

Prevalência de bastonetes Gram-negativos isolados da saliva de trabalhadores da saúde

Prevalence of Gram-negative bacilli isolated from saliva of health workers

Prevalencia de las bacterias Gram-negativas aisladas en la saliva de los trabajadores de la salud

Marinézia Aparecida Prado-Palos^I, Elucir Gir^{II}, Ana Beatriz Mori Lima^{III},
Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão^{IV}, Fabiana Cristina Pimenta^V

RESUMO

O estudo objetivou determinar a prevalência de bastonetes Gram-negativos (BGN) isolados da saliva de trabalhadores de saúde de um hospital universitário em Goiânia-Goiás e caracterizar o perfil dos colonizados. De agosto/2005 a julho/2006, participaram do estudo 278 trabalhadores de saúde responsáveis pelos cuidados assistenciais aos clientes atendidos na instituição. A taxa de portadores foi de 69,4%, destes 44% foram considerados portadores persistentes e 49,2% multicolonizados. Foram isolados 319 BGN, sendo 208 (65,2%) enterobactérias e 111 (34,8%) não-fermentadores. As principais espécies identificadas foram: *Enterobacter aerogenes* (17,9%), *Klebsiella pneumoniae* (16,3%), *Enterobacter agglomerans* (8,8%). No grupo dos BGN não-fermentadores, foram isoladas 25 (7,8%) *Pseudomonas aeruginosa*. Elevada prevalência de trabalhadores colonizados por BGN foi observada. Os resultados obtidos neste estudo são de grande relevância, pois BGN assumem fundamental importância na etiologia e patogênese de infecções relacionadas à assistência à saúde de pacientes críticos, submetidos a procedimentos invasivos e com permanência prolongada no ambiente nosocomial.

Descritores: Bactérias; Pessoal de Saúde; Saliva.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of Gram-negative (GNB) isolated from the saliva of health workers in a school hospital in Goiânia-Goiás, and to characterize the profile of the colonized individuals. From August/2005 to July/2006, 278 health care workers participated of the study. The GNB carrier rate was 69.4%, being 44% of them persistent carriers, and 49.2% multicolonized carriers. 319 BGN were isolated, of which 208 (65.2%) were *Enterobacteriaceae* and 111 (34.8%) non-fermenters. The main species identified were *Enterobacter aerogenes* (17.9%), *Klebsiella pneumoniae* (16.3%), and *Enterobacter agglomerans* (8.8%). In the group of non-fermenting GNB were isolated 25 (7.8%) *Pseudomonas aeruginosa*. High prevalence of colonization by GNB was observed. The results of this study are of great importance because BGN are important in the etiology and pathogenesis of infections associated with health care of critically ill patients, undergoing invasive procedures and prolonged stay in the nosocomial environment.

Descriptors: Bacteria; Health Personnel; Saliva.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de bacterias Gram-negativas (BGN) aislado de la saliva de trabajadores de salud en un hospital universitario en Goiânia-Goiás y caracterizar el perfil de los colonizados. Participaron del estudio realizado entre Agosto/2005 a Julio/2006, 278 profesionales 278 responsables por asistencia sanitaria a los clientes. La tasa de portadores fue 69,4%, siendo de estos 44% persistente y 49,2% multicolónias. 319 BGN fueron aislados, 208 (65,2%) enterobacterias y 111 (34,8%) no fermentadores. Principales especies identificadas fueron *Enterobacter aerogenes* (17,9%), *Klebsiella pneumoniae* (16,3%), *Enterobacter agglomerans* (8,8%). En el grupo de los no fermentadores fueron aisladas 25 (7,8%) *Pseudomonas aeruginosa*. Alta prevalencia de colonización por los trabajadores GNB se observó. Los resultados de este estudio son de gran pertinencia, porque BGN son de fundamental importancia en la etiología y patogénesis de las infecciones relacionadas con el cuidado de salud de los pacientes enfermos, sometidos a procedimientos invasivos y estancia prolongada en ambiente hospitalario.

Descriptores: Bactérias; Personal de Salud; Saliva.

^I Enfermeira, Doutora em Enfermagem, Professor Adjunto, Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás (UFG). Goiânia, GO, Brasil. E-mail: marinesiaprado@gmail.com.

^{II} Enfermeira, Doutora em Enfermagem. Professora Titular, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP. E-mail: egir@eerp.usp.br.

