

ESTUDO “IN VITRO” DA EFICÁCIA DE ANTISSÉPTICOS CONTRA ISOLADOS HOSPITALARES DE *Acinetobacter baumannii*

Aniely Correa de Moraes (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Celso Luíz Cardoso (Orientador), e-mail: ra77124@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas e Microbiologia.

Palavras-chave: álcool, clorexidina, povidona-iodo

Resumo: Nós investigamos a atividade bactericida dos principais antissépticos recomendados para a higiene das mãos na prática hospitalar utilizando como modelo de estudo o teste de suspensão quantitativo descrito na Norma Européia 13727. Como microrganismos testes foram usados 10 diferentes clones hospitalares multirresistentes de *Acinetobacter baumannii* e também uma amostra de coleção de cultura – *A. baumannii* ATCC 19606. Os antissépticos testados foram: clorexidina a 2%, povidona-iodo a 1%, álcool etílico 70% (p/p) e álcool etílico em gel 70% (v/v). No teste de suspensão, como requerimento mínimo para atividade bactericida, o produto deve reduzir a população do microrganismo teste em pelo menos 5 log₁₀ no caso das preparações alcoólicas, ou pelo menos 3 log₁₀ quando do uso de clorexidina ou povidona-iodo. Todos os isolados de *A. baumannii* foram mortos pelos antissépticos testados (redução > 5 log₁₀). Não foi encontrada associação entre a resistência aos antibióticos e reduzida susceptibilidade aos antissépticos. Os resultados sugerem que a antisepsia das mãos com clorexidina, povidona-iodo e produtos alcoólicos deve ser efetiva na prevenção da disseminação de *A. baumannii* nos hospitais.

Introdução

A higiene das mãos é considerada o procedimento isolado mais importante na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde porque muitas infecções são causadas por microrganismos transmitidos pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde (WHO, 2009).

Nas últimas décadas, as bactérias do gênero *Acinetobacter*, particularmente *A. baumannii*, tornaram-se importantes patógenos hospitalares devido a crescente frequência e gravidade de infecções causadas em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo e sua ampla resistência aos principais antibióticos usados na prática hospitalar (WONG et al., 2017).

Embora a resistência de *A. baumannii* aos antibióticos seja frequentemente descrito na literatura, poucos estudos têm investigado sua resistência aos antissépticos (MARTRO et al., 2003) O objetivo do presente estudo é avaliar a eficácia dos principais antissépticos usados na higiene das mãos contra

isolados hospitalares de *A. baumannii* multirresistentes aos antibióticos. A possível associação entre a resistência aos antibióticos e antissépticos é também investigada.

Materiais e métodos

Como microrganismos testes foram usados 10 diferentes clones hospitalares multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*, selecionados pelo perfil de susceptibilidade as cefalosporinas (ceftriaxona, ceftazidime, cefepime), carbapenêmicos (imipenem, meropenem) e polimixina B; e também pela habilidade de produzir enzimas β -lactamases da classe das oxacilinas. Uma amostra de coleção de cultura – *A. baumannii* ATCC 19606, foi incluída no estudo. Os antissépticos testados foram: digluconato de clorexidina a 2%; povidona-iodo a 10%, com teor de 1% de iodo ativo; álcool etílico 70% (p/p) e álcool etílico em gel 70% (v/v) (Tabela 1).

Descrição resumida do teste de suspensão: misturar 0,1mL do inóculo do microrganismo teste ($1,5-5 \times 10^8$ UFC) com 9,7 mL do produto a ser testado. Adicionar 0,2mL de substância interferente: solução de albumina bovina a 1,5%; na condição limpa; solução de albumina bovina a 15% adicionada de 15mL de hemácias de carneiro, na condição suja. Após 30 segundos, adicionar 1 mL desta mistura a um tubo contendo 8 mL de neutralizantes e 1 mL de água destilada. Após 10 segundos, semear, em duplicata, 1mL da suspensão na superfície de placas contendo ágar nutriente (0,5ml/placa). Em paralelo fazer os controles do teste, da ação tóxica dos neutralizantes e da neutralização do efeito residual dos produtos testados. A seguir, incubar as placas na estufa a 35°C. Após 24 horas fazer a contagem das colônias. Transformar os números em \log_{10} e calcular o fator de redução logarítmico pela diferença entre o controle (microrganismo teste *versus* solução salina) e o teste (microrganismo teste *versus* produto). Como requerimento mínimo para a atividade bactericida o produto deve demonstrar uma redução de pelo menos 5 \log_{10} (preparações alcoólicas) ou de 3 \log_{10} (clorexidina, povidona-iodo) no teste de suspensão.

Resultados e Discussão

O teste de suspensão usado no presente estudo foi proposto para avaliar a atividade bactericida de produtos usados na área médica, no campo de higiene das mãos e desinfecção de superfícies. O teste leva em consideração as condições práticas de aplicação do produto, incluindo tempo de contato, temperatura, organismos testes e substâncias interferentes (proteína, sangue), i.e., condições que podem influenciar a ação do produto em situações práticas (EN-13727, 2015).

