

Metodologia para a identificação de *Staphylococcus sp.* na superfície do colchão da maca no pronto socorro

Methodology for the identification of *Staphylococcus sp.* on the surfaces of stretcher mattresses used in the emergency room

Metodología para la identificación de *Staphylococcus sp.* el colchón de arena superficial en la sala de emergencias

Eliana Pereira da Silva*, Mônica de Almeida Carreiro, Rosana Canuto Gomes

Resumo

A presença de bactérias que oferecem risco à saúde é comum em superfícies inanimadas e equipamentos presentes no ambiente hospitalar. Observa-se que em muitos pronto-atendimentos os pacientes são colocados em colchões de macas aparentemente sem desinfecção prévia, em alguns casos com sujidade aparente como sangue e secreções. Este fato despertou o interesse de investigar a presença de *Staphylococcus aureus* na superfície do colchão da maca do Pronto Socorro, uma vez que os pacientes podem estar expostos a riscos e danos microbiológicos advindos do colchão. Trata-se de um estudo descritivo sobre os testes bioquímicos feitos para a identificação em laboratório de microbiologia dos *Staphylococcus sp.*, recorte do Trabalho de Conclusão de Curso que aborda a identificação de microrganismos nos colchões hospitalares do setor Pronto Socorro. Este estudo tem como objetivo descrever a metodologia utilizada para a realização dos testes bioquímicos para a identificação em laboratório de microbiologia dos *Staphylococcus sp.* A coleta do material biológico foi feita através do meio Agar manitol salgado em placas de petri. Foram coletados 11 placas nos colchões de um hospital do interior. Concluiu-se que houve um crescimento de microorganismos, o qual foi possível identificar os *Staphylococcus sp.* Porém houve dificuldade em realizar os testes bioquímicos, sendo necessário uma busca de informações sobre a microbiologia para realizar de forma fidedigna a pesquisa.

Palavras-chave: Enfermagem; Colchão; *Staphylococcus sp.*; Testes bioquímicos.

Como citar esse artigo. Silva EP, Carreiro MA, Gomes RC. Metodologia para a identificação de *Staphylococcus sp.* na superfície do colchão da maca no pronto socorro. Revista Pró-UniverSUS. 2016 Jul./Dez.; 07 (3): 15-19.

Abstract

The presence of bacteria that provide health risk is common in inanimate surfaces and equipment present in the hospital. In many ready-care patients are placed on trolleys mattresses apparently is observed without disinfection in some cases with apparent dirt as blood and secretions. This fact aroused the interest to investigate the presence of *Staphylococcus aureus* on the surface of the Emergency stretcher mattress, since patients may be exposed to risks and microbiological damages arising out of the mattress. This is a descriptive study of the biochemical tests for the identification of *Staphylococcus sp* microbiology lab., Cut the course conclusion work which addresses the identification of microorganisms in hospital mattresses Emergency sector. This study aims to describe the methodology used to carry out the biochemical tests for the microbiology laboratory for identification of *Staphylococcus sp.* The collection of biological material was made by Agar salty mannitol in petri dishes. We collected 11 boards in the mattresses of a hospital interior. It was concluded that there was a growth of microorganisms, which could be identified *Staphylococcus sp.* But it was difficult to carry out the biochemical tests, requiring a search for information on microbiology to perform reliably research.

Keywords: Nursing ; mattress; *Staphylococcus sp.*; Biochemical tests.

