

MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO RESISTENTES AO GLUTARALDEÍDO.

GLUTARALDEHYDE RESISTANT FAST-GROWING MyCOBACTERIA

Elza Yoko Hato de Almeida Silva¹, Mario Rene de Souza²

Resumo

As micobactérias de crescimento rápido (MCR) multiplicam-se em menos de sete dias formando colônias visíveis em meio sólido, o fato de serem altamente resistentes a água, antibióticos e desinfetantes facilitam a formação de biofilmes e conseqüentemente a transmissão do patógeno, podendo causar doenças em contato com o homem. As infecções hospitalares tornaram-se uma preocupação na saúde pública, pois, além do aumento dos números de casos de infecções por micobactérias observou-se uma variabilidade dos gêneros que infectaram os equipamentos médicos causando diversas doenças de pele, tecidos, pulmonares, além de infecções no sítio cirúrgico, abscessos e nódulos. Considerado uma bactéria oportunista, acomete principalmente pessoas imunodeprimidas. É de suma importância identificar e determinar os fatores de virulência da MCR para um diagnóstico rápido e aplicação da terapia adequada. Esse trabalho de revisão tem como objetivo correlacionar os casos de surtos que ocorreram em inúmeros hospitais de diferentes estados brasileiros em relação as falhas nos procedimentos pré operatórios, que indicaram um alto número de infecções por *M. abscessus*. Onde foram utilizados materiais semicríticos e termosensíveis relacionados a procedimentos invasivos, provenientes da desinfecção de alto nível através da solução química glutaraldeído 2%. Até então, utilizado em larga escala uma vez que a finalidade do produto é eliminar os microrganismos patogênicos, por um período de tempo comprovado. O que se sabe é que diferentes concentrações do produto, o tempo inferior recomendado pelo fabricante do biocida ou falhas no processo de limpeza dos instrumentais médicos podem ter contribuído para uma ineficiente desinfecção e criado uma resistência a solução química glutaraldeído.

Palavras-chave: Micobactérias. Infecção hospitalar. Desinfetantes. *Mycobacterium rapid growth*. *Glutaraldehyde disinfectant Mycobacterium*.

Abstract

Fast growing mycobacteria (RCM) multiply in less than seven days forming visible colonies on solid media, the fact that they are highly resistant to water, antibiotics and disinfectants facilitate the formation of biofilms and consequently the transmission of the pathogen, which can cause diseases in contact with man. Nosocomial infections have become a public health concern, as, in addition to the increase in the number of cases of mycobacterial infections, there was a variability in the genders that infected medical equipment causing various skin, tissue, lung, and other infections. at the surgical site, abscesses and nodules. Considered an opportunistic bacterium, it mainly affects immunocompromised people. It is extremely important to identify and determine the virulence factors of MCR for a quick diagnosis and application of the appropriate therapy. This review work aims to correlate cases of outbreaks that occurred in numerous hospitals in different Brazilian states in relation to failures in preoperative procedures, which indicated a high number of infections by *M. abscessus*. Where semi-critical and thermosensitive materials related to invasive procedures were used, resulting from high-level disinfection using 2% glutaraldehyde chemical solution. Until then, used on a large scale since the purpose of the product is to eliminate pathogenic microorganisms, for a proven period of time. What is known is that different concentrations of the product, the shorter time recommended by the biocide manufacturer or failures

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR); eyokinha@hotmail.com

² Docente do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR); mario.rene@utp.br



in the cleaning process of medical instruments may have contributed to inefficient disinfection and created resistance to the chemical glutaraldehyde solution.

Keywords: Mycobacteria. Nosocomial infection. Disinfectants. Mycobacterium rapid growth. Glutaraldehyde disinfectant Mycobacterium.

1 Introdução

Há mais de uma década foram descritos em vários estados do país casos de infecção hospitalar por micobactérias de crescimento rápido (MCR). Resultado de procedimentos médicos invasivos, que fizeram uso de equipamentos utilizados em cirurgias variadas como a videolaparoscopia, broncoscopia entre outros. O gênero *Mycobacterium* spp. consiste em cerca de 150 espécies, muitas das quais são clinicamente significativas. Esses organismos causam morbidade significativa em humanos, incluindo infecções: pulmonares, de pele, tecidos moles e doenças disseminadas (SALEEB *et al.*, 2011). “Entre as espécies de MCR relacionadas às doenças no homem, destacam-se *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum*. Porém, essas infecções geralmente estão associadas a pessoas com fatores predisponentes ou imunocomprometidas” (SOUTO *et al.*, 2012 p2). “O patógeno humano mais importante é o *M. abscessus*, responsável por 80% dos casos de infecção pulmonar entre as MCR” (GUIMARÃES *et al.*, 2018 p141).