Em nosso estudo, todos os clones hospitalares multirresistentes de *A. baumannii* foram mortos pelos antissépticos comumente usados para a higiene das mãos na prática hospitalar. A ação bactericida média \pm desvio padrão dos produtos testados, expressa pelo fator de redução logarítmica, nas condições limpa e suja, foram de, respectivamente, $7,44 \pm 0,16$ e

7,17±0,92 (clorexidina); 7,34±0,48 e 7,46±0,15 (povidona-iodo); 7,46±0,15 e 7,37±0,15 (álcool etílico); 7,37±0,36 e 7,40±0,15 (álcool gel); cumprindo, portanto, o critério requerido pela EN 13727 (Tabela 1)

Nós acreditamos que este é o primeiro estudo realizado no Brasil usando o teste de suspensão da Norma Européia 13727.

Tabela 1. Atividade bactericida dos principais antissépticos usados para a higiene das mãos, expressa pelo fator de redução logarítmico, contra diferentes clones hospitalares de *Acinetobacter baumannii* avaliada pelo teste de suspensão quantitativo na presença de substâncias interferentes (EN 13727).

Microrganismos testes e controles	Clorexidina 2%		Povidona-iodo 1%		Álcool etílico 70%		Álcool gel 70%	
	Limpa	Suja	Limpa	Suja	Limpa	Suja	Limpa	Suja
Grupo 1:								
HU-UJEL-18T	7,60	7,60	7,61	7,61	7,61	7,61	7,61	7,61
HU-UJEL-14	7,37	4,44	7,37	7,37	7,37	7,37	6,37	7,37
Grupo 2:								
Sc-Ab-04	7,65	7,64	5,95	7,25	7,25	6,25	7,25	7,25
Sc-Ab-34	7,50	7,50	7,57	7,57	7,57	7,57	7,57	7,57
Grupo 3:								
Sc-Ac-46	7,31	7,31	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
HUM-Ac-21	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69
Grupo 4:								
HU-UJEL-24	7,38	7,38	7,39	7,39	7,39	7,39	7,39	7,39
HUM-Ac-17	7,57	7,57	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62
HUM-Ac-57	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33
Grupo 5:								
HUM-Ac-59	7,18	7,18	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62
A. baumannii:								
<i>A. baumannii</i> ATCC19606	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Amostras Controles¹:								
<i>E. coli</i> NCTC 10538	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49
<i>E. hirae</i> ATCC 10541	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	7,38	7,38	7,38	7,38	7,38	7,38	7,38	7,38

1. Amostras de coleção de cultura usadas como controles para validação do teste de suspensão. NCTC, National Collection of Type Cultures, London, England; ATCC, American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA. Grupo 1, sensível aos carbapenêmicos, não produtor de OXA-23; Grupo 2, sensível aos carbapenêmicos, produtor de OXA-23; Grupo 3, resistente aos carbapenêmicos, não produtor de OXA-23; Grupo 4, resistente aos carbapenêmicos, produtor de OXA-23; Grupo 5, resistentes aos carbapenêmicos e polimixina B, produtor de OXA-23.

Não foi encontrada associação entre a resistência aos antibióticos e antissépticos nos clones hospitalares de *A. baumannii* investigados no presente estudo. Entretanto, é prudente supor que o monitoramento “in vitro” deste importante patógeno hospitalar, como realizado em nosso estudo, é necessário para detectar uma possível emergência de clones hospitalares de *A. baumannii* com reduzida susceptibilidade aos antissépticos.

Os resultados sugerem que a higiene das mãos com clorexidina, povidona-iodo e produtos alcoólicos deve ser efetiva na prevenção da disseminação de *A. baumannii* pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde que é a principal via de transmissão cruzada de *A. baumannii* nos hospitais.

Conclusões

Todos os clones hospitalares multirresistentes de *Acinetobacter baumannii* foram mortos pelos antissépticos comumente usados para a higiene das mãos na prática hospitalar, sugerindo que a antisepsia das mãos com clorexidina, povidona-iodo e produtos alcoólicos deve ser efetiva na prevenção da disseminação de *A. baumannii* nos hospitais. O grau de resistência aos antibióticos não influenciou a susceptibilidade de *A. baumannii* aos antissépticos.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Maringá pela bolsa de iniciação científica concedida ao primeiro autor (Aniely Correa de Moraes) através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq-FA-UEM.

Referências

European Standard EN 13727:2012+A2:2015. *Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity in the medical area – Test method and requirements* (phase 2, step 1). Brussels: European Committee for Standardization, 2015.

Martró E, Hernández A, Ariza J, Domínguez MA, Matas L, Argerich MJ, Martín R, Ausina V. Assessment of *Acinetobacter baumannii* susceptibility to antiseptics and disinfectants. *J. Hosp Infect* 2003; **55**: 39-46.

Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B; Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clin Microbiol Rev* 2017; **30**:409-447.

World Health Organization. *WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge: clean care is safe care*. Geneva: WHO, 2009.