Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

IDENTIFICAÇÃO DE S.AUREUS EM MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE UM HOSPITAL FILANTRÓPICO: UMA REFLEXÃO DA IMPLICAÇÃO NA SEGURANÇA AO PACIENTE.[1]

Mariana Padilha Werle[2], Eveline Dischkaln Stolz[3], [3]mônica Strapazzon,[4].

[1] Trabalho desenvolvido na disciplina de Microbiologia do Curso de Enfermagem, Departamento de Ciências da Saúde - UFSM - Campus Palmeira das Missões
[2] Mariana Padilha Werle, Acadêmica do Curso de Enfermagem, Departamento e Ciências da Saude - Universidade Federal de Santa Maria - Campus Palmeira das Missões; Bolsista do Programa de Educação Tutorial - PET Enfermagem; marianawe@hotmail.com.
[3] Professora do Curso de Enfermagem, Departamento de Ciências da Saúde - UFSM campus Palmeira das Missões; Doutora em Ciências Farmacêuticas; evestolz@yahoo.com.br
[4] Professora do Curso de Enfermagem, Departamento de Ciências da Saúde - UFSM campus Palmeira das Missões; Especialista em Terapia Intensiva, Emergência e Trauma; monica.strapazzon@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Infecção hospitalar (IH) é definida pelo Ministério da Saúde como aquela adquirida após a internação do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta quando estiver relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (BRASIL, 1998). No Brasil, cerca de 14% dos pacientes internados apresentam IH, destes aproximadamente 100 mil/ano vão a óbito (CERQUEIRA, 2014).

A maioria das IH são causadas por um desequilíbrio da relação existente entre a microbiota humana normal e os mecanismos de defesa do hospedeiro (PEREIRA et al, 2005). Entretanto, as causas podem ser variadas. Estão relacionadas à própria patologia-base do paciente, a procedimentos invasivos e a alterações da população microbiana natural; esta última geralmente induzida pelo uso de antimicrobianos.

Um modelo de transmissão multifatorial, mais complexo, tem demonstrando que as superfícies e objetos inanimados contaminados (fômites) desempenham um papel fundamental na transmissão de IH (VALE; DINIS, 2011). Os fômites contribuem diretamente com IH; e, indiretamente, atuando como vetores de microrganismos patogênicos na contaminação das mãos dos profissionais de saúde e acompanhantes dos pacientes (BOONE; GERBA, 2007).

Os alimentos fornecidos no ambiente hospitalar podem constituir vias importantes para transmissão das IH. Para tanto, é indispensável que apresentem condições higiênico-sanitárias adequadas (SILVA et al., 2015). Estas dependem do local de armazenamento, do processo de produção, bem como, dos hábitos de higiene pessoal dos manipuladores de alimento. Cabe destacar entende-se por manipulador qualquer pessoa do serviço de alimentação, que entra em contato direto ou indireto com o alimento (OMS, 1989). É responsável pelo recebimento, armazenamento, preparação e distribuição do alimento, além da higienização do ambiente e objetos utilizados no processo. A manipulação incorreta e o descuido em relação às normas higiênicas favorecem a contaminação por microrganismos patogênicos (OMS, 1989).

Neste contexto, o rigor na lavagem das mãos apresenta-se como uma etapa fundamental para a segurança alimentar dentro do hospital e interrupção da transmissão de IH (BOONE; GERBA,

2007). A lavagem ou higienização das mãos é reconhecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2007) como uma das principais práticas para redução de infecções. Esta é reconhecida como a mais efetiva na assistência à saúde, a qual impede a transmissão e disseminação de microrganismos (ANVISA, 2007). A prática não acarreta ônus para as instituições, podendo inclusive contribuir para a redução no tempo de internação e taxas de IH. A importância da lavagem das mãos no controle da transmissão de infecção é baseada na capacidade delas abrigarem microrganismos e de transferi-los de uma superfície para outra, por contato direto, pele com pele, ou indireto, através de fômites (SANTOS et al., 2009). Portanto, deve configurar-se como um hábito dos profissionais da saúde (incluindo os manipuladores de alimentos), realizado antes e depois de qualquer procedimento que possa interferir na saúde do paciente, seja ele invasivo ou não (GENZ, 1998; TIMBY, 1996).