O glutaraldeído a 2% (GA) é um desinfetante de alto nível utilizado mundialmente, principalmente em hospitais. Aplicado em materiais cirúrgicos semicríticos e sensíveis ao calor em vários procedimentos laboratoriais e de forma rápida. Surtos de infecção relacionados aos procedimentos endoscópicos são destacados na literatura (PSALTIKIDIS *et al.*, 2014), levantando a hipótese de falhas no processo de limpeza e desinfecção dos materiais cirúrgicos.

O objetivo deste trabalho é avaliar através da revisão de artigos publicados, a ação da atividade de isolados de *Mycobacterium* de crescimento rápido resistente ao desinfetante químico glutaraldeído a 2%. Uma vez que foi utilizado o biocida em todos os hospitais que tiveram casos confirmados.

2 Metodologia

Foi realizado uma revisão de artigos científicos no período de agosto a novembro de 2021 após análise eletrônica nas seguintes bases de dados: GOOGLE ACADÊMICO, PUBMED, SCIELO e SCIENCE DIRECT. Os trabalhos analisados abrangeram os últimos 11 anos (2010 a 2021), inclusos em bases de dados internacionais e nacionais. Com os seguintes descritores: Micobactérias, Infecção hospitalar, Desinfetantes, *Mycobacterium rapid growth*, *Glutaraldehyde disinfectant Mycobacterium*.



3 Discussão

No Brasil, em diferentes estados foram registrados surtos por MCR com incidência maior no estado do Rio de Janeiro entre 2006 a 2007, seguido pelo Pará, Espírito Santo, Rio Grande do Sul e Goiás (WILDNER *et al.*, 2012). As infecções ocorreram em pacientes que foram submetidos a procedimentos invasivos em hospitais, onde os médicos fizeram uso de equipamentos desinfetados pela solução glutaraldeído a 2%. “A Rede Nacional de Investigação de Surtos e Eventos Adversos em Serviços de Saúde (Reniss) confirmou a ocorrência de infecções pós-cirúrgicas por MCR representados por *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum*” (SOUTO *et al.*, 2012 p2).

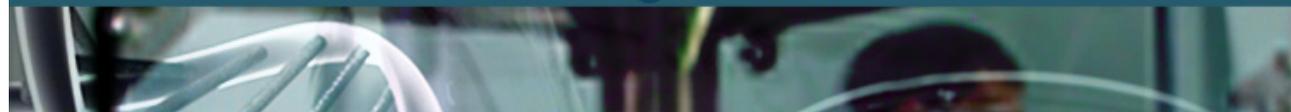
Atualmente as infecções hospitalares (IH) representam um dos mais importantes problemas de saúde pública, sendo uma das principais causas de mortalidade, morbidade e aumento de custos hospitalares (BARBOSA E SARTORI, 2011). A presença de biofilmes de microrganismos, potencialmente patogênicos para o homem, em unidades hospitalares podem funcionar como reservatórios representando um aumento do risco de infecção (BANDEIRA *et al.*, 2018). Uma vez que esses microrganismos podem aderir na superfície de artigos médicos criando resistência bacteriana.

A correta identificação destas micobactérias, bem como o conhecimento da sua patogenicidade e interação com o hospedeiro humano, contribuirão para o estabelecimento de terapias mais eficazes (SOUSA, 2014).

3.1 Micobactérias

Micobactérias são microrganismos que apresentam forma bacilar, delgados, retos ou ligeiramente curvos, aeróbios, imóveis e incapazes de formar esporos, conídeos ou cápsulas (WILDNER *et al.*, 2011). Podendo ser classificados em dois grupos de acordo com a taxa de crescimento em meio sólido e com a morfologia da colônia, virulência e sensibilidades a antibióticos e biocidas (SABAGH *et al.*, 2012). Sendo eles as micobactérias de crescimento lento e as micobactérias de crescimento rápido. Em condições adequadas *Mycobacterium* spp. de crescimento rápido (MCR), formam colônias visíveis a olho nu, podendo ser pigmentadas ou não e crescem em até 7 dias de incubação em meios sólidos (NASCIMENTO E SENA, 2017). É rico em lipídio sendo responsável pela elevada hidrofobicidade da parede e pela característica tintorial de resistência à descoloração por soluções álcool-ácidas, sendo designadas como bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). (MOURA *et al.*, 2012). A presença de BAAR é confirmada pela técnica de coloração de Ziehl-Neelsen.

As micobactérias de crescimento rápido, também são conhecidas como: micobactérias ambientais, atípicas ou não causadoras de tuberculose. Constituídas por microrganismos saprófitos presentes no solo, água e poeira capazes de sobreviver a condições extremas de nutrientes, pH e temperatura pela formação de biofilmes (CARVALHO *et al.*, 2012). O que torna difícil a eliminação, uma vez que podem se tornar resistentes ao processo de limpeza dos equipamentos e ainda criar resistência aos desinfetantes como no caso do glutaraldeído a 2%. São descritos como



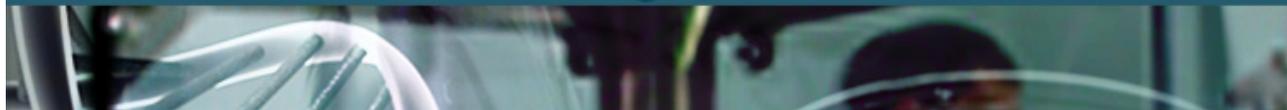
raros patógenos oportunistas envolvidos em infecções nosocomiais e pseudo-surtos, devendo ser considerado importante grupo de bactérias com crescente importância patológica (LORENA *et al.*, 2010). No indivíduo pode-se intensificar a patogenicidade da infecção devido a resistência aos antibióticos, tornando o sistema imune incapaz de combater o patógeno. Estas bactérias são frequentemente responsáveis pela colonização/infecção do trato respiratório, infecções relacionadas com procedimentos médicos e infecções disseminadas em pacientes imunocomprometidos (BANDEIRA *et al.*, 2018).

Mycobacterium abscessus é uma MCR acromógena e apresenta colônias com morfologia rugosa e lisa (CARVALHO *et al.*, 2012), responsável por aproximadamente 80% dos casos de infecções pós operatórias e o mais patogênico relacionado a multirresistência. Onde pacientes imunodeprimidos ficam mais expostos, podendo gerar infecções na pele, em tecidos moles e doença pulmonar especialmente em pacientes com fibrose cística (SOUSA, 2014). Atualmente, essa espécie é dividida em duas subespécies: *M. abscessus* subespécie *abscessus* e *M. abscessus* subespécie *bolletii* (CARVALHO *et al.*, 2012). *M. abscessus* subsp. *bolletii* está associado nos casos de infecções hospitalares que ocorreram em diferentes estados brasileiros por falhas no processo de limpeza e desinfecção dos instrumentos médicos, resistentes ao glutaraldeído (MOURA *et al.*, 2012).

Após os primeiros casos que ocorreram em meados de 2004 na cidade de Belém do Pará, outros surtos por MCR surgiram em outros estados brasileiros como: Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Goiás, São Paulo entre outros, associados a procedimentos invasivos (DIAS, 2017). No estado do Rio de Janeiro foram notificados vários hospitais entre agosto de 2006 a julho de 2007, apresentando alta taxa de ocorrências em infecções pós operatórias, atribuídos principalmente aos procedimentos de videolaparoscopia afetando a pele e o tecido subcutâneo. Como agravante não houve resposta ao tratamento antimicrobiano padrão no combate a formação de abscessos, lesões sólidas e as feridas nos sítios da incisão (DIAS, 2017). “Isolados representativos provaram ser geneticamente relacionados e foram identificados como um único clone, denominado BRA100” (NUNES *et al.*, 2014 p.3). BRA100 é uma cepa conhecida pela sua resistência ao glutaraldeído (GTA) mesmo em altas concentrações, os isolados do clone BRA 100 são capazes de sobreviver após os 30 minutos de exposição ao GTA a 2% reforçando a ineficácia e contribuindo assim para a disseminação das MCR resistentes a esse biocida em hospitais de diferentes regiões do país.

