
C.C.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
M.C.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TSA.C.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C.SJ.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
M.SJ.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S.SJ.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TSA.SJ.ES1	R	R	R	R	R	R	R	R	S

LEGENDA: (EST) Estreptomicina, (NK) Kanamicina, (AMC) Amoxicilina, (AP) Ampicilina, (TET) Tetraciclina, (CLO) Clorafenicol, (NEO) Neomicina, (CLI) Clindamicina, (POL) Polimixina B. (S) Sensível (R) Resistente (I) Intermediário

Os agentes antimicrobianos que obtiveram maior resistência pelos microrganismos testados foram Amoxicilina, Ampicilina, Kanamicina, e Polimixina B. A resistência à ampicilina vem aumentando nos últimos anos em decorrência da sua larga utilização na terapêutica humana, promovendo resistência conjunta à amoxicilina (ANDRADE et al., 2002). O amplo uso de amoxicilina tem sido prescrito frequentemente, porque estes são utilizados primeiramente para tratar múltiplas infecções e tem a propriedade de possuir uma baixa toxicidade e amplo espectro. Sendo este um dos fármacos mais utilizados na atenção primária, o que favorece o processo de multirresistência (CARRIE et al., 1998; GUTIÉRREZ et al., 1998; LIROLA et al., 1997; REY et al., 2000).

Dos isolados, 11 apresentaram fenótipo de resistência a todos os agentes antimicrobianos testados. Isso demonstra que a existência de resistência a agentes antimicrobianos nos espêculos de coleta nestes postos de saúde estão muito relacionados aos mesmos encontrados em ambiente hospitalar (ÁLVAREZ-LERMA et al. 2007), apesar da pesquisa não ter identificado até o momento os microrganismos em questão. Estas bactérias que apresentaram características de multirresistentes tornam-se possíveis vetores de transferência ou armazenamento. Salientamos que a resistência bacteriana pode ser transferida por mecanismos diversos, podendo estabelecer-se entre microrganismos de uma mesma população ou de diferentes populações (NIJSTEN et al. 1993).

A pergunta de norteou o nosso trabalho (análise microbiológica do espéculo) limita uma maior discussão sobre os resultados obtidos. Pois até o momento, modelos experimentais semelhantes ainda são escassos, ou inexistentes, na literatura vigente.

CONCLUSÃO

A dimensão do problema referente a uma contaminação no espéculo do preventivo, no qual, houve o isolamento de microrganismos, evidencia um processo ineficiente de esterilização, ou ainda, uma precária forma de armazenamento que possibilitou a contaminação deste equipamento. Demonstra também que bactérias multirresistentes estão em ambientes de saúde, além do hospitalar.

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-LERMA, F et al. Evolutive report of the years 2003-2005. *Med Intensiva*, v. 31, p. 6-17, 2007.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, E. L. S.; PADOVANI, C. R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. *Rev. Saúde Pública*, v. 34, n. 2, p. 163-169, 2000.

ANDRADE, S. F. et al. Quimioterápicos, Antimicrobianos e Antibióticos. In: ANDRADE, S. F. *Manual de Terapêutica Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. p.14-58.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). *Inca Lança Estimativa 2010: Incidência de Câncer no Brasil*. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/lançamento_estimativa_2010>. Acessado em: 20 ago. 2012.

BROWN, G. S. et al. Evaluation of rayon swab surface sample collection method for Bacillus spores from nonporous surfaces. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, p. 1074-1080, 2007.

CARRIE, A.G.C.; METGE, C.J.; ZHANEL, G.G. Antibiotic use in a Canadian Province, 1995-1998. *The annals of Pharmacotherapy*, Cincinnati, v. 34, p. 459-464, 1998.

FREITAS, F. et al. *Rotinas em Ginecologia*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

GERARD, J. et al. *Case*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

GUTIÉRREZ, M.S. et al. Utilización de antiifecciosos em atención primaria em La Rioja. *Atención Primaria*, Barcelona, v. 22, n. 9, p.574-579, 1998.

KIRKLAND, K. B. et al. Impact of a hospital-wide hand hygiene initiative on healthcare-associated infections: results of an interrupted time series. *BMJ Qual Saf.*, 24 jul. 2012.

KÖCK, R. et. al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRsa): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro surveill*, out. 2010.

LEVY, S. B.; MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med.*, v. 10, p. S122-S129, 2004.

LIROLA, M. A. G. et al. La calidad de la prescripción de antibacterianos em um distrito de atención primaria. Evolución 1994-1995. *Atención Primaria*, Barcelona, v. 19, n. 9, p. 487-492, 1997.

MADIGAN, Michael T. et al. *Microbiologia de Brock*. Porto Alegre: Artmed, 2009.

MUÑOZ BELLIDO, J. L. [Problematic bacteria].

Rev Esp Quimioter, v. 21, n. 1, p. 2-6, 2008.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**: Norma Aprovada. 8. ed. [S.l.]: NCCLS, 2003.

NIJSTEN, R. et al. Antibiotic resistance of enterobacteriaceae isolated from the faecal flora of fattening pigs. **Vet. Quart.**, v.15, n.4, p.152-157, 1993.

OLIVEIRA, M. F. O. et al. Avaliação da eficácia do tratamento de esgotos de um sistema de lagoas de estabilização através da identificação da população bacteriana. **Acta Scientic Veterinaria**, v. 34, p. 31-37, 2006.

REY, C.C. et al. Patrones de prescripción de antibióticos em atención primaria. Usamos racionalmente los antibióticos em pediatría? **Atención Primaria**, Barcelona, v. 52, n. 2, p. 157-163, 2000.

RICHARDS, M. J. et al. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in

the United States. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 21, p. 510-515, 2000.

RUBIO CALVO, C.; GIL TOMÁS, J.; GÓMEZ-LUS CENTELLES, R. Significado clínico de las resistencias bacterianas. In: GÓMEZ, J.; GOBERNADO, M. (Ed.) **Enfoque clínico de los grandes síndromes infecciosos**. Madrid: Ergón, 2006; p. 27-38.

SCHWEICKERT, B. et. al. The MRsa-Import in Icus is an important predictor for the occurrence of nosocomial MRsa-cases, *clin Microbiol Infect*. 2010 oct 26

SEELEY, Harry. et al. **Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology**. 4. ed. [S.l.]: W.H. Freeman and Company, 1991.

SMELTZER, S. C.; BARE, B. G. **Brunner & Suddarth Prática de Enfermagem**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

Walsh, C. **Antibiotics: actions origins resistance**. Washington: SM Press, 2003.