

## ESTUDO “IN VITRO” DA EFICÁCIA DE ANTISSÉPTICOS CONTRA ISOLADOS HOSPITALARES DE *Acinetobacter baumannii* RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS

Aniely Correa de Moraes (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Maria Cristina Bronharo Tognim, Celso Luiz 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, antisséptico-detergente, EN-13727

**Resumo:** No presente estudo foi investigado 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 Europeia 13727. Como microrganismos testes foram usados 12 diferentes clones hospitalares de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos. 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 log<sub>10</sub> no caso das preparações alcoólicas, ou pelo menos 3 log<sub>10</sub> quando do uso de clorexidina ou povidona-iodo. Todos os isolados de *A. baumannii* foram mortos pelos antissépticos testados (redução superior a 5 log<sub>10</sub>). Não foi encontrada associação entre a resistência aos antibióticos e a reduzida susceptibilidade aos antissépticos. Os resultados sugerem que a antissepsia das mãos com produtos alcoólicos, clorexidina e povidona-iodo deve ser efetiva na prevenção da disseminação de cepas multirresistentes 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 das 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 a resistência de isolados hospitalares de *A. baumannii* aos antissépticos (MARTRO et al., 2003). O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia dos principais antissépticos usados para a higiene das mãos contra isolados hospitalares de *A. baumannii* multirresistentes aos antibióticos. Uma possível associação entre a resistência aos antibióticos e antissépticos foi também investigada.

## Materiais e métodos

A eficácia dos antissépticos foi investigada pelo teste de suspensão quantitativo, realizado na presença de substâncias interferentes, conforme descrito na Norma Europeia 13727 (EN 13727). Como microrganismos testes foram usados 12 diferentes clones hospitalares multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*, selecionados pela resistência aos carbapenêmicos (imipenem, meropenem). As amostras de coleção de cultura: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae* e *Staphylococcus aureus* foram usadas como controles do teste de suspensão. Os antissépticos testados foram: digluconato de clorexidina a 2%; povidona-iodo a 10%, com teor de 1% de iodo ativo e os produtos alcoólicos: 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 antisséptico 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 antissépticos 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 interferen-

tes (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±desvio padrão dos produtos testados, expressa pelo fator de redução logarítmica, nas condições limpa e suja, foram de, respectivamente, 7,39±0,10 e 7,14±0,82 (clorexidina); 7,33±0,51 e 7,36±0,40 (povidona-iodo); 7,40±0,27 e 7,38±0,35 (álcool etílico); 7,46±0,10 e 7,46±0,10 (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* resistentes aos carbapenêmicos avaliada pelo teste de suspensão quantitativo na presença de substâncias interferentes (EN 13727).

Amostras testadas	Clorexidina 2%		Povidona-iodo 1%		Álcool etílico 70%		Álcool gel 70%	
	Limpa	Suja	Limpa	Suja	Limpa	Suja	Limpa	Suja
<b>A. baumannii</b>								
HU-Uel-576	7,59	7,59	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45
HU-Uel-680	7,47	7,47	7,48	7,48	7,48	7,48	7,48	7,48
HU-Uel-4345	7,33	7,33	7,48	7,48	7,48	7,48	7,48	7,48
HU-Uel-4605	7,39	7,39	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59
SC-Ac-20	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
SC-Ac-59	7,41	7,41	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54
SC4-Ac-57	7,49	7,49	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54
SC4-Ac-113	7,38	7,38	7,35	7,35	7,35	7,35	7,35	7,35
HUM-Ac-27	7,48	7,48	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54
HUM-Ac-74	7,43	4,43	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54
HUM-Ac-104	7,22	7,22	5,64	6,06	6,54	6,24	7,24	7,24
HUM-Ac-127	7,21	7,21	7,52	7,52	7,52	7,52	7,52	7,52
<b>Controles<sup>1</sup>:</b>								
<i>E. coli</i> K12	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59
<i>P. aeruginosa</i>	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49	7,49
<i>E. hirai</i>	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62	7,62
<i>S. aureus</i>	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. *Escherichia coli* K12, NCTC 10538 (National Collection of Type Cultures, London, England); *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 (ATCC, American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA); *Enterococcus hirai*, ATCC 10541; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

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 os produtos alcoólicos, clorexidina e povidona-iodo deve ser efetivo na prevenção da disseminação de *A. baumannii* pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde que constitui a principal via de transmissão cruzada de *Acinetobacter 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 antissepsia das mãos com produtos alcoólicos (álcool etílico 70% e álcool gel), clorexidina e povidona-iodo 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, Martin 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.