^{III} Farmacêutica, Mestre em Medicina Tropical. Discente do Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde, nível Doutorado, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: anabeatrizmori@yahoo.com.br.

^{IV} Biomédica, Mestre em Medicina Tropical. Discente do Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde, nível Doutorado, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: larastefania@yahoo.com.br.

^V Farmacêutica Bioquímica, Doutora em Ciências (Microbiologia). Professor Adjunto II, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: gzy7@cdc.gov.

INTRODUÇÃO

A permanência no hospital e o contato com os clientes, associados à falta de adesão as medidas de precaução padrão, fazem com que os trabalhadores de saúde fiquem vulneráveis à colonização por micro-organismos patogênicos como estafilococos, enterococos e bastonetes Gram-negativos. Tal fato contribui para a ocorrência de contaminação cruzada, visto que estes trabalhadores atuam como reservatório e potenciais disseminadores de micro-organismos para o ambiente, para os clientes e para a comunidade hospitalar⁽¹⁻³⁾.

A colonização dos diferentes sítios anatômicos é um processo dinâmico e que sofre a influência de diversos fatores como dieta, estado fisiológico, condição de saúde, hábitos de higiene, contato com disseminadores, hospitalização, entre outros. Os micro-organismos colonizantes se estabelecem logo após o nascimento e são constituídos por uma variedade de agentes incluindo bactérias saprófitas e patogênicas, as quais são adquiridas, eliminadas e readquiridas ao longo da vida⁽⁴⁻⁶⁾.

Os trabalhadores de saúde colonizados por bactérias patogênicas, na maioria dos casos, são assintomáticos, o que facilita a disseminação destes agentes para indivíduos suscetíveis. Além disso, a condição de portador também é prejudicial à própria saúde do trabalhador, pois diante de um desequilíbrio dos mecanismos de defesa a microbiota endógena pode causar infecção⁽⁴⁻⁶⁾.

Evidências mostram que a maioria das infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS) está associada à veiculação microbiana por meio das mãos dos trabalhadores. Entretanto, além das mãos, a colonização de outros sítios anatômicos por agentes infecciosos também contribui para a transmissão cruzada de patógenos^(3,7-9).

O micro-organismo mais pesquisado como colonizador em trabalhadores de saúde é o *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA). A colonização por estafilococos é um evento frequente e mais comum do que a infecção, acometendo aproximadamente 20% a 50% da população geral. Entre trabalhadores, a prevalência de colonização pelo MRSA é variável sendo relatadas porcentagens de 2,6% a 18,5%^(1,10-12).

Porém, pesquisas sobre a colonização de trabalhadores de saúde por bastonetes Gram-negativos (BGN) são escassas e a relevância desses indivíduos precisa ser esclarecida. Os portadores orofaríngeos de

BGN assumem um papel fundamental na epidemiologia e na patogênese das IrAS e a identificação dos mesmos tem sido apontada como importante estratégia de prevenção e controle dessas infecções^(2,13).

É importante ressaltar que os BGN, dentre eles, as enterobactérias e *Pseudomonas* sp., constituem um importante grupo de bactérias associado à etiologia e patogênese de diversas infecções humanas, como por exemplo, do trato urinário e gastrointestinal, feridas, pneumonias, meningites e sepse. Clientes imunocomprometidos ou debilitados, em uso de antimicrobianos, submetidos a procedimentos invasivos e com internação prolongada no ambiente nosocomial são especialmente suscetíveis às infecções por estes agentes^(6,14-15).

Neste contexto, compreender a dinâmica da colonização por BGN é um desafio, uma vez que, estes micro-organismos estão frequentemente associados a surtos de infecção envolvendo cuidados assistenciais em saúde⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. A adesão às medidas de precaução padrão por trabalhadores de saúde destaca-se como estratégia primordial para o controle dos agravos, assegurando a qualidade da assistência prestada ao cliente, bem como a integridade do profissional^(2,13).

Frente às evidências, emergiu o interesse pelo presente estudo com o objetivo determinar a prevalência de bastonetes Gram-negativos isolados da saliva de trabalhadores de saúde de um hospital universitário em Goiânia-Goiás e caracterizar o perfil dos colonizados.

MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em um hospital universitário de Goiânia-Goiás, no período de agosto/2005 a junho/2006. A instituição pesquisada atua no âmbito da assistência, ensino, pesquisa e extensão, e atende clientes graves, submetidos a procedimentos invasivos, em uso de antimicrobianos, com hospitalização prolongada, entre outros agravos à saúde. O protocolo de investigação foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG), Protocolo-CEPMHA/HC/UFG Nº 035/5.

