

# **CONIC·SEMESP**

## 13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

**TÍTULO:** PERFIL ANTIMICROBIANO DE AGENTES QUÍMICOS NO CONTROLE DE BACTERIAS PATOGÊNICAS RELACIONADAS ÀS INFECÇÕES EM SERVIÇOS DE SAÚDE

**CATEGORIA:** CONCLUÍDO

**ÁREA:** CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

**SUBÁREA:** CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**INSTITUIÇÃO:** CENTRO UNIVERSITÁRIO ANHANGUERA

**AUTOR(ES):** TALITA LARA CONTI, ANA PAULA GASPARINI, TATIANA GONÇALVEZ POLYCARPO CHINELATTO

**ORIENTADOR(ES):** HEROS JOSÉ MÁXIMO, JOSÉ RICARDO MATTOS VARZONE

**COLABORADOR(ES):** ELTON CARLOS FRACALOSSO LAVEZZO, FERNANDA PINHEIRO PIZZELLI PINTO, JOÃO FERNANDO ARRAIS SERÓDIO, LEANDRO SOUZA NASCIMENTO, MARIA HELENA CARDOSO FARIAS, SERGIO ROBERTO DE SOUZA LEME

Realização:



Apoio:



# PERFIL ANTIMICROBIANO DE AGENTES QUÍMICOS NO CONTROLE DE BACTERIAS PATOGÊNICAS RELACIONADAS ÀS INFECÇÕES EM SERVIÇOS DE SAÚDE

Aluna: Talita Lara Conti

Aluna: Ana Paula Gasparini

Orientador: Professor Msc. Heros José Máximo

Co-orientador: Professor Msc. José Ricardo Mattos Varzone

## 1. RESUMO

Todos os ambientes relacionados aos cuidados à saúde apresentam riscos de infecções devido à maior exposição à quantidade e diferentes tipos de microorganismos causadores de enfermidades. No Brasil essa problemática cresce a cada dia, considerando que o custo do tratamento dos clientes acometidos é três vezes maior que o custo dos clientes sem nenhum tipo de infecção. Neste sentido O presente estudo objetivou-se em avaliar *in vitro* a eficiência antimicrobiana de agentes químicos: Álcool nas concentrações de 90%, 70%, 60%, 50% e 40%, Hipoclorito de Sódio nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5%, e Clorexidina 2% em diferentes tempos (1', 2', 3', 4' e 5') de exposição no controle de cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). Para tal foi empregado técnicas seguras de microbiologia aplicada, utilizando-se cepas padrão de bactérias liofilizadas derivadas do American Type Culture Collection (ATCC). A solução aquosa de Clorexidina na concentração de 2% pode ser utilizada seguramente em todos os tempos testados, a solução de hipoclorito de sódio em todas as concentrações testadas demonstrou segura eficiência no controle antimicrobiano, o Álcool apresentou melhor eficiência nas concentrações de 70% e 90%. O presente trabalho pode contribuir de forma positiva na escolha de um protocolo de controle de infecções relacionadas a serviços de saúde.

**Palavra chave:** Bactérias Gram Negativas; Prevenção; Assepsia; Controle microbiano.

## 2. INTRODUÇÃO

Todos os ambientes relacionados aos cuidados à saúde apresentam riscos de infecções devido à maior exposição à quantidade e diferentes tipos de microrganismos causadores de enfermidades.

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) têm despertado grande interesse no meio científico devido à elevação das taxas de morbimortalidade de pacientes hospitalizados e a sua ocorrência depende das condições sanitárias o que pode ser um fator atribuído a presença de microrganismos patogênicos.

No Brasil essa problemática cresce a cada dia, considerando que o custo do tratamento dos clientes acometidos é três vezes maior que o custo dos clientes sem nenhum tipo de infecção. Mesmo com a fiscalização e a legislação vigente no país, os índices permanecem altos, 15,5%, o que corresponde a 1,18 episódios de infecção por um cliente internado com IRAS nos hospitais brasileiros. Além disso, considera-se mais um agravante, o fato das instituições de saúde pública possuir a maior taxa de prevalência de IRAS no país, 18,4% (MOURA *et al.*, 2007).