As mãos geralmente são colonizadas por Staphylococcus spp., cocos Gram-positivos presentes encontrados também em outros sítios da microbiota humana (especialmente, pele e trato respiratório superior). Frequentemente estão associadas à IH (SANTOS, 2007). Além disto, são considerados microrganismos indicadores da contaminação microbiana de alimentos (BRASIL, 2001). São transmitidas ao paciente através do contato direto com pessoas contaminadas (acompanhantes ou profissionais de saúde), objetos ou veiculadas através de alimentos.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a presença de Staphylococcus spp. nas mãos dos manipuladores de alimentos de um hospital filantrópico do Noroeste do estado do Rio Grande do Sul (RS).

MÉTODOS

Caracterização do estudo: A presente pesquisa foi realizada com manipuladores de alimento de um hospital filantrópico de média complexidade do Noroeste do RS. O estudo foi desenvolvido como proposta de ensino da disciplina de Microbiologia, enquanto ofertada no terceiro semestre do curso de Enfermagem da Universidade Federal de Santa Maria campus Palmeira das Missões (UFSM/PM). Este integra um projeto maior, registrado no GAP sob número 043351/2015.

Obtenção e transporte das amostras: Foram coletas com auxilio de um swab passado na superfície e espaços interdigitais das mãos dos manipuladores de alimentos e, imediatamente após imerso em Caldo BHI, para transporte. Este foi realizado em caixa térmica com controle de temperatura (aproximadamente 25ºC).

Desenho experimental: Assim que as amostras chegaram no laboratório de microbiologia (UFSM/PM) iniciou-se a análise microbiológica. Primeiramente, as amostras foram semeadas em Ágar Nutriente (AN) e incubadas a 37°C por 48H. As unidades formadoras de colônias (UFC) com características macroscópicas distintas foram inoculadas em Caldo BHI para identificação de Staphylococcus spp.. Esta foi realizada a partir da técnica de Coloração Gram, testes da Catalase e da Coagulase, semeadura em Ágar Manitol (AM) (ANVISA, 2004, 2008). De maneira complementar, também foi investigado a sensibilidade das colônias identificadas como S. aureus frente aos antimicrobianos utilizados para seu tratamento no hospital em questão. A Figura 1 representa um esquema deste delineamento.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