Resumen

La presencia de bacterias que proporcionan riesgo para la salud es común en superficies inanimadas y equipos presentes en el hospital. en muchos pacientes de atención de listo se colocan en carros colchones aparentemente se observa sin desinfección en algunos casos con la suciedad evidente a medida que la sangre y las secreciones. Este hecho despertó el interés de investigar la presencia de *Staphylococcus aureus* en la superficie del colchón camilla de emergencia, ya que los pacientes pueden estar expuestos a riesgos y daños microbiológicos que se deriven del colchón. Se trata de un estudio descriptivo de las pruebas bioquímicas para la identificación de *Staphylococcus sp* laboratorio de microbiología., Cortar el trabajo de conclusión de curso que se refiere a la identificación de los microorganismos en el hospital sector de colchones de emergencia. Este estudio tiene como objetivo describir la metodología utilizada para llevar a cabo las pruebas bioquímicas para el laboratorio de microbiología para la identificación de *Staphylococcus sp.* La recolección de material biológico fue hecha por agar manitol salado en placas de Petri. Hemos recogido 11 rebotes en los colchones de un interior del hospital. Se concluyó que había un crecimiento de los microorganismos, lo que podría ser identificado *Staphylococcus sp.* Pero era difícil de llevar a cabo las pruebas bioquímicas, lo que requiere una búsqueda de información en microbiología para llevar a cabo la investigación de forma fiable.

Palabras-clave: Enfermería; Colchón; *Staphylococcus sp.*; Las pruebas bioquímicas.

Afiliação dos autores: Curso de Enfermagem, Pró-Reitoria de Ciências da Saúde e Humanas, Universidade Severino Sombra, Vassouras-RJ, Brasil.

* E-mail para correspondência: cfcelianasilva@yahoo.com.br

Recebido em: 29/10/15. Aceito em: 01/08/16

Introdução

A assistência à saúde vem, ao longo dos tempos, evoluindo com os avanços científicos e tecnológicos, e tem refletido em melhoria das ações de saúde para a população. Porém, se por um lado se observa o desenvolvimento científico-tecnológico nas ações de saúde, por outro, tem-se observado que problemas antigos ainda persistem e se ampliam em gravidade e quantidade como é o caso das infecções hospitalares. Os procedimentos cada vez mais invasivos, a falta de desinfecção adequada do ambiente e superfícies inanimadas secas, ao uso indiscriminado e a resistência bacteriana aos antimicrobianos são fatores que apontam as infecções hospitalares como um grave problema de saúde pública¹.

O monitoramento e o controle microbiológico deveria ser um cuidado instituído e relevante para o diagnóstico ambiental nas áreas de saúde, em especial dos elementos e superfícies que compõe a unidade que o paciente ocupa e a detecção de riscos para o paciente e profissionais que atuam no ambiente. O monitoramento ambiental é um conjunto de medidas que garantem a qualidade do ambiente. Estas medidas vão desde o controle do ar que circula na área hospitalar, utensílios e mobiliário que constituem a unidade de saúde.²

Microorganismos indesejáveis pode infectar tais superfícies. Vários microrganismos podem sobreviver e se manter viáveis em superfícies inanimadas secas por dias, semanas e até meses³. E o tempo de sobrevivência bacteriana nestas superfícies podem ser aumentado na presença de fluidos biológicos como sangue, escarro e urina, pois a matéria orgânica favorece a adesão bacteriana sobre superfícies inanimadas. Como exemplo, cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) podem permanecer viáveis por mais de 14 dias em superfícies⁴.

A limpeza das áreas de trabalho em um hospital faz parte das operações essenciais no processo de higienização e conforto do ambiente. A limpeza hospitalar é uma das medidas eficazes de prevenção e controle para romper a cadeia epidemiológica das infecções. A disseminação de vírus, de bactérias e de diversos fungos se dá através do ar, da água e das superfícies inanimadas. A limpeza e a desinfecção com um desinfetante são eficazes em reduzir a infecção cruzada, veiculada pelo ambiente.

Alguns autores⁴ estabelecem limites de alerta e de ação para a detecção de contaminação microbiológica, e para o monitoramento das superfícies inanimadas. Os limites são expressos em unidades formadoras de colônia (UFC), e quando adotados levam em consideração o grau de limpeza da superfície.