O estudo foi constituído de três etapas: a primeira compreendeu no convite aos profissionais das equipes para participarem da pesquisa, com a apresentação dos objetivos, aspectos éticos e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; a segunda, na aplicação de um questionário que contemplava dados pessoais e trabalhadores pertinentes ao tema e aos

objetivos propostos. Este questionário foi necessário para traçar o perfil dos trabalhadores colonizados, bem como a sua adesão às medidas de precaução-padrão. E na terceira etapa ocorreu a coleta das amostras de saliva.

A população de estudo foi constituída por médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem atuantes nos cuidados assistenciais diretos aos pacientes internos nos serviços de: terapia intensiva, centro cirúrgico, clínica médica, clínica cirúrgica e gineco-obstétrica. Os participantes foram listados a partir de informações obtidas junto à instituição hospitalar e selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: pertencer a uma das categorias de trabalhadores citadas; estar saudável e atuando profissionalmente, no período do estudo, em uma das unidades selecionadas; não estar em uso de antimicrobianos ou não os ter utilizado nos últimos 30 dias.

Estes trabalhadores foram selecionados por serem considerados os responsáveis diretos pelo cuidado aos clientes e, portanto, manter contato prolongado com os usuários dessas unidades. Tal fato os torna potenciais veiculadores de micro-organismos multirresistentes e disseminadores de contaminação cruzada no hospital.

Para atingir o objetivo proposto a coleta de foi realizada em três períodos diferentes com intervalos de dois meses. A amostra de saliva não estimulada foi coletada em recipiente estéril e descartável, e processada dentro do prazo máximo de 24 horas após a coleta.

Alíquotas de 0,25µL de saliva foram homogeneizadas por um minuto, semeadas em meio de cultura seletivo, ágar MacConkey, e incubadas a 35°C por 24 a 48 horas. As colônias sugestivas de BGN foram submetidas à coloração de Gram e, posteriormente, à identificação fenotípica por provas padronizadas. Foram utilizadas bactérias controles (*Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) quando da realização da identificação microbiana⁽⁵⁾.

RESULTADOS

Participaram do estudo 278 trabalhadores da área da saúde, compreendendo 196 técnicos de enfermagem, 45 enfermeiros, 14 auxiliares de enfermagem e 12 médicos. Estes atuavam junto aos pacientes das unidades de terapia intensiva, centro cirúrgico, clínica médica, clínica cirúrgica e gineco-obstétrica da instituição de saúde pesquisada. Onze (3,9%) trabalhadores não

responderam ao questionário proposto e, portanto, não tiveram os seus dados pessoais e profissionais analisados.

Foram realizadas três coletas de saliva de cada indivíduo, totalizando 834 amostras, após o processamento das mesmas, verificou que dos 193 participantes (69,4%) tiveram isolamento positivo para BGN, sendo que 18 (9,3%) destes apresentaram as três coletas positivas, 67 (34,7%) duas coletas positivas e 108 (56,0%) uma coleta positiva.

Quanto aos isolados das 834 amostras coletadas, 319 eram BGN, sendo 208 (65,2%) caracterizados como enterobactérias e 111 (34,8%) como não-fermentadores. Sendo que, 98 (50,8%) trabalhadores albergavam apenas uma espécie de bactéria enquanto que 95 (49,2%) estavam colonizados por mais de uma espécie.

As espécies de BGN isoladas com maior frequência teve-se as enterobactérias: *Enterobacter aerogenes* (17,9%), *Klebsiella pneumoniae* (16,3%), *Enterobacter agglomerans* (8,8%), *Enterobacter cloacae* (3,8%), *Klebsiella oxytoca* (3,4%), *Escherichia coli* (3,1%) e *Proteus mirabilis* (3,1%). Entre os BGN não-fermentadores, foram isoladas 25 (7,8%) *Pseudomonas aeruginosa*, Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição das espécies de bastonetes Gram-negativos isoladas da saliva de trabalhadores de saúde, Goiânia, GO, 2006.