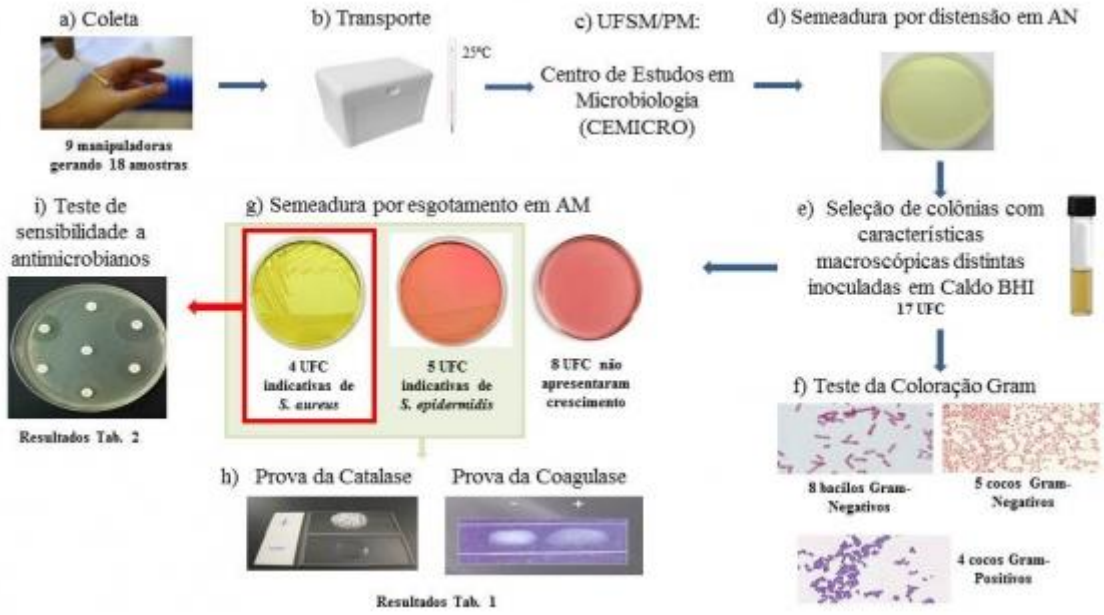

Figura 1. Delineamento experimental e representação esquemática dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas amostras das mãos de nove (9) manipuladoras de alimento de um hospital filantrópico. Após cultura em meio Ágar Nutriente, dezessete (17) colônias com características macroscópicas distintas foram selecionadas para identificar a presença de Staphylococcus spp. (Fig. 1E). Destas, a técnica de coloração Gram (Fig. 1F) revelou que oito (8) são bacilos Gram-negativos, cinco (5) são cocos Gram-negativos e quatro (4) são cocos Gram-positivos. Os últimos apresentam característica compatível com Staphylococcus spp., apresentando arranjos em forma de cachos (estafilococos) (SANTOS, 2009). O teste de Coloração de Gram permite identificar o arranjo morfológico e classificar as colônias em positivas (apresentam coloração roxa), ou negativas (coloração rosa). Bacilos Gram-negativos, como Escherichia coli, Salmonella e Shigella são causadores de IH e podem estar presentes em alimentos e objetos manipulados por esses profissionais; são considerados microrganismos indicadores de processos de higiene e sanitização e, devem ser investigados em estudos posteriores.

Paralelamente, as 17 colônias também foram semeadas em Ágar Manitol (Fig. 1G). Este meio apresenta 7,5% de NaCl, responsável por inibir o crescimento de bastonetes Gram-negativos e outros microrganismos (SIMÕES et al., 2013); o que de fato ocorreu, visto que oito (8) UFC identificadas como bastonetes Gram-negativos (na Coloração Gram) não cresceram.

Este meio de cultura é específico para o crescimento de bactérias que fermentam manitol. A degradação do manitol com a produção de ácido altera a coloração do meio (promovendo virada da coloração pelo indicador vermelho de fenol), de rosado para amarelo (ANDRADE, 2012). Nesse meio, Staphylococcus fermentadores de manitol produzem colônias grandes rodeadas por uma zona amarela, indicando a presença de S. aureus; normalmente os não patogênicos produzem colônias brancas pequenas rodeadas por uma zona vermelha, indicativo de S. epidermidis e outros

microrganismos como Bacillus subtillis. Entretanto, é válido ressaltar que outras espécies de Staphylococcus também podem produzir ácido a partir do manitol, sendo necessário complementar a identificação com o teste da Coagulase (ANVISA, 2008). Em nosso experimento nove (9) placas apresentaram crescimento microbiano, destas cinco (5) são indicativas de S. epidermidis e quatro (4) de S. aureus.

Todas as colônias que cresceram no Ágar Manitol foram submetidas às provas enzimáticas. A catalase é responsável por neutralizar o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio; esta enzima está presente em Staphylococcus spp. e é inexistente em Streptococcus spp.. A coagulase é responsável por coagular o plasma sanguíneo e é determinante para caracterizar a patogenicidade de S. aureus em relação às demais espécies de Staphylococcus (ANVISA, 2004). A Tabela 1 apresenta os resultados para a presença destas enzimas. Entre as UFC analisadas, quatro (4) apresentaram as características de S. aureus, ou seja, são catalase e coagulase positivas; as outras cinco (5) foram somente catalase positiva, o que é uma característica de S. epidermidis e outras espécies de Staphylococcus. Entretanto, no futuro, é imprescindível realizar testes complementares (DNAse, uréase, PYR, motilidade e sensibilidade a novobiocina, polimixina, bacitracina e Furazolina) para confirmar a identificação das cepas de S. aureus.