Outras micobactérias em destaque são: *M. chelonae* associado a infecções pós cirúrgicas em valvas cardíacas artificiais e próteses (SILVA *et al.*, 2015) e *M. fortuitum* associado em infecções dos pulmões, articulações, da pele e gânglios linfáticos (MAIA *et al.*, 2018). Ambas podendo ser controladas por imunidade inata (SHANG *et al.*, 2011).

Embora *M. chelonae* e *M. abscessus* sejam as espécies mais frequentemente isoladas em infecções, o grupo *M. abscessus* é mais resistente a antibióticos e desinfetantes (ROCCHETTI *et al.*, 2017) e requer imunidade adaptativa para um controle eficaz da infecção. “Após a infecção, pouco se sabe sobre a resposta imune do hospedeiro e o que permite que a MCR persista nos tecidos do hospedeiro” (SHANG *et al.*, 2011 p2).



O que dificulta o tratamento dessas micobacterioses, pois, são naturalmente resistentes levando a combinações de dois ou mais fármacos, visando evitar a seleção de cepas resistentes (WILDNER *et al.*, 2011).

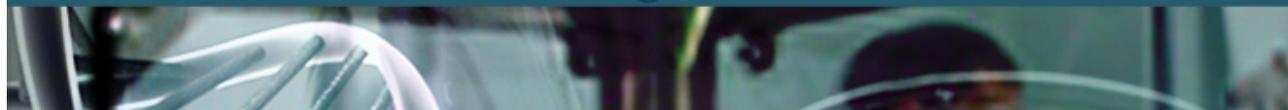
3.2 Glutaraldeído

“O glutaraldeído continua sendo um dos desinfetantes de alto nível mais amplamente usado em todo o mundo” (BURGESS *et al.*, 2017 p1). Como nas indústrias de cosméticos, alimentos, aves, couro, sistema de tratamento de água, odontologia e hospitais (PEREIRA *et al.*, 2021) na desinfecção de artigos médicos semi- críticos (que entram em contato com as camadas da pele ou mucosas íntegras) e sensíveis ao calor, cuja concentração indicada é de 2% com um tempo de exposição de 30 minutos. São definidos como produtos que destroem todos os microrganismos em um período de tempo comprovado, exceto um número elevado de esporos bacterianos (SOUTO, 2011). O glutaraldeído é um dialdeído que apresenta rápida e efetiva ação, além de um grande espectro de atividade contra bactérias gram-positivas e negativas, esporos bacterianos, micobactérias, alguns fungos e vírus (BARBOSA E SARTORI, 2011). Seu principal mecanismo de ação ocorre através da reação cruzada com proteínas da superfície celular e da inibição da síntese de DNA, RNA e outras macromoléculas presentes no microrganismo (SOUTO, 2011).

“Os desinfetantes com glutaraldeído são pouco micobactericidas e requerem tempos de exposição impraticavelmente longos para matar as bactérias formadoras de esporos” (MINER *et al.*, 2010 p1). Contribuindo na formação de biofilmes em instrumentais cirúrgicos que foram submetidos a imersão do biocida, não ocorrendo a desinfecção e facilitando a transmissão do patógeno que disseminam os microrganismos através da fragmentação de partes do biofilme, então as bactérias se difundem pela passagem de fluídos (LIMA, 2010).

Como já relatado anteriormente, os surtos epidêmicos que ocorreram no Brasil por MCR estão fortemente relacionadas às falhas no reprocessamento de instrumentais cirúrgicos (CABRAL, 2011), como exemplos os equipamentos de videolaparoscopia e broncoscopia. Uma limpeza meticulosa deve proceder qualquer esterilização ou desinfecção de alto nível desses instrumentos e todas as etapas químicas e físicas devem ser realizadas por profissionais habilitados (BARBOSA *et al.*, 2010). “A contaminação por *M. abscessus* subsp. *bolletii* nos surtos, provavelmente foi devido à sobrevivência atípica desse microrganismo em diferentes ambientes, sua resistência à biocidas e sua capacidade de formar biofilmes” (SOUTO, 2011). Foi destacado através de relatórios o potencial de micobactérias não tuberculosas desenvolver resistência de alto nível ao produto (BURGESS *et al.*, 2017). Uma vez que esses materiais foram submetidos ao processo de desinfecção pela solução química glutaraldeído 2% entre uma cirurgia e outra.