Investigações epidemiológicas nas quais amostras microbiológicas foram coletadas do ambiente hospitalar

têm demonstrado que bactérias multirresistentes estão presentes em vários objetos e superfícies. As superfícies com maior frequência de contaminação são pisos, armações das camas, mesas, roupas utilizadas pelos pacientes, travesseiros e colchões³.

A presença de bactérias é comum em superfícies inanimadas e equipamentos presentes no ambiente hospitalar. Tendo em vista as grandes emergências hospitalares e a grande rotatividade de pacientes, por ser a porta de entrada dos clientes que procuram por atendimento, este estudo tem como objetivo descrever a metodologia utilizada na realização dos testes bioquímicos para a identificação em laboratório de microbiologia dos *Staphylococcus sp.* no colchão da maca. O estudo contribuirá como fonte de consulta para outros profissionais principalmente da enfermagem, que desejam investigar a presença de microrganismos em culturas, provenientes ou não de ambientes inanimados hospitalares, como também incentivar os acadêmicos e profissionais da área de saúde a desenvolverem estudos que tragam evidências para a prática profissional do enfermeiro, um saber científico, fortalecendo assim a Enfermagem.

Possibilitará, ainda a reflexão dos profissionais de saúde que em sua prática do cuidado atuam diretamente com o paciente em situações de risco sobre a contaminação do ambiente hospitalar, despertando o interesse dos profissionais para novas pesquisas para que invistam em intervenções que favoreçam a adesão de procedimentos que reduza ao mínimo o risco de infecções e os danos causados pela assistência ao paciente.

Este estudo se justifica pelo fato de que na literatura pesquisada não se identificam trabalhos na enfermagem descrevendo o desenvolvimento da técnica de cultivo em laboratório na íntegra. Identificam-se estudos que citam a realização dos testes mas não descrevem como fazê-los, evidenciando uma lacuna para o pesquisador que se interesse a pesquisar sobre microbiologia e meio ambiente hospitalar.

Os testes bioquímicos são utilizados para identificar os microrganismos que causam infecções no ambiente hospitalar. Os utilizados para identificar *Staphylococcus sp.* segundo a Anvisa são a coloração de gram, o teste de catalase, o teste de bacitracina, o teste da coagulase e o teste com novobiocina.

Material e Métodos

Trata-se de um estudo descritivo sobre os testes bioquímicos necessários para a identificação de *Staphylococcus sp.* em laboratório de microbiologia, etapa indispensável para a investigação microbiológica.

Utilizou-se 11 placas de petri com microrganismos colhidos nos colchão da maca do pronto socorro, oriundos

da coleta de dados do Trabalho de Conclusão de Curso que aborda a Investigação Microbiológica do Colchão da Maca no Pronto Socorro: Um Estudo Sobre Segurança do Paciente. As placas preparadas foram colocadas em contato diretamente com o colchão. O meio de cultura utilizado foi o *Mannitol Salt Agar* (Agar Manitol salgado) que é uma formulação concebida por Chapman (1945), é utilizado para o isolamento seletivo do gênero *Staphylococcus sp.*

No momento da coleta, as placas foram manuseadas com luvas estéreis, sobre uma toalha limpa descartável. As placas foram identificadas no fundo com etiqueta contendo: a numeração de ordem de coleta dos colchões, o quadrante colhido, a data e hora do plaqueamento. As amostras foram colhidas uma só vez do quadrante sorteado, encostando a superfície do meio de cultura no local a ser colhido, fazendo pressão uniforme no fundo da placa, por dez segundos. Para evitar qualquer tipo de contaminação foi colocada uma chama azul tipo bico de bunsen próxima ao local da coleta.

Decorrido o tempo de 24hs de incubação foi realizada a observação macroscópica da placa, que consiste na observação do aspecto colonial, tamanho, cor, bordos regulares ou irregulares e quantidade de colônias. As colônias que eram parecidas com as de *Staphylococcus sp.* foram selecionadas para fazer a coloração de Gram e os testes bioquímicos. A coloração de Gram⁵ consiste em colocar uma gota de água destilada em uma lâmina, com uma alça bacteriológica flambada no bico de Bunsen, colocar uma alçada do microrganismo e fazer um esfregaço; deixar secar e proceder à coloração da seguinte forma: com uma pipeta cobrir a lamina com cristal violeta esperar um minuto e lavar com um filete de água, fazer o mesmo procedimento com lugol, lavar com álcool e colocar safranina por mais 30 segundos.

O teste da catalase é realizado para diferenciar o gênero *Staphylococcus sp.* do *Streptococcus sp.*⁶ Com uma alça bacteriológica coleta-se o centro de uma colônia e esfrega-se em uma lâmina de vidro, colocando sobre esse esfregaço uma gota de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂ - água oxigenada) a 3% observando o desprendimento de bolhas característico de formação de oxigênio. Para a família *Staphylococcaceae* (estafilococos) a prova é geralmente positiva, enquanto que para a família *Streptococcaceae* (estreptococos) é negativa.

O teste da bacitracina é realizado para diferenciar *Staphylococcus sp.* de *Micrococcus sp.* O mais importante na identificação da família *Staphylococcaceae* é a prova da catalase, porém cocos Gram positivos como: *Micrococcus*, *Planococcus*, *Alloiococcus*, *Rothia mucilaginosa* e *Kocuria cristinae*, de pouca importância clínica, também são catalase positiva, mas podem ser diferenciados dos *Staphylococcus sp.* pelo teste da

bacitracina com disco de 0,04UI onde *Micrococcus* são sensíveis e *Staphylococcus sp.* são resistentes. Os discos são inoculados em Agar Mueller Hinton e incubados a 35° por 24 h⁶.

O teste da coagulase é utilizado para distinguir *Staphylococcus aureus* dos *Staphylococcus* não *aureus*. Consiste em juntar em um tubo de ensaio ou eppendorf 100 microlitros de plasma de sangue de coelho e uma suspensão de microrganismos (provenientes de caldo de cultura ou colônias de um meio sólido) e incubar a 37° C. A formação de coágulos às 4h, às 6 h ou às 24 h de incubação é interpretada como uma prova positiva, isto significa que são *Staphylococcus aureus*⁵. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação é uma prova negativa, significa que são *Staphylococcus sp.* coagulase negativa.

O teste com o novobiocina é usado para identificar a espécie de *Staphylococcus* coagulase negativa e os *Staphylococcus* coagulase negativa de interesse são subdivididos em dois grupos: *S. saprophyticus* e não *S. saprophyticus*, as cepas de *Staphylococcus saprophyticus* são resistentes e os não *S. saprophyticus* são sensíveis ao novobiocina.⁶ O microrganismo é semeado em placa de Muller Hinton acrescida de um disco teste de novobiocina contendo 5 µg e incubados a 35° por 24h. As amostras resistentes mostram zonas de inibição de 6 a 12 mm, enquanto as susceptíveis apresentam halos de 16 mm ou mais.

Estes são os testes utilizado no laboratório de microbiologia para identificar os *Staphylococcus sp.*

Resultados e Discussão

Após 24h de incubação foi feito a avaliação do crescimento e a contagem das colônias nas placas de petri. Semelhante a pesquisa realizada por outros autores⁷ onde foi observado o crescimento de 89% das amostras semeadas enquanto no presente estudo houve crescimento bacteriano em 100%. Foram encontradas colônias com características variadas; de tamanho pequeno, médio e grande; cor branca perolada, amarelo claro, amarelo escuro e cinza claro; aspecto brilhoso e fosco; bordas regulares e irregulares.⁷

Com relação a coloração de Gram das lâminas confeccionadas 100% deram G+, com a forma de cocos arranjo de cachos irregulares, aos pares, isolados, tetrade ou em cadeia apresentando a cor violeta semelhante a outros estudos realizados.⁸

Na literatura é descrito que o método utilizado para diferenciar dois gêneros de importância clínica é a prova da Catalase. Essa prova é importante para diferenciar as bactérias em formas de cocos denominadas *Staphylococcus sp.* dos *Streptococcus sp.*⁹ Como resultado obtido no presente estudo todas as amostras (100%) foram catalase positiva evidenciando

a presença de *Staphylococcus sp.*

Como resultado do teste da bacitracina (0,004 UI) todas as amostras (100%) foram resistentes, o que evidencia que nas amostras só havia *Staphylococcus sp.* Outros autores⁷ obtiveram resultados semelhantes em pesquisas realizadas no isolamento e identificação de microrganismos de importância médica.

No teste de coagulase, parecido com o trabalho anteriormente desenvolvido⁷ houve coagulação de 14% das amostras nas 24hs de incubação. Sendo observado assim amostras *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativa.

No teste de suscetibilidade à novobiocina as amostras deram tanto resistentes (63,5%) quanto sensíveis (36,5%); evidenciando que existem *Staphylococcus aureus*, *S. saprophyticus sp.* e não *S. saprophyticus sp.* de acordo com resultados observados em trabalhos pesquisados.⁷

A incidência de microrganismos nos colchões da maca aponta que houve contaminação microbiológica por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativa *Saprophyticus* e não *Saprophyticus* de forma disseminada em todas as macas em uso no Pronto Socorro. Este fato demonstra que as superfícies ambientais estão contaminadas e contribuem para a transmissão de infecção ao cliente. Pode-se inferir que a contaminação do colchão da maca pode levar a um dano ao paciente.

Os *Staphylococcus aureus* são capazes de sobreviver dias ou até semanas nas superfícies de ambientes de serviços de saúde.¹⁰ Os pacientes expostos a ele podem desenvolver doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras). Sabe-se que o desenvolvimento de uma infecção não depende apenas da contaminação da superfície em que o paciente é colocado. Necessita considerar a habilidade dos microrganismos permanecerem viáveis sobre superfícies secas distintas, a frequência com que eles contaminam superfícies comumente manipuladas por pacientes e profissionais de saúde, e se os níveis de contaminação são suficientemente elevados a fim de ocasionar a transmissão aos pacientes.

A prevenção e o controle de infecção devem fazer parte da filosofia da formação dos profissionais da área da saúde e do processo de educação continuada durante o exercício profissional, viabilizando a necessária atualização permanente dos profissionais.¹¹

Nos serviços de urgência e emergência os riscos inerentes à prestação da assistência de enfermagem aumentam consideravelmente o índice de infecções, visto que os profissionais e clientes são expostos a um ambiente de trabalho que facilita o surgimento de infecções cruzadas, pela grande demanda de pacientes politraumatizados, com sangramentos e eliminações.¹²

Os testes bioquímicos utilizados neste estudo são eficazes no diagnóstico de microrganismos, principalmente de *Staphylococcus sp.* Porém são necessários laboratórios específicos para a microscopia ambiental, com profissionais treinados e materiais adequados,⁶ o Laboratório de Microbiologia tem como objetivo, não apenas apontar o responsável por um determinado estado infeccioso, mas também dar condições para que se possa indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos micro-organismos que estão interagindo com o organismo humano, possibilitando a indicação de tratamentos mais adequados.

Entretanto para desempenho satisfatório dessa função, e fundamental que os laboratórios possuam estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a microbiota e os contaminantes, identificar microrganismos associados a infecção ou com propósitos epidemiológicos, obter resultados rápidos em casos de emergência.

Seria necessário oferecer uma educação continuada em relação aos protocolos de testes realizados em laboratórios, com esclarecimentos de como, quando e porque fazer.

Considerações Finais

A presença de qualquer tipo de microrganismo patogênico em superfícies hospitalares próximas ao paciente apresenta um risco à sua saúde e pode tornar-se um dano. Sendo assim, a detecção e a identificação de contaminantes microbianos fornece uma importante informação para localizar a fonte da contaminação, a implementação de ações corretivas e o conhecimento da composição da comunidade microbiana da área amostrada.

Espera-se que este artigo sirva como propulsor para que outras pesquisas venham a ser desenvolvidas por enfermeiros, pois só assim conseguiremos ampliar evidências científicas em nosso meio. Que a partir de agora a divulgação desses testes se torne mais acessível e de fácil entendimento a todos os profissionais que desejam seguir em uma pesquisa microbiológica.

Referências

1. Oliveira R, Maruyama SAT. Controle de infecção hospitalar: histórico e papel do estado. Rev. Eletr. Enf. Goiás, V.10. N°3, p. 775-83, set. 2008. Acesso em: 13 de maio/2015. Disponível em: <https://www.fen.ufg.br/fen_revista/v10/n3/v10n3a23.htm>.
2. Xavier MP, Vieira ARM, Silva ASS, Xavier MAS. ISSN 1983-4209 – Volume 09 – Número 04 – 2013 Importância do Monitoramento Ambiental em Áreas Classificadas.
3. Ferreira AM, Andrade D, Almeida MTG, Cunha KC, Rigotti MA. Colchões do tipo caixa de ovo: um reservatório de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina?. Rev Escola de Enfermagem USP, São Paulo, V.45, n°1, p 161-166, mar. 2010. Acesso em: 13 de maio/2015. Disponível em: <<https://www.ee.usp.br/reeusp/>>.

4. Rossi D, Devienne KF, Raddi MSG. Influência de fluídos biológicos na sobrevivência de *Staphylococcus aureus* sobre diferentes superfícies secas. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, São Paulo, v. 29, n.2, p. 211-214, set. 2008.
5. Vermelho, A. B. et al. *Práticas de Microbiologia*. 1º. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2006. 238 p.
6. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.* – Brasília: ANVISA, 2013. Acesso em: 20 de outubro/2015. Disponível: < <https://www.Portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/.../Modulo+003.pdf>>.
7. Rohinishree YS; Negi PS. Detection, Identification and Characterization of *Staphylococci* in Street Vend Foods. *Food and Nutrition Sciences*, 2011, v.2, p.304-313. April. 2011. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/fns/>> Acesso em: 15 de outubro/2015.
8. Daur AV, Cogo LL, Botão G D, Costa D L.M, Klimak JRF, Monteiro CLB. Sensibilidade da Coloração de GRAM no Diagnóstico Prévio Das Infecções Em Sítios Corporais Estéreis. *Rev.Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 91-94, Jul.- Dez./2004. Disponível em: <<http://www.ufpr.br/ojs/index.php/academica/article/download/551/460>>. Acesso em: 23 de outubro/2015.
9. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Lab*. Rio de Janeiro, v. 43. n° 6. p. 413-423, dez. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpl/v43n6/v43n6a05.pdf>> Acesso em: 14 de outubro/2015.
10. Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J Hosp Infect*, v. 65, p.50-54, 2007. Disponível em: <<http://www.aspjj.com/us/sites/www.aspjj.com.us/files/pdf/Environmental-contaminati-on-in-hospital-infection.pdf>>. Acesso em: 18 de outubro/2015.
11. Siton G. A visão da equipe de enfermagem a respeito da importância das ações de educação continuada para prevenção e o controle de infecção hospitalar. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, Goiás, v.1. n°1, p. 1-16, jan/jul. 2007.
12. Lima AC. A enfermagem no atendimento emergencial: riscos e medidas preventivas de infecção. *Rev. Eletrônica de Enfermagem do Centro de Estudos de Enfermagem e Nutrição*, Goiás, v.3, n°3, p. 1-16, ago/dez. 2011.