Tabela 1. Resultado do teste de Catalase e da Coagulase realizado com as colônias com características indicativas de Staphylococcus.

Tabela 1. Resultado do teste de Catalase e da Coagulase realizado com as colônias com características indicativas de *Staphylococcus*.

Teste/UFC	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Coagulase	-	-	-	+	-	+	-	+	+

Os resultados dos testes foram classificados em positivos (+) e negativos.

As colônias identificadas como S. aureus foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos vancomicina, oxaciclina e clindamicina. Estes foram escolhidos por apresentarem-se como as primeiras escolhas para tratar infecções causadas por S. aureus no hospital estudado. A Tabela 2 apresenta o efeito dos antimicrobianos sobre o crescimento das quatro colônias identificadas. Destas, duas (2) apresentaram resistência a oxaciclina e todas apresentaram sensibilidade à vancomicina e a clindamicina.

Tabela 2. Alos de inibição (registrados em mm) demostrando o efeito dos antimicrobianos sobre as colônias de S. aureus isoladas das mãos de manipuladores de alimento de um hospital filantrópico.

Tabela 2. Alos de inibição (registrados em mm) demostrando o efeito dos antimicrobianos sobre as colônias de *S. aureus* isoladas das mãos de manipuladores de alimento de um hospital filantrópico.

Antimicrobianos/UFC	1	2	3	4
Oxacilina	0 mm	8 mm	0 mm	3 mm
Vancomicina	5 mm	12 mm	10 mm	3 mm
Clindamicina	8 mm	20 mm	6 mm	8 mm

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

A oxacilina (meticilina) é uma penicilina penicilinase-resistente, que atua inibindo a biossíntese da parede celular (BRUNTON et al., 2007). As primeiras cepas resistentes foram descritas em 1961 em hospitais e passaram a ser chamadas de MARSA (methicilin-resistant S. aureus) (BARBER, 1961). O principal mecanismo de resistência esta relacionado à alteração das proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs – que atuam na síntese da parede bacteriana), codificadas do gene mecA (BRUNTON et al., 2007). Ainda no século XX estas cepas representavam cerca de 30 a 40% dos isolados em hospitais (MORGAN et al., 1993; SPIANDORELLO et al., 2000). Dados um pouco mais recentes (após 1980) tem demostrado que MARSA tem se disseminado fora do ambiente hospitalar, na comunidade (ATIQUE et al., 2012, GELATTI et al., 2009). Os dados levantados no presente estudo estão de acordo com o apresentado na literatura.

Frequentemente microrganismos MARSA apresentam resistência a outras classes de antimicrobianos, como clindamicina, eritromicina e tetraciclina. Isto ocorre, pois a alteração no gene mec esta relacionada ao gene ccr – responsável pela mobilidade desta informação genética entre outros microrganismos, bem como a transferência de outros genes de resistência (ANVISA, 2008). As colônias MARSA identificadas nesse estudo não apresentaram resistência combinada a vancomicina (inibidor da biossíntese da parede celular, altera a permeabilidade da membrana citoplasmática e a síntese do RNA) e clindamicina (inibidor da síntese da parede bacteriana). Entretanto, isso não torna a colonização menos preocupante, quando se pensa em controle de IH.

Esmanhoto e colaboradores (2013) relatam que cepas de S. aureus são as mais prevalentes em pacientes que evoluem para septicemia. Nesses casos o risco de morte foi 50% maior nos pacientes com cepas (de qualquer microrganismo) resistentes, sendo quatro vezes maior para cepas MARSA. A mesma pesquisa aponta que 100% dos pacientes com endocardite, acometidos por MARSA, evoluíram para a letalidade (ESMANHOTO et al., 2013).

Outro estudo sobre microrganismos resistentes causadores de pneumonia destaca o S. aureus como um dos agentes mais comuns em infecções pulmonares; afeta 80% das amostras. Esta predisposição parece estar associada à resistência aos antimicrobianos e culmina prolongando o tempo de hospitalização, aumentando os custos da hospitalização e a necessidade de cuidados prestados ao paciente (SELIGMAN et al., 2013).

Com base neste contexto, nossos resultados permitem reafirmar que a problemática das IHs enfrentada no dia a dia pelos profissionais (especialmente, prevenção, tratamento e controle) apresentam um grande desafio para as instituições e autoridades governamentais, por estarem entre as principais causas de morbidade e letalidade, como muito bem discutido por Batista et al. (2012).

Por fim, cabe destacar que este cenário implica diretamente na segurança do paciente hospitalizado. A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve que os eventos adversos, como má higiene das mãos e IHs, são reconhecidos como falhas na segurança do paciente. Estima que entre 5% a 17% desses eventos ocorrem na eventualidade, mas que 60% poderiam ser prevenidos, estabelecendo a qualidade do cuidado. Assim, a segurança do paciente deveria ser vista como um conjunto de ações preventivas, que visam à redução dos riscos e danos ao paciente (WHO, 2012). Isso só será alcançado mediante o trabalho conjunto de uma equipe multidisciplinar. Esta deve desenvolver ações para proporcionar qualificação e preparo das equipes, e assim garantir uma assistência integral e segura ao paciente. Com isso, futuros estudos devem ser conduzidos para aferir o ponto de vista prático e teórico, o grau de capacitação/conhecimento da equipe multidisciplinar inserido em um contexto de educação continuada.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

CONCLUSÃO

Os dados levantados no presente estudo indicam que as mãos dos manipuladores de alimento do hospital investigado apresentam colonização por S. aureus. A resistência a oxalicina é o achado que mais chama atenção, em virtude das consequências e riscos que podem desencadear. Ações educativas e medidas de conscientização precisam ser propostas na instituição, visando à segurança do paciente.

Palavras-chave: Higiene das mãos; Resistência microbiana; MARSA;

Referências bibliográficas

ANDRADE, H. Catalase e Coagulase. 10 de junho de 2012 Disponível em < http://blogdafarmaceutica.blogspot.com.br/2012/06/catalase-e-coagulase.html > Acesso em 5 de julho de 2016.

ANVISA. Detecção e identificação de bactérias de importância médica: módulo5. 2004. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf>. Acesso em 5 de julho de 2016.

ANVISA. MC boas práticas: Módulo 4, Gram-positivos. 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/intr_sta.htm>. Acesso em 5 de julho de 2016.

ANVISA. Segurança do paciente: higienização das mãos. Brasília (DF); 2007. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/paciente_hig_maos.pdf . Acesso em 5 de julho de 2016.

ATIQUE, T.S.C; LIMA, T.A.M; SOUZA, V.A.; PACHECO, P.F.C.; FURINI, A.A. Sensibilidade à meticilina/oxacilina de Staphylococcus aureus isolados da mucosa nasal de alunos do Centro Universitário de Rio Preto. Rev Bras Farm. 93(3): 347-352, 2012.

BARBER M. Methicilin-resistant staphylococci. J Clin Pathol. 14:385-93, 1961.

BATISTA, O. M. A; MOURA, M. E. B; NUNES, B. M. V. T; SILVA, A. O; NERY, I. S. Representações sociais de enfermeiras sobre a infecção hospitalar: implicações para o cuidar intervencionista. Ver Enferm UERJ, Rio de Janeiro, 20(4):500-6, 2012.

BOONE, S.A.; GERBA C.P. Significance of fomites in the spread of respiratory and enteric viral disease. Appl Environ Microbiol 2007;73 (6):1687-96.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria n° 2616 de 13 de maio de 1998. Regulamenta as ações de controle de infecção hospitalar no país. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 15 maio 1998. Seção I.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2007. 1821 p.