A habilidade das micobactérias de crescimento rápido para sobreviver e multiplicar-se em fluidos aquosos e em alguns desinfetantes (como o glutaraldeído) as torna em potencial risco hospitalar (WILDNER *et al.*, 2011). “Limpeza prévia, uso de germicidas em concentrações e pH



adequados e contato direto do germicida com o equipamento de acordo com o período de tempo recomendado pelo fabricante são rigorosamente observados” (BARBOSA *et al.*, 2010 p4), são parâmetros indispensáveis para uma desinfecção adequada.

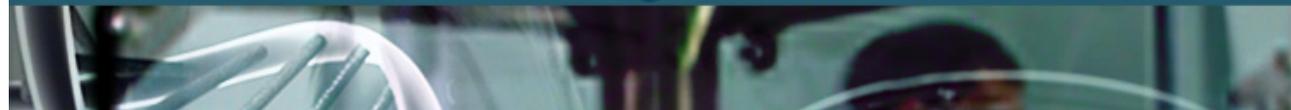
Conclusão

Conclui-se através da revisão de diversos artigos no âmbito nacional e internacional as dificuldades nos processos de limpeza, desinfecção e até esterilização de instrumentais cirúrgicos, que culminaram em surtos de micobactérias de crescimento rápido, indicando resistência ao desinfetante glutaraldeído.

Tais falhas nos processos poderiam ter sido evitados, se houvesse um controle de qualidade mais rígido por conta da instituição hospitalar, a fim de garantir a qualidade dos procedimentos. Um treinamento adequado aos profissionais envolvidos, além de protocolos nos processos de lavagem, inspeção de limpeza e desinfecção dos materiais, a diluição do agente químico glutaraldeído respeitando o tempo indicado para exposição do produto sobre o instrumental cirúrgico e o controle da validade do biocida. Além da implantação de métodos que permitam a rastreabilidade dos procedimentos realizados e dos materiais utilizados, culminando em uma rápida detecção do problema e sua resolução. A substituição da solução glutaraldeído por outra solução de maior potencial biocida também é uma possibilidade, visando reduzir as infecções hospitalares.

Referências

- BANDEIRA, M; *et.al.* Biofilms, nontuberculous mycobacteria and infection. *Instituto Nacional de Saúde, Portugal*, vol. 10, pg. 45-49, 2018.
- BARBOSA, J.M; *et.al.* Endoscope reprocessing using glutaraldehyde in endoscopy services of Goiânia, Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, vol. 47, n. 3, 2010.
- BARBOSA, L.S; SARTORI, M.R.K. Methods of sterilization for hospital items effective Against nontuberculous rapidly growing mycobacteria. *Cadernos da escola de saúde*. Curitiba, vol. 5, pg. 136-153, 2011.
- BURGESS, W; *et.al.* Disinfectant Susceptibility Profiling of Glutaraldehyde-Resistant Nontuberculous Mycobacteria. *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 38, pg. 784–791, 2017.
- CABRAL, D.B; ANDRADE D. Micobactérias não tuberculosas em cirurgias: desafio passível de enfrentamento no Brasil? *Acta Paulista de Enfermagem*, vol. 24, n. 5, 2011.
- DIAS, P.G.F. Avaliação da atividade micobactericidas de desinfetantes de alto nível registrados e comercializados no Brasil. *Fiocruz*, Rio de Janeiro, 49f. 2017.
- GUIMARÃES, L.B; *et.al.* Infecção pulmonar por micobactéria não tuberculosa em paciente imunocompetente. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, vol. 22, n. 1, pg. 141, 2018.
- LIMA, J.M.M.R. Formação de biofilmes com cepas de micobactérias de crescimento rápido de fenótipos liso e rugoso. *USP*, São Paulo, 72f, 2010.
- LORENA, N.S.O; *et.al.* Mycobacterium massiliense BRA100 strain recovered from postsurgical infections: resistance to high concentrations of glutaraldehyde and alternative solutions for high level disinfection. *Acta Cirúrgica Brasileira*, Rio de Janeiro, vol. 25, n. 5, pg. 455-459, 2010.
- MAIA, C.S; *et.al.* Infecções pós cirúrgicas por micobactérias não tuberculosas. *Conbracis*, Pernambuco, 10 f, 2018.
- MINER, N; *et.al.* Aldahol high-level disinfectant. *American Journal of Infection Control*, vol. 38, pg. 205-211, 2010.



- MOURA, V.C.N; *et.al.* Phenotypic and molecular characterization of quinolone resistance in *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* recovered from postsurgical infections. *Journal of Medical Microbiology*, vol.61, pg. 115–125, 2012.
- NASCIMENTO, I.R; SENA, T.L. Biofilmes bacterianos: Colonização e identificação de micro-organismos causadores de infecção em cateter venoso central. *Pesquisa Iniciação Científica*, Brasília, pg. 05-11, 2017.
- NUNES, L.S; *et.al.* Outbreaks due to *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* in southern Brazil: persistence of a single clone from 2007 to 2011. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 63, n. 10, pg. 1288–1293, 2014.
- PEREIRA, B.M.P; *et.al.* Disinfectant Susceptibility Profiling of Glutaraldehyde-Resistant Nontuberculous Mycobacteria. *Infect Control Hosp. Epidemiol.* vol, 38, pg. 784-791, 2017.
- PSALTIKIDIS, E.M; *et.al.* Desinfetante de alto nível alternativos ao glutaraldeído para processamento de endoscópicos flexíveis. *Cogitare Enferm.*, vol. 19, n. 3, pg. 465-474, 2014.
- ROCCHETTI, T.T; *et.al.* Detection of *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium abscessus* Group, and *Mycobacterium fortuitum* Complex by a Multiplex Real-Time PCR Directly from Clinical Samples Using the BD MAX System. *The Journal of Molecular Diagnostics*, vol. 19, n. 2, pg 295-302. 2017.
- SABAGH, B.P; *et.al.* Comparative study with two different enrichments in the culture media used in the disinfectant efficacy assay. *Journal of Microbiological Methods*, vol. 88, n. 2, pg 255-262, 2012.
- SALEEB, P.G; *et.al.* Identification of Mycobacteria in Solid-Culture Media by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 49, n. 5, 2011.
- SENNA, S.G; *et.al.* Identificação de micobactéria não tuberculosas isoladas de sítios estéreis em pacientes em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Rio de Janeiro, vol. 37, n. 4, 2011.
- SHANG, S; *et.al.* Increased Virulence of an Epidemic Strain of *Mycobacterium massiliense* in Mice. *Journals Plos One*, 4f, 2011.
- SILVA, D.K; *et.al.* Reconhecendo micobactérias atípicas não tuberculosas. *Universalidade do conhecimento científico*, Santos, 2015.
- SOUSA, S.D.F. Estudo do papel da imunidade inata nas infecções por micobactérias. *Repositório da Universidade de Lisboa*, Portugal, pg. 01-39, 2014.
- SOUTO, A.S.S. Avaliação da suscetibilidade de *Mycobacterium massiliense* isolados de surto epidêmico de infecções de sítio cirúrgico em hospitais do Rio de Janeiro frente a desinfetantes. *Fiocruz*, Rio de Janeiro, 88f. 2011.
- SOUTO, A.S.S; *et.al.* Tolerance of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* to high-level disinfectants. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, vol.71, no.2, pg. 362-371, 2012.
- WILDNER, L.M; *et.al.* Micobactérias Epidemiologia e Diagnóstico. *Revista de Patologia Tropical*. Santa Catarina, vol. 40, n. 3, pg. 207-229, 2011.

AGRADECIMENTO

Agradeço imensamente meus colegas de curso e docentes do curso de biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná, especialmente ao meu orientador Mario Rene de Souza pelos ensinamentos, incentivos ao longo da jornada acadêmica e na orientação e correções deste trabalho. E a professora Luciana Novacki pela colaboração científica.

Ao meu esposo e filhas todo meu amor e gratidão pelo apoio, incentivo e compreensão durante os anos dedicados aos estudos. Obrigada pai, mãe e irmã pela base familiar, carinho e amor incondicional.