A implantação de medidas básicas preventivas pode reduzir a incidência e a gravidade destas infecções. Ações simples apresentam baixo custo e grande sucesso na prevenção de infecções em estabelecimentos de saúde. Diversas situações nas rotinas de aquisição, estocagem, manipulação, e concentração dos agentes químicos podem alterar a qualidade de soluções.

Entre aos principais fatores que comprometem a qualidade de desinfetantes e anti-sépticos estão às diferentes concentrações dos agentes, uso de água não purificada para diluição, estocagem em locais de umidade e temperatura elevadas, embalagens que não protegem de extravasamentos, contaminações química ou biológica por contato com o ambiente ou com as mãos (GARNER *et al.*, 1998).

A *Escherichia coli* é um patógeno oportunista; causador de septicemia, além de causar infecções do trato urinário e hospitalares; alguns sorotipos, denominados *Escherichia coli* enterovirulentos, são sempre patógenos (BURTON *et al.*, 2005).

A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo aeróbio; produz um pigmento característico verde azulado (piocianina); e odor característico de fruta; causa infecções em feridas por queimaduras, otites, infecções urinária e respiratória; uma das principais causas de infecções hospitalares; a maioria das cepas é resistente aos fármacos, e à alguns desinfetantes (BURTON *et al.*, 2005).

A clorexidina é uma biguanida com propriedades catiônicas que foi introduzida há muitos anos como anti-séptico de largo espectro contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (DAVIES *et al.*, 1954; JORGE, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 1998; SILVA, 2002).

O hipoclorito de sódio é um composto químico a base de cloro utilizado como desinfetante, e normalmente é empregado na limpeza e desinfecção de áreas e artigos críticos e semi-críticos. Alcoóis são compostos químicos, orgânicos, utilizados em atividades da área de saúde, como desinfetantes e anti-sépticos, e são eficazes para destruição e controlar a população de microrganismos ou para impedir a disseminação de microrganismos nos ambientes.

A melhor concentração do álcool como agente antimicrobiano é 70%, onde sua ação antimicrobiana é efetiva. Sua atividade microbicida pode variar na concentração de 40% a 90% do volume (MIMS *et al.*, 1999; ANDRADE *et al.*, 2002; LONGO *et al.*, 2006).

### **3. JUSTIFICATIVAS**

Estudos dessa natureza podem contribuir de forma positiva na prevenção de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, uma vez que um dos possíveis fatores extrínsecos são as condições do ambiente de saúde. A presente pesquisa poderá orientar os profissionais da saúde na escolha de um protocolo seguro de assepsia e prevenção de doenças.

### **4. OBJETIVOS**

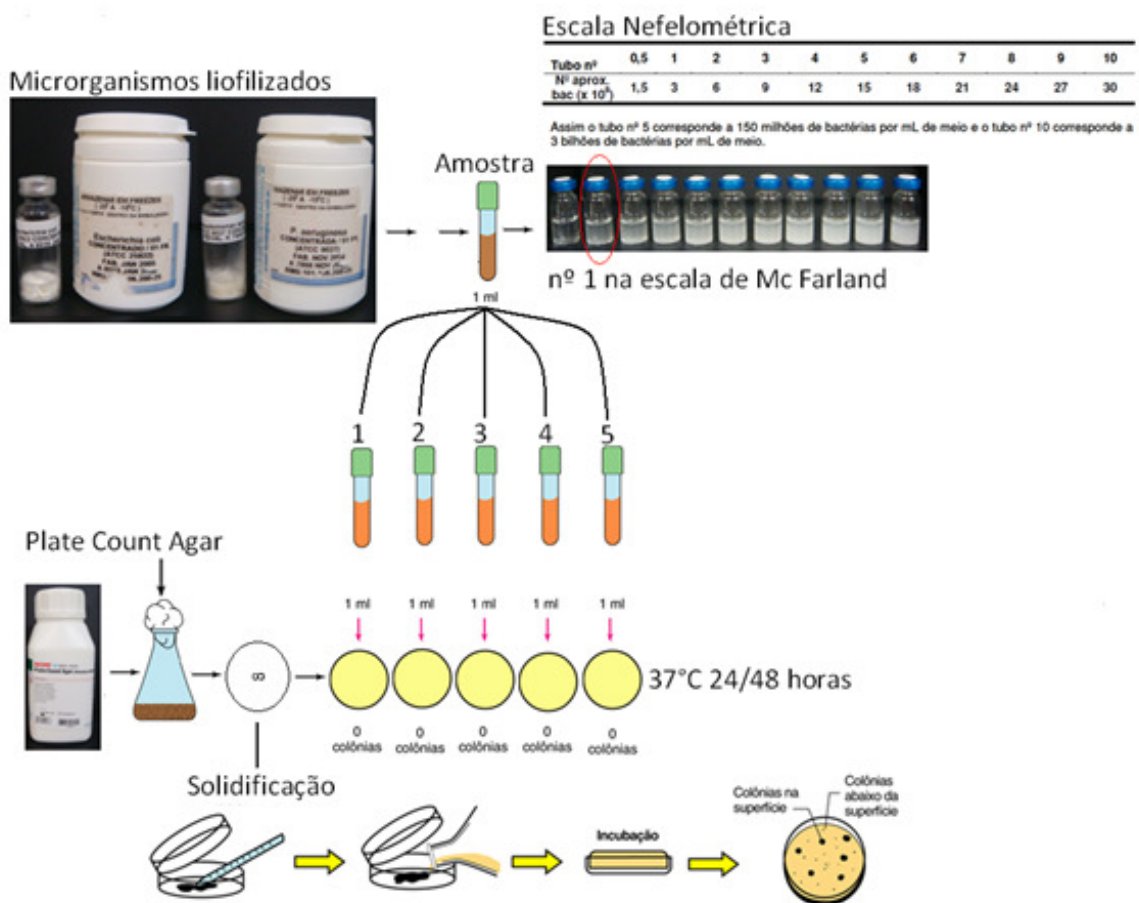
O presente estudo objetivou-se em avaliar *in vitro* a eficiência antimicrobiana de agentes químicos: Álcool nas concentrações de 90%, 70%, 60%, 50% e 40%, Hipoclorito de Sódio nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5%, e

Clorexidina 2% em diferentes tempos (1', 2', 3', 4' e 5') de exposição no controle de cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

## 5. DESENVOLVIMENTO

Cepas padrão de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), liofilizadas derivadas do American Type Culture Collection (ATCC), contidas em frasco ampolas foram diluídas em 1 mL de solução de Cloreto de Sódio NaCl 0,9% estéril, utilizando-se uma seringa plástica de 1mL e agulha 30x08 ambas estéreis, em seguida as amostras bacterianas foram inoculadas em meio de cultivo Agar Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas à 35-37°C por 24 a 48 horas. Após a incubação cada cepa foi suspensa em 30 mL de solução de Cloreto de Sódio NaCl 0,9% estéril, até atingir 1 na escala nefelométrica de Mc Farland, homogeneizada por 30 segundos em agitador tipo Vortex QUIMIS®, sendo essa nomeada solução “mãe”. Foram distribuídos 9 mL de Clorexidina 2%, em cinco tubos de ensaio estéreis distintos com auxílio de uma pipeta de 10 mL, com a finalidade de avaliar o tempo de ação que melhor se aplica no controle dos respectivos microrganismos. Em seguida adicionou-se 1 mL da solução mãe de cada cepa nos tubos contendo clorexidina, obedecendo-se uma ordem temporal de 1, 2, 3, 4 e 5 minutos pipetando-se 1 mL da solução, com auxílio de pipeta estéril e transferiu para uma placa de Petri estéril vazia, acrescentando-se em seguida 20 mL de meio de cultivo Plate Count Agar (PCA), após incubou-se as placas (1', 2', 3', 4' e 5') de cada cepa à 35-37°C por 24 e 48 horas, realizou-se então a quantificação em profundidade de UFC/mL. Em continuidade, avaliou o álcool nas concentrações de 40%, 50%, 60%, 70% e 90%. Para tanto, pipetou-se 9mL do álcool nas respectivas concentrações em tubo de ensaio estéril, utilizando-se pipeta de 1mL estéril, em cada tubo adicionou-se 1mL da solução mãe preparada, homogeneizou-se, aguardou-se 10 minutos e transferiu-se 1mL do preparado, com pipeta estéril, para uma placa de Petri estéril vazia, acrescentando-se em seguida 20 mL de meio Plate Count Agar (PCA). Logo após as placas com as diferentes concentrações de álcool (40%, 50%, 60%, 70% e 90%) e com as diferentes cepas bacterianas foram incubadas à 35-

37°C por 24 e 48 horas. A seguir realizou-se então a quantificação em profundidade de UFC/mL. Passou-se a avaliar a eficiência do hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. Para tanto, pipetou-se 9mL do hipoclorito de sódio nas respectivas concentrações em tubo de ensaio estéril, utilizando-se pipeta de 1ml estéril, em cada tubo adicionou-se 1mL da solução mãe preparada, homogeneizou-se, aguardou-se 10 minutos e transferiu-se 1mL do preparado, com pipeta estéril, para uma placa de Petri estéril vazia, acrescentando-se em seguida 20 mL de meio de cultivo Plate Count Agar (PCA), após incubou-se as placas (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) de cada cepa à 35-37°C por 24 e 48 horas, realizou-se então a quantificação em profundidade de UFC/mL, utilizando-se contador de colônias QUIMIS® modelo Q-295-B.



**Figura 1:** Modelo experimental adotado na condução da avaliação de eficiência antimicrobiana dos agentes químicos Álcool, Clorexidina e Hipoclorito de sódio.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o emprego da metodologia descrita pode-se verificar que todas as soluções de clorexidina 2% aquosa testadas nos intervalos de tempos de 1, 2, 3, 4 e 5 minutos foram eficazes no controle antimicrobiano da *E. coli* e *P. aeruginosa*. O mesmo resultado de eficiência no controle da *E. coli* e *P. aeruginosa* foi visualizado nas soluções de hipoclorito de sódio a 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. As soluções de álcool em diferentes concentrações tiveram resultados variados no controle da *E. coli* e *P. aeruginosa*, o álcool nas concentrações de 90% e 70% foram eficientes para ambas as bactérias, o álcool a 60% no controle da *P. aeruginosa* foi eficiente, contudo o mesmo não aconteceu quando aplicado na *E. coli*, onde foi verificado a presença de 3 UFC/mL. O álcool a 50% não foi eficiente para ambas as bactérias, pois no controle da *E. coli* foi possível observar a presença de 3 UFC/mL e 1 UFC/mL para a *P. aeruginosa*. O álcool na concentração de 40% apresentou 3 UFC/mL quando testado em *P. aeruginosa*, e 64 UFC/mL quando testado em *E. coli*, como mostram os (Quadros 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Quadro 1- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Escherichia coli</i> com aplicação da clorexidina aquosa 2% em diferentes tempos de exposição			
Microrganismo	Tempo de exposição	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Escherichia coli</i>	1 minuto	0	0
	2 minutos	0	0
	3 minutos	0	0
	4 minutos	0	0
	5 minutos	0	0

Quadro 2- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> com aplicação da clorexidina aquosa 2% em diferentes tempos de exposição			
Microrganismo	Tempo de exposição	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 minuto	0	0
	2 minutos	0	0
	3 minutos	0	0
	4 minutos	0	0
	5 minutos	0	0

Quadro 3- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Escherichia coli</i> com aplicação do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações			
Microrganismo	Concentração do hipoclorito de sódio	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Escherichia coli</i>	1%	0	0
	2%	0	0
	3%	0	0
	4%	0	0
	5%	0	0

Quadro 4- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> com aplicação do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações			
Microrganismo	Concentração do hipoclorito de sódio	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1%	0	0
	2%	0	0
	3%	0	0
	4%	0	0
	5%	0	0

Quadro 5- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Escherichia coli</i> com aplicação do álcool em diferentes concentrações			
Microrganismo	Concentração do álcool	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Escherichia coli</i>	40%	64	64
	50%	3	3
	60%	3	3
	70%	0	0
	90%	0	0

Quadro 6- Resultados obtidos no controle antimicrobiano da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> com aplicação do álcool em diferentes concentrações			
Microrganismo	Concentração do álcool	Leitura de UFC/mL após 24 horas	Leitura de UFC/mL após 48 horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40%	3	3
	50%	1	1
	60%	0	0
	70%	0	0
	90%	0	0



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A solução aquosa de Clorexidina na concentração de 2% demonstrou eficiência no controle antimicrobiano de bactérias com potencial patogênico como a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, independentemente dos diferentes tempos de exposição testados (1, 2, 3, 4 e 5 minutos). Sendo assim esse agente químico pode ser empregado na desinfecção e na anti-sepsia com segurança perante os mesmos microrganismos, embora a clorexidina seja utilizada em serviços de saúde, mais como anti-séptico. As soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5%, demonstraram segura eficiência no controle antimicrobiano de ambas as bactérias testadas, neste sentido o seu uso pode, ser feito com segurança, nas ações de desinfecção. Apesar do álcool etílico 70% não ser aceito como desinfetante efetivo pelo Centro de Controle de Doenças e Prevenção, a utilização de alcoóis em diferentes concentrações deve ser feita de maneira prudente, pois em algumas concentrações o álcool não atinge um bom desempenho no controle antimicrobiano, sendo assim seu uso deve se restringir apenas a concentração de 70% na prática da descontaminação de ambientes que tenham por vez a presença das bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Porém estudos devem ser realizados para avaliar essas ações antimicrobianas em outras cepas virulentas envolvidas em infecções relacionadas a serviços de saúde.

## 8. FONTES CONSULTADAS

ANDRADE D.; SANTOS, L.S.; OLIVEIRA, B.A. & BERALDO C.C. Alcoóis: A produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana.

**Revista Medicina.** Ribeirão Preto: vol 35, n 1, jan/mar, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 219 de 02 de agosto de 2002, que altera a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC 46 de 20 de fevereiro de 2002. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 06 de Agosto de 2002.

BURTON, Gwendolyn R.W. ENGELKIRK, Paul G. **Microbiologia para as ciências da saúde**, 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 426p. ISBN 85-277-1031-5, 2005.

DAVIES, G. E et al. **Laboratory investigation of a new anti-bacterial agent of a high potency. British J.pharmacol.**, v. 9, p. 192-196, 1954.

FERREIRA, R. A. Barrando o invisível. **Rev. da APCD**, v. 49, n. 6, p. 417-427, nov./dez. 1995.

GARNER JS, JARVIS WR, EMORI TG, HORAN TC, HUGHES JH. CDC definitions for nosocomial infections. **Am J Infect Control** 1998;16:128-40.

JORGE, A. O. C. **Princípios de biossegurança em odontologia**. Apostila. Taubaté, 1998. 39 p.

LONGO, R.; D'LAGNOLL, M.; SHIMIZU, L. T.; CZANASKI, M. M. P.; DALLACOSTA,C. **Estudo da qualidade da solução de álcool 70% p/p, 77% v/v ou 77º GL comercializados no estado do Paraná**. 2006. 23f. Monografia (Especialização em Farmácia Magistral). Curitiba.

MIMS C.A.; PLAYFAIR, J.H.L.; ROITT, I.M.; WAKELIN, R. & WILLIAMS, R. **Microbiologia Médica**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1999.

MOURA, M. E. B; CAMPELO, S. M. A; BRITO, F. C. P; BATISTA, O. M. A; ARAÚJO, T. M. E; OLIVEIRA, A. D. S. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v.60, n.4, 2007.

SILVA, C. R. G.; JORGE, A. O. C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em odontologia. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 16, n. 2, p. 107-114, 2002.

SIQUEIRA J. R. et al. Effectiveness of four chemical solution in eliminating *Bacillus subtilis* spores on guttapercha cones. **Endod. Dent. Traumatol.**, v. 14, n. 3, p. 124-126, jun. 1998.

## **9. AGRADECIMENTOS**

Agradecemos as indispensáveis colaborações dos Laboratórios de Ciências da Saúde e Agrárias do Centro Universitário Anhanguera Educacional Ltda campus Leme-SP (FAL); Agradecemos o Instituto de Pesquisas Aplicadas e Desenvolvimento Educacional (IPADE) - Anhanguera Educacional; Agradecemos o Programa de Iniciação Científica da Anhanguera Educacional, e ao curso de Bacharelado em Medicina Veterinária da Anhanguera Educacional de Leme-SP.

## **10. AGÊNCIA FINANCIADORA**

Anhanguera Educacional Ltda.

<http://www.anhanguera.com/home/>