CERQUEIRA, K.; Infecção hospitalar mata 100 mil pessoas em média no Brasil por ano. Tribuna, Bahia, 12 de maio de 2014. Disponível em: <http://www.tribunadabahia.com.br/2014/05/12/infeccao-hospitalar-mata-100-mil-pessoas-em-media-no-brasil-por-ano >. Acesso em 5 de julho de 2016.

ESMANHOTO, Cibele Grothe et al . Microrganismos isolados de pacientes em hemodiálise por cateter venoso central e evolução clínica relacionada. Acta paul. enferm., São Paulo , v. 26, n. 5,

p.413-420, 2013. Availabl from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-21002013000500003&lng=en&nrm=iso>.accesson 06 July 2016. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-21002013000500003.

GELATTI, L.C.; BECKER, A.P.; BONAMIGO, R.R.; D'AZEVEDO, P.A. Staphylococcus aureus resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. An Bras Dermatol. 84(5):501-6, 2009.

MORGAN, M.; SALMON, R.; EVANS-WILLIAMS, D.; HOSEIN, I.; LOOKE, D.N. Resistance to methicillin in isolates of Staphylococcus aureus from blood and cerebrospinal fluid in Wales, 1993-1997.

Organização Mundial De Saúde ‐ O M S. Métodos de vigilância sanitária y gestión para manipuladores de alimento. Informe de uma reunión de consulta de la OMS. Genebra, 1989.

PEREIRA, M. S.; SOUZA, A. C. S.; TIPPLE, A. F. V.; PRADOM. A.. A infecção hospitalar e suas implicações para o cuidar da enfermagem. Texto Contexto Enferm. 14(2):250-7, 2005.

SANTOS, A. A. M. Higienização das mãos no controle das infecções em serviços de saúde. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/higienizacao_mao.pdf > Acessado em 5 de julho de 2014

SANTOS, F. M.; GONÇALVES, V. M. S.; Lavagem das mãos no controle da infecção hospitalar: um estudo sobre a execução da técnica. Revista Enfermagem Integrada patinga: Unileste - MG – V.2-N.1- Jul./Ago. 2009

SELIGMAN, R.; RAMOS-LIMA, L. F.; OLIVEIRA, V. A.; SANVICENTE, C.; SARTORI, J.; PACHECO, E. F. Fatores de risco para multirresistência bacteriana em pneumonias adquiridas no hospital não associadas à ventilação mecânica. J Bras Pneumol. 2013;39(3):339-348

SILVA, A. A.; BASSINI, L.; RIELLA, C. O.; ANTUNES, M.T. Manipulação de alimentos em uma cozinha hospitalar: ênfase na segurança dos alimentos. Caderno pedagógico, Lajeado, v. 12, n. 1, p. 111-123, 2015. ISSN 1983-0882

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A.; TEIXEIRA, K. M.; JÚNIOR, A. S. R.; FREITAS, I. M. ; Identificação Laboratorial de Staphylococcus aureus em Leite Bovino. Embrapa Tabuleiros Costeiros; Aracaju, SE; 2013

SMITH, T.L.; PEARSON, M.L.; WILCOX, K.R.; CRUZ, C et al. Emergence of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. Glycopeptide-Intermediate Staphylococcus aureus Working Group. N Engl J Med; 340:493-501, 1999.

SPIANDORELLO, W. P.; MORSH, F.; SEBBEN, S.; RELLO, F. S. A. S.;A resistência do Staphylococcus aureus à oxacilina em hospital de Caxias do Sul. Revista AMRIGS, Porto Alegre, 44 (3,4): 120-125, jul.-dez. 2000.

VALE, B.; DINIS, A.; O papel das fômites na transmissão de doenças infeciosas. SAÚDE INFANTIL 2011 // 33 (1): 23-27 abril.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 10 facts on patient safety. Genebra (SW): WHO; 2012.