Espécies	Número	Porcentagem
Enterobactérias		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	57	17,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	52	16,3
<i>Enterobacter agglomerans</i>	28	8,8
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	3,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	11	3,4
<i>Escherichia coli</i>	10	3,1
<i>Proteus mirabilis</i>	10	3,1
<i>Citrobacter freundii</i>	8	2,5
<i>Citrobacter diversa</i>	8	2,5
<i>Enterobacter gergoviae</i>	6	1,9
<i>Proteus vulgaris</i>	5	1,6
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	0,3
Bastonetes Gram-negativos não fermentadores		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	7,8
Outras espécies	86	27

Segundo a análise das variáveis do estudo, dos 267 trabalhadores que responderam ao questionário 176 (65,9%) eram responsáveis pelos cuidados diretos ao cliente e 137 (51,3%) tinham vínculo de trabalho com outras instituições. Com relação ao uso de equipamentos de proteção individual (EPI) durante a assistência ao cliente, 260 (97,4%) faziam o uso de luvas descartáveis, 258 (96,6%) de máscara, 246 (92,1%) de jaleco e 221 (82,8%) de gorro. Entre esses trabalhadores, verificou-se ainda que apenas 125 (46,8%) faziam a troca dos EPI no preparo e na administração de medicamentos aos clientes.

Verificou-se ainda que 33 (12,3%) trabalhadores referiram episódios por sinusites, 30 (11,2%) por faringites e 12 (4,5%) por amigdalites, entretanto, no momento com o seu estado de saúde preservado. Em relação ao uso de antimicrobianos, identificou-se que 38 (14,2%) trabalhadores já haviam praticado automedicação. Os antimicrobianos mais citados foram ciprofloxacina, levofloxacina, azitromicina, amoxicilina, cefalotina e fluconazol.

DISCUSSÃO

Durante o período de agosto de 2002 a junho 2006, foram investigados 278 trabalhadores de saúde de um hospital universitário de Goiânia-Goiás. Foi observada uma elevada taxa de portadores de (69,4%) entre os investigados, especialmente de cepas conhecidamente patogênicas como *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*.

Considerando que, a forma de transmissão dos BGN, ocorre por meio de contato direto, não teve interesse

nesse estudo em identificar e analisar o tipo de microbiota da cavidade bucal dos trabalhadores, por entender que a condição de portador da bactéria é relevante para conferir contaminação cruzada, mecanismo inerente à ocorrência de surtos intra-hospitalar. Resultados semelhantes também foram observados em outros estudos^(8,17).

Porém estes resultados são de grande relevância, pois os BGN são importantes patógenos hospitalares associados às infecções em clientes críticos e com longa permanência no hospital. Esses micro-organismos se destacam não só por sua capacidade em causar infecção, mas pelo perfil de resistência aos antimicrobianos usualmente empregados na prática médica, como pela produção de beta-lactamases^(14,18-19).

De acordo com a cadeia epidemiológica de infecção, gotículas de saliva carreando micro-organismos virulentos podem constituir fonte de contaminação cruzada e conseqüentemente à colonização de clientes e trabalhadores. Esse mecanismo condiciona-os a disseminar esses agentes tanto para o ambiente hospitalar quanto para a comunidade. Tal condição do ponto de vista epidemiológico tem-se como agravante a colonização tanto dos clientes, como dos trabalhadores de saúde por patógenos multirresistentes, constituintes da microbiota transitória e permanente. O que imediatamente, dependendo do nível de comprometimento imunológico dos clientes, do próprio profissional e da comunidade em geral, acarretará danos, muitas vezes irreversíveis a sua saúde^(13,20).

Dos 193 trabalhadores colonizados por BGN, 85 (44%) foram considerados portadores persistentes e 95

(49,2%) multicolonizados. Neste estudo, observou-se ainda a resistência de alguns trabalhadores quanto ao uso dos EPI e a prática da automedicação. A maioria dos trabalhadores portadores de BGN era responsável pelos cuidados diretos dos clientes e também prestavam serviço em outras instituições de saúde e referiram o uso do mesmo uniforme em ambas, sem prévia higienização.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A detecção de BGN em portadores saudáveis é uma importante medida de prevenção e controle das IrAS, tendo em vista que esses indivíduos podem atuar como carreadores de diversos patógenos. Além disso, quanto maior o tempo de colonização maior também a

probabilidade de disseminação desses micro-organismos entre os diferentes setores da instituição e fora do ambiente de atenção à saúde.

Neste contexto, tanto o monitoramento dos portadores quanto a mudança de comportamento dos trabalhadores acerca da adesão às medidas de precaução padrão contribuem para a manutenção da qualidade da assistência ao cliente e da integridade física do profissional. Por outro lado, temos clareza da limitação do estudo e da necessidade de ampliar e aprofundar sobre o impacto dessas bactérias, do ponto de vista epidemiológico, e da microbiota à saúde dos trabalhadores desses serviços.

REFERÊNCIAS

- Ben-David D, Mermel LA, Parenteau S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission: the possible importance of unrecognized health care worker carriage. *Am J Infect Control*. 2008;36:93-97.
- Siegel JD. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta/USA, 2007.
- Carvalho MJ, Pimenta FC, Hayashida M, Gir E, Silva AM, Barbosa CP. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. *Clinics*. 2009;64(4):295-302.
- Aly NY, Al-Mousa HH, Al-Asar SM. Nosocomial infections in a medical-surgical intensive care unit. *Med Princ Pract*. 2008;17(5):373-7.
- Koneman EW, Woods GL, Procop GW, Schreckenberger PC, Allen SD, Janda WM. *Microbiology diagnostic: color atlas and textbook*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 1535p.
- Lowy FD. How *Staphylococcus aureus* adapts to its host. *N Engl J Med*. 2011; 364(21):1987-90.
- Barreto RASS, Rocha LO, Souza ACS, Tipple AFV, Suzuki K, Bisinoto AS. Higienização das mãos: a adesão entre os profissionais de enfermagem da sala de recuperação pós-anestésica. *Rev. Eletr. Enf. [Internet]*. 2009 [cited 2011 dez 29];11(2):334-40. Available from: <http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n2/v11n2a14.htm>.
- Lima ABM, Leão LSNO, Oliveira LSC, Pimenta FC. Nasopharyngeal Gram-negative bacilli colonization in Brazilian children attending day-care-centers. *Braz J Microb*. 2009; 40:1032-5.
- Palos MAP, Silva DVB, Gir E, Canini SRMS, Anders PS, Leão LSNO, Pimenta FC. Microbiota das mãos de mães e de profissionais de saúde de uma maternidade de Goiânia. *Rev. Eletr. Enf. [Internet]*. 2009 [cited 2011 dez 29];11(3):573-8. Available from: <http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n3/v11n3a14.htm>.
- Hamdan-Partida A, Sainz-Espuñes T, Bustos-Martínez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1701-5.
- Wolf R, Lewis D, Cochran R, Richards C. Nursing staff perceptions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and infection control in a long-term care facility. *J Am Med Direct Assoc*. 2008;9(5):342-6.
- Silva ECBF, Maciel MAV, Melo FL, Lopes ACS, Aca IS. Epidemiological surveillance and susceptibility of *Staphylococcus aureus* among healthcare workers to a reference hospital: a preliminary assessment. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2010; 69(1):126-30.
- Nunkoo B, Pickles H. Infection prevention and control in general practice. *Nursing Standard*. 2008;23:44-8.
- Carvalho RH, Gontijo-Filho PP. Epidemiologically relevant antimicrobial resistance phenotypes in pathogens isolated from critically ill patients in a Brazilian University Hospital. *Braz J Microbiol*. 2008;39:623-30.
- Carey AJ, Saiman L, Polin RA. Hospital-acquired infections in the NICU: epidemiology for the new millennium. *Clinic Perinatol*. 2008;35(1):223-49.
- Chatterjee SS, Karmacharya R, Madhup SK, Gautam V, Das A, Ray P. High prevalence of co-expression of newer beta-lactamases (ESBLs, Amp-C-beta-lactamases, and metallo-beta-lactamases) in Gram-negative bacilli. *Indian J Med Microbiol*. 2010; 28(3):267-8.
- Conti S, Santos SSF, Koga-Ito CY, Jorge, AOC. *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonadaceae* on the dorsum of the human tongue. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(5): 375-80.
- Al-Zarouni M, Senok A, Rashid F, Al-Jesmi SM, Panigrahi D. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract*. 2008;17:32-6.
- Giamarellou H. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long? *Int J Antimicrob Agent*. 2010; 36 Suppl 2:S50-4.
- Prado-Palos MA, Costa DM, Gir E, Suzuki K, Pimenta FC. Atuação de Enfermagem em Unidades de Terapia Intensiva: implicações para disseminação de micro-organismo multirresistente. *Rev Panam Infectol*. 2010;12(1):37-42.

Artigo recebido em 16.08.2010.

Aprovado para publicação em 08.11.2011.

Artigo publicado em 31.12.2011.