

Avaliação do desempenho de placas de ágar suplementadas com antibiótico na detecção de bactérias multirresistentes

Performance evaluation of antibiotic-supplemented agar plates in the detection of multidrug-resistant bacteria

Evaluación del rendimiento de placas de ágar suplementadas con antibióticos en la detección de bacterias multirresistentes

Rômulo Carvalho Vaz de Mello^{1*}, Ana Clara Martins Quirino¹, Carolina Da Mata Mesquita¹, Isabella Gonçalves Oliveira¹, Maria Fernanda Teixeira Peres Machado¹, Marina Méscolin Reis de Paula¹.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o desempenho de placas de ágar suplementadas com antibióticos na detecção de bactérias multirresistentes, com intuito de utilizar este método em culturas de vigilância microbiológicas. **Métodos:** Foram selecionadas 160 amostras de colônias bacterianas, contendo cocos gram-positivos e bastonetes gram-negativos, fermentadores e não fermentadores, sensíveis e multirresistentes a antimicrobianos, que foram semeadas nos meios de cultura suplementados com antibióticos e posteriormente foi avaliada a presença ou ausência de crescimento bacteriano. **Resultados:** Foi evidenciado o crescimento de todos os microrganismos multirresistentes nas placas de ágar suplementadas e ausência de crescimento dos microrganismos sensíveis a antimicrobianos, porém com menos tempo de detecção e menos custo por análise. **Conclusão:** O método em estudo apresentou concordância de 100% frente ao método de referência previamente utilizado. Considerando o excelente desempenho, associado a redução de tempo de detecção e diminuição do custo da abordagem, apresenta-se como importante solução para utilização em culturas de vigilância microbiológicas.

Palavras-chave: Antibacterianos, Avaliação de desempenho, Contagem de colônia microbiana, Infecção hospitalar.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the performance of agar plates supplemented with antibiotics in the detection of multidrug-resistant bacteria, in order to use this method in microbiological surveillance cultures. **Methods:** 160 samples of bacterial colonies were selected, containing gram-positive cocci and gram-negative rods, fermenting and non-fermenting, sensitive and multiresistant to antimicrobials, which were seeded in the culture media supplemented with antibiotics and later the presence or absence was evaluated of bacterial growth. **Results:** The growth of all multidrug-resistant microorganisms on the supplemented agar plates and the absence of growth of antimicrobial-sensitive microorganisms were evidenced, but with less detection time and less cost per analysis. **Conclusion:** The method under study showed 100% agreement with the previously used reference method. Considering its excellent performance, associated with reduced detection time and reduced cost of the approach, it presents itself as an important solution for use in microbiological surveillance cultures.

Keywords: Antibacterials, Performance evaluation, Microbial colony count, Hospital infection.

¹ Faculdade de Medicina de Barbacena (FUNJOBE), Barbacena - MG. *E-mail: romulomello888@gmail.com

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el desempeño de placas de agar suplementadas con antibióticos en la detección de bacterias multirresistentes, con el fin de utilizar este método en cultivos de vigilancia microbiológica. **Métodos:** se seleccionaron 160 muestras de colonias bacterianas, que contenían cocos grampositivos y bacilos gramnegativos, fermentadores y no fermentadores, sensibles y multirresistentes a los antimicrobianos, las cuales se sembraron en los medios de cultivo suplementados con antibióticos y posteriormente se determinó la presencia o ausencia. evaluado del crecimiento bacteriano. **Resultados:** Se evidenció el crecimiento de todos los microorganismos multirresistentes en las placas de agar suplementadas y la ausencia de crecimiento de microorganismos sensibles a los antimicrobianos, pero con menor tiempo de detección y menor costo por análisis. **Conclusión:** El método en estudio mostró un 100% de concordancia con el método de referencia utilizado anteriormente. Teniendo en cuenta su excelente desempeño, asociado con un tiempo de detección reducido y un costo reducido del enfoque, se presenta como una solución importante para su uso en cultivos de vigilancia microbiológica.

Palabras clave: Antibacterianos, Evaluación de desempeño, Conteo de colonias microbianas, Infección hospitalaria.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que milhões de casos de infecções ocorrem todos os dias, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, com diferentes níveis de gravidade, consequências e importante impacto nos sistemas de saúde das federações. As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são causadas por microorganismos resistentes a múltiplos antimicrobianos, adquiridas após a admissão do paciente em âmbito hospitalar e que têm seu aparecimento durante a internação ou após a alta (GAEDICKE FL, 2018).

A gravidade e a extensão das doenças causadas por esses patógenos variam de acordo com o estado imunológico do paciente e da prevalência local dos mesmos no ambiente hospitalar em que são encontrados (TAUFER J, et al., 2019). Sua importância é tamanha que, após um início de século no qual o controle das infecções parecia que ficaria em segundo plano, as principais organizações de saúde pública globais, OMS e Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), passaram a se dedicar com mais intensidade ao estudo e elaboração de políticas de controle desses quadros (OPAS, 2021).

Em 2004, o Brasil passou a adotar a Aliança Mundial para Segurança do Paciente, criada pela OMS e com abrangência internacional, declarando seu comprometimento no combate contra as IRAS. Deste então, a discussão e dimensão desta temática veio aumentando significativamente (SILVA LD, 2012).

Ainda hoje as IRAS representam um problema de saúde global. Nos Estados Unidos, estima-se que cerca de dois milhões de IRAS ocorram por ano, com uma despesa de, no mínimo, 17 a 29 bilhões de dólares e cerca de 60 e 90 mil mortes. Em média, de 5% a 15% de todos os pacientes internados desenvolvem IRAS, sendo que pacientes em países de baixa renda apresentam uma probabilidade cerca de duas vezes maior de infecção frente a pacientes em países de alta renda (DA SILVA GA, VIEGAS AM, 2019).

Nesse cenário, a possibilidade de aumento da morbidade e da mortalidade está diretamente relacionada ao difícil tratamento, consequente ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, seja humano ou veterinário, com grande impacto na letalidade hospitalar, aumento do tempo de internação dos pacientes, e aumentos dos custos hospitalares, representando grave ameaça para a saúde pública (MONTEIRO RFS, et al., 2020).

As culturas de vigilância microbiológicas têm sido utilizadas em unidades hospitalares com o objetivo de diagnosticar pacientes colonizados ou infectados por bactérias multirresistentes, que são reservatórios para disseminação desses microrganismos, auxiliando no monitoramento do aparecimento dessas bactérias e contribuindo para a execução de medidas preventivas que minimizem a ocorrência de IRAS (LIMA VS, 2018).

O método para a realização das culturas de vigilância microbiológica segue o processo padrão dos laboratórios de microbiologia, mediante a coleta de amostras de swab de nasofaringe, axila e região retal, e posterior plantio em placas de ágar convencionais. A semeadura das amostras em placas de ágar suplementadas com antibióticos inibem o crescimento de bactérias sensíveis aos antimicrobianos convencionais e podem servir como meio de triagem para identificação das bactérias multirresistentes. Após um período de 24 a 48 horas, se houver o crescimento bacteriano, essas bactérias são identificadas por métodos bioquímicos, e o perfil de susceptibilidade determinado pela realização de antibiograma pelo método do disco de difusão, levando mais um período de 24 a 48 horas para finalizar (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2013).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho de placas de ágar suplementadas com antibióticos na detecção de bactérias multirresistentes, com a finalidade de se utilizar este método em culturas de vigilância microbiológicas, buscando-se a redução do tempo de detecção e do custo acarretado com essa abordagem.

MÉTODOS

Para o estudo foram selecionadas 160 amostras de colônias bacterianas de culturas microbiológicas provenientes do setor de microbiologia do setor técnico de um laboratório na região centro sul de Minas Gerais. As colônias bacterianas foram previamente identificadas pelo método convencional, com semeadura em placas de ágar, e cerca de 48 horas após o crescimento bacteriano, submetidas a identificação através de provas bioquímicas, e avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos pelo método de disco de difusão, o que consumiu, em média mais outras 24 horas.

Desse total, foram selecionadas quarenta amostras de *Staphylococcus*, sendo vinte amostras de *Staphylococcus aureus*, dez sensíveis e dez multirresistentes e vinte amostras de *Staphylococcus coagulase* negativa, também dez sensíveis e dez multirresistentes, sendo a multirresistência definida pela resistência ao disco de oxacilina. Além dos cocos gram-positivos, foram selecionados ainda mais 120 amostras de bastonetes gram-negativos, fermentadores e não fermentadores, consistindo em vinte mostras de *Acinetobacter* sp., vinte de *Pseudomonas* sp., vinte de *Klebsiella* sp., vinte de *Escherichia coli*, e outras quarenta amostras de outros Bastonetes Gram-Negativos (BGN) de interesse.

Todas as espécies foram selecionadas respeitando a proporção de metade das colônias bacterianas sensíveis e a outra metade multirresistente. A multirresistência para os bastonetes gram-negativos foi definida pela detecção da produção, pela colônia bacteriana, das enzimas beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) pelo teste de aproximação de discos de antimicrobianos (amoxicilina-clavulanato, cefazidima, ceftriaxone, cefepime e aztreonam) e carbapenemase, pelo método de Hodge modificado (ANVISA, 2008).

As colônias de cocos gram-positivos foram semeadas em placas de Ágar Sangue suplementadas com 6 mcg/mL de Oxacilina, e as de bastonetes gram-negativos, em placas de Ágar MacConkey suplementadas com 3 mcg/dL de Cefazidima, especialmente produzidas para este fim, por uma empresa química e farmacêutica, da região centro-sul de Minas Gerais, conforme protocolo elaborado pela empresa.

Todas as análises foram realizadas no setor de microbiologia de um laboratório na região centro sul de Minas Gerais por dois observadores com graduação em nível superior e experiência na área de microbiologia. Análises discordantes entre os pares foram refeitas por um terceiro observador, que definiu o resultado de acordo com o abono de sua análise e uma das leituras dos primeiros observadores.

Na detecção da presença ou da ausência de crescimento dos microrganismos nos meios de cultura suplementados com antibióticos, os resultados foram classificados como "concordantes" ou "não-concordantes" frente ao método de referência, sendo os "concordantes" evidenciados pelo crescimento nas placas de ágar dos microrganismos multirresistentes, e pela ausência de crescimento dos microrganismos sensíveis aos antibióticos utilizados. Os resultados "não-concordantes", por sua vez, apresentaram resultado oposto ao esperado. Foi calculado o valor de Kappa para avaliação do grau de concordância entre os resultados obtidos versus o resultado esperado.

Foi avaliada também a estabilidade das placas de Ágar suplementadas com antimicrobianos através da colocação de uma placa estéril de Ágar Sangue suplementado e uma placa estéril de ágar MacConkey suplementado em estufa microbiológica de trabalho e avaliação da persistência da esterilidade em dias. O período mínimo de esterilidade a ser obtido é de 10 dias.

A reprodutibilidade dos resultados foi feita através da semeadura de uma mesma colônia de *Staphylococcus aureus* sensível e outra multirresistente em 10 placas de Ágar Sangue suplementado com oxacilina e através da semeadura de uma mesma colônia de *Klebsiella pneumoniae* sensível e outra multirresistente em 10 placas de Ágar MacConkey suplementado com ceftazidima.

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o “software” STATA®, versão 9.2. A análise do grau de concordância entre os resultados das amostras foi realizada pelo teste Kappa, com cálculo do valor de p. Foi considerado como grau de concordância “Fraco” um índice de Kappa inferior a 0,4. Grau de concordância “Moderado” com Kappa entre 0,4 e 0,7 e o grau “Forte” será considerado com Kappa superior a 0,7. O limiar de significância estatística utilizado foi de 5%. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob número do parecer 5.019.756 e CAAE número 52330221.0.0000.8307.

RESULTADOS

Após a análise dos resultados, foi determinado que houve crescimento de todas as colônias de cocos gram-positivos e bastonetes gram-negativos multirresistentes nas placas de ágar suplementadas com antibióticos. Da mesma forma, nenhuma das colônias bacterianas classificadas como sensíveis apresentou crescimento, conforme pode ser observado na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Percentual de crescimento das diversas espécies bacterianas nas placas suplementadas com antibióticos.

Espécie bacteriana	N	Crescimento
<i>Staphylococcus aureus</i> sensíveis	10	0%
<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes	10	100%
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> sensíveis	10	0%
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> resistentes	10	100%
<i>Acinetobacter sp.</i> sensíveis	10	0%
<i>Acinetobacter sp.</i> resistentes	10	100%
<i>Pseudomonas sp.</i> sensíveis	10	0%
<i>Pseudomonas sp.</i> resistentes	10	100%
<i>Klebsiella sp.</i> sensíveis	10	0%
<i>Klebsiella sp.</i> resistentes	10	100%
<i>Escherichia coli</i> sensíveis	10	0%
<i>Escherichia coli</i> resistentes	10	100%
Outros bastonetes gram negativos sensíveis	20	0%
Outros bastonetes gram negativos resistentes	20	100%

Fonte: Mello RCV, t al., 2022.

A taxa de concordância observada entre o método avaliado (presença ou ausência de crescimento em placas suplementadas com antibiótico) e o método de referência (crescimento em meios de cultura convencionais seguido de identificação bioquímica e avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos) foi de 100%, mostrando a perfeita correlação entre os métodos, conforme pode ser evidenciado na **Tabela 2**.

Tabela 2- Percentual de concordância entre os dois métodos analisados

Espécie bacteriana	N	Percentual de concordância
<i>Staphylococcus aureus</i> sensíveis	10	100
<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes	10	100
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> sensíveis	10	100
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> resistentes	10	100
<i>Acinetobacter sp.</i> sensíveis	10	100
<i>Acinetobacter sp.</i> resistentes	10	100
<i>Pseudomonas sp.</i> sensíveis	10	100
<i>Pseudomonas sp.</i> resistentes	10	100
<i>Klebsiella sp.</i> sensíveis	10	100
<i>Klebsiella sp.</i> resistentes	10	100
<i>Escherichia coli</i> sensíveis	10	100
<i>Escherichia coli</i> resistentes	10	100
Outros bastonetes gram negativos sensíveis	20	100
Outros bastonetes gram negativos resistentes	20	100

Fonte: Mello RCV, et al., 2022.

A análise estatística evidenciou a perfeição da correlação entre os métodos, sendo obtido índice de Kappa igual a 1.0000 com valor de $p < 0,0001$ para todas as análises, conforme pode ser observado na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Índice de Kappa da correlação entre os métodos

Espécie bacteriana	N	Resistentes	Sensíveis	Kappa	Erro	P
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
<i>Staphylococcus coagulase</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
<i>Acinetobacter sp.</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
<i>Pseudomonas sp.</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
<i>Klebsiella sp.</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
<i>Escherichia coli</i>	20	10	10	1.0000	0.2236	<0.0001
Outros BGN	40	20	20	1.0000	0.1581	<0.0001
Total	160	80	80	1.0000	0.0791	<0.0001

Fonte: Mello RCV, et al., 2022.

O teste de esterilidade das placas de ágar suplementadas evidenciou persistência da esterilidade das placas pelo período mínimo de dez dias.

Já o teste de reprodutibilidade realizado através da semeadura de uma mesma colônia de *Staphylococcus aureus* sensível e outra multirresistente, em dez placas de Ágar Sangue suplementado com oxacilina e através da semeadura de uma mesma colônia de *Klebsiella pneumoniae* sensível e outra multirresistente em dez placas de Ágar MacConkey suplementado com ceftazidima mostrou reprodutibilidade de 100%, sendo as colônias multirresistentes tiveram crescimento em todas as placas analisadas, e as colônias sensíveis não obtiveram crescimento em nenhuma das placas.

A **Tabela 4** mostra os níveis de sensibilidade, especificidade, exatidão, Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN) do método em estudo frente ao método de referência, obtidos após a análise para cada uma das espécies bacterianas presentes no estudo. Devido à perfeita correlação entre os métodos analisados, todos os parâmetros alcançaram valores máximos, de 100%.

Tabela 4 - Nível de desempenho do método em estudo frente ao método de referência para cada uma das espécies bacterianas.

Espécie	N	Sensibilidade	Especificidade	Exatidão	VPP	VPN
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		(69,15-100)	(83,15-100)	(69,15-100)	(69,15-100)	(69,15-100)
<i>Staphylococcus coagulase</i>	20	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		69,15-100	69,15-100	83,15-100	69,15-100	69,15-100
<i>Acinetobacter sp</i>	20	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		69,15-100	69,15-100	83,15-100	69,15-100	69,15-100
<i>Pseudomonas sp.</i>	20	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		69,15-100	69,15-100	83,15-100	69,15-100	69,15-100
<i>Klebsiella sp.</i>	20	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		69,15-100	69,15-100	83,15-100	69,15-100	69,15-100
<i>Escherichia coli</i>	40	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		83,15-100	83,15-100	91,19-100	83,15-100	83,15-100
Outros bastonetes gram -	20	100%	100%	100%	100%	
IC 95%		69,15-100	69,15-100	83,15-100	69,15-100	69,15-100
Total	160	100%	100%	100%	100%	100%
IC 95%		95,49-100	95,49-100	97,72-100	95,49-100	95,49-100

Fonte: Mello RCV, et al., 2022.

DISCUSSÃO

As IRAS são causa de grande preocupação em instituições de saúde de todo o mundo e também no Brasil. A média mundial do índice de infecção entre os pacientes internados oscila entre 5 e 15%, sendo maior nos países de baixa renda. Na Europa, estima-se que ocorram anualmente quase 9 milhões de casos nas unidades de cuidados agudos e prolongados, conforme pesquisa de prevalência elaborada pelo Centro Europeu para Controle e Prevenção de Doenças. Além disso, dados prévios demonstram que naquele continente houve um total de 501 anos de vida perdidos por incapacidade, ajustados por 100.000 pessoas, e ainda, mais de 90.000 óbitos por ano (TARTARI E, et al., 2021).

No Brasil, dispomos de uma única referência sobre o tema, em estudo realizado em hospitais terciários, no qual foi encontrado um índice bastante elevado de infecções, de aproximadamente 15% (ARAÚJO PC, et al., 2018). Nesse contexto, vem sendo observado um aumento da incidência de infecções por bactérias multirresistentes no Brasil e em todo o mundo, de acordo com a Sociedade Brasileira de Microbiologia e a OPAS (OPAS, 2021). Estima-se que cerca 50% das infecções de sítio cirúrgico são provocadas por bactérias resistentes (MARINHO MGL, et al., 2022). As bactérias contribuem com aproximadamente 95% dos casos de IRAS (ANDRADE CR, et al., 2021).

Segundo a OMS, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* são classificadas como as bactérias de prioridade crítica de resistência a antimicrobianos (FILHO FSS, 2020). Anualmente 700 mil óbitos no mundo são decorrentes de infecções causadas por bactérias multirresistentes e estima-se que em 2050 este número possa aumentar para dez milhões se não forem feitas mudanças adequadas (MOTA FS, et al., 2018).

Segundo o relatório do boletim informativo Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 9, Ano V, da ANVISA, no Brasil, entre as 18.233 infecções de corrente sanguínea primárias associadas ao cateter venoso central notificadas em unidades de terapia intensiva adulto, pediátrica e neonatal, no período entre janeiro e dezembro de 2013, *Acinetobacter sp.* encontrava-se entre os principais patógenos associados (SILVA JC, et al., 2021).

No ambiente hospitalar, a *Acinetobacter sp.* está frequentemente presente em locais úmidos (pias, torneiras e umidificadores), equipamentos de ventilação, bancadas, leitos e demais aparatos médicos. Dessa maneira, se associa a infecções oportunistas, principalmente em pacientes debilitados. Nesse caso, a preocupação e necessidade de identificação precoce advém da sua grande capacidade de causar surtos e infecções nosocomiais (FAN Y, et al., 2021).

Em se tratando de *Pseudomonas aeruginosa*, é o patógeno mais grave que causa pneumonia associada à ventilação mecânica e possui cepas com resistência a múltiplos antibióticos que variam geograficamente e por tipo de infecção (PANG Z, et al.). É comumente encontrada no meio ambiente, principalmente na água, que pode servir como reservatório da infecção. Ademais, discorrendo sobre infecções hospitalares, como pneumonia, infecção urinária e septicemia, a *Klebsiella pneumoniae* está relacionada com altas taxas de morbimortalidade. Relatos cada vez mais frequentes de surtos causados por esse agente justificam sua monitoração no ambiente hospitalar (DUARTE GF, et al., 2021).

Assim, é de fundamental importância que um sistema de vigilância epidemiológica seja empregado de forma eficaz, com o objetivo de gerar subsídios técnicos que permitam avaliar a ocorrência das infecções, sua frequência, os patógenos envolvidos, as situações associadas, entre outros, com o objetivo de que se desenvolvam estratégias para minimizar esse potencial risco à saúde individual e coletiva (DE ARAUJO PR, et al., 2021).

É importante ressaltar a contribuição das culturas de vigilância microbiológicas para o sistema de vigilância epidemiológica. Bactérias multirresistentes apresentam fácil disseminação por meios de objetos inanimados, superfícies e mãos contaminadas. Sabe-se que a cada paciente infectado por bactérias resistentes existem vários outros colonizados, devido a um efeito iceberg desencadeado por esses, favorecendo assim o surgimento de infecções graves (CARVALHO JJV, et al., 2021).

Dessa forma, através da vigilância microbiológica é possível identificar os pacientes colonizados por determinadas bactérias multirresistentes, iniciar o tratamento direcionado imediato e conseqüentemente diminuir o risco de transmissão cruzada de genes de resistência no ambiente hospitalar, reduzindo a morbimortalidade destes pacientes e aumentando o potencial de um melhor desfecho clínico (PÉREZ AUR, 2018).

Soma-se a isso, o fato de que a resistência bacteriana aos antibióticos é uma das grandes preocupações em saúde pública, uma vez que muitos dos principais fármacos utilizados para o tratamento destes patógenos estão se tornando ineficientes para o controle de infecções, visto que o uso indiscriminado de antimicrobianos pode promover alterações genéticas em cepas bacterianas, tornando essas cepas resistentes aos fármacos (SILVA L, et al., 2021).

Sobre a resistência bacteriana, esta é proveniente de modificações em sua estrutura genética e pode ser classificada de acordo com a sua origem na célula como natural ou adquirida. A natural resulta na expressão gênica contínua em todas as bactérias subjacentes, podendo apresentar, dessa forma, resistência a determinados antibióticos. Já a adquirida é desencadeada por um agente indutor, através de mutações no material genético ou adquirindo genes de resistência por transmissão de material genético de outra bactéria que possui tal mutação (OLIVEIRA M, et al., 2020).

O atual estudo demonstra a grande contribuição que os meios de cultura suplementados com antibióticos oferecem na prática diária da realização das culturas de vigilância epidemiológicas. Foi demonstrada a perfeita correlação com o método de referência, seguida da identificação bioquímica da bactéria e do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, através do índice de Kappa igual a 1.000. A correta identificação das bactérias é importante, uma vez que a determinação da conduta a ser tomada (isolamento, tratamento medicamentoso, entre outros) é baseada no resultado do exame. Dessa forma, é importante que o método de escolha apresente resultados exatos, como foi observado com o método avaliado nesta pesquisa.

A validação de novos métodos alternativos, como o do presente no estudo, se faz necessária para garantir aos laboratórios, aos médicos e aos pacientes que os resultados obtidos são válidos e possuem desempenho igual ou melhor do que aqueles obtidos com o correspondente de referência, chamados de padrão ouro, que nesse caso, é a cultura microbiológica convencional. Entende-se como validação, a etapa posterior à fase de desenvolvimento, fundamental para garantir o desempenho funcional e a reprodutibilidade do método. Para a microbiologia, a validação de um método alternativo é o procedimento em que um laboratório ou os demais atestam, por exame, e fornecem evidências convincentes de que os critérios para aplicação específica são atendimentos acertadamente (BRITO FAE, et al., 2021).

Ressalta-se, ainda, que o resultado foi obtido com diferentes espécies bacterianas, incluindo as mais comumente presentes em casos de infecções relacionadas à saúde por germes multirresistentes. Além disso, o método demonstrou excelente reprodutibilidade dos resultados, mostrando os mesmos resultados em repetições dos plantios em diferentes placas.

Uma vez que os resultados obtidos pelos métodos são iguais, o ganho de tempo na detecção de microrganismos multirresistentes com a utilização das placas de ágar suplementados com antibióticos torna-se o principal fator de escolha para a sua utilização na prática diária. No método convencional o crescimento bacteriano ocorre em cerca de 24 a 48 horas após o plantio primário, e após esse crescimento, necessita-se de mais 24 a 48 horas para identificação da bactéria e determinação do perfil de resistência a antimicrobianos.

No entanto, nas placas de ágar suplementadas com antibióticos, se houver crescimento bacteriano em qualquer momento da avaliação, geralmente nas primeiras 24 horas, sabe-se de antemão que se trata de um germe multirresistente, uma vez que as bactérias sensíveis aos antibióticos não crescem nestes meios de cultura. Isso possibilita a tomada de conduta de forma mais rápida, com melhor manejo do paciente, e principalmente, melhor direcionamento terapêutico, otimizando o custo da internação, considerando-se diária hospitalar, custo de antibióticos, custo de isolamento do paciente, entre outros.

Além da diminuição de tempo para obtenção dos resultados, a utilização de placas de ágar suplementadas com antibióticos também leva a diminuição dos custos da análise. A ausência de crescimento de bactérias

sensíveis dispensa a sequência da avaliação que é feita na metodologia convencional, que seria a identificação bioquímica e a determinação do perfil de susceptibilidade. E mesmo nos casos em que há o crescimento, pode-se prosseguir com a identificação da espécie bacteriana para fins de vigilância epidemiológica, mas dispensa-se a determinação do perfil de susceptibilidade, uma vez que já se sabe tratar-se de um germe multirresistente.

CONCLUSÃO

O método do atual estudo apresentou concordância de 100% frente ao método de referência previamente utilizado. Além disso, foi evidenciada a boa estabilidade da esterilidade das placas de ágar suplementadas com antibióticos, e ainda, excelente reprodutibilidade dos resultados. Desse modo, considerando o excelente desempenho, associado a redução de tempo de detecção e diminuição do custo da abordagem, o método em estudo apresenta-se como uma importante solução para utilização em culturas de vigilância microbiológicas.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Todo o material utilizado no estudo foi gentilmente cedido por uma empresa do segmento de Medicina Laboratorial, do centro sul de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS

1. ANDRADE CR, et al. Identificação de Bactérias Causadoras de Infecção Hospitalar Utilizando Fenotipagem Clássica. *Brazilian Journal of Development*, 2021; 7(6): 54446-54463.
2. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Boas práticas em microbiologia clínica. 2008. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/guia_estudante/conteudo.htm. Acessado em: 12 de abril de 2022.
3. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. 2013. Disponível em: <https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201706/30132435-1369161512-nota-tec-01-2013-anvisa.pdf>. Acessado em: 23 de abril de 2022.
4. ARAÚJO PC, et al. Prevalência de infecção relacionada à assistência à saúde em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. *Enfermeria Global*, 2018; 17(4): 278-315.
5. BRITO FAE, et al. Validação de métodos microbiológicos alternativos: uma visão geral. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2021; 24:15-17.
6. CARVALHO JJV, et al. Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. *Research, Society and Development*, 2021; 10(6): e58810616303-e58810616303.
7. DA SILVA GA, VIEGAS AM. O enfermeiro no cuidado das infecções relacionadas à assistência à saúde do paciente em hemodiálise por meio de cateter duplo lúmen. *Única cadernos acadêmicos*, 2019; 3: 1.
8. DE ARAUJO PR, et al. Desafios e inovações no uso de ferramentas tecnológicas para a vigilância epidemiológica em tempos de Covid-19. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 2021; 13(1): e5768-e5768.
9. DUARTE GF, et al. Uso de diferentes métodos para controlar o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*: uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 2021; 10(2): e40310212546.
10. FAN Y, et al. Denitrification performance and mechanism of a novel isolated *Acinetobacter* sp. FYF8 in oligotrophic ecosystem. *Bioresource Technology*, 2021; 320: 124280.
11. FILHO FSS. Perfil de resistência a antimicrobianos e prevalência de microrganismos isolados de culturas de pacientes ambulatoriais e hospitalizados em Campos dos Goytacazes-RJ. *Revista brasileira de análises clínicas*, 2020; 52(3): 275-80.
12. GAEDICKE FL. O Controle de bactérias multirresistentes através do protocolo de cultura de vigilância. Dissertação (Especialização em Microbiologia, Micologia e Virologia). Academia de Ciência e Tecnologia, Campo Grande, 2018; 20p.
13. LIMA VS. Avaliação das culturas de vigilância em pacientes sob risco de colonização por bactérias multirresistentes à admissão hospitalar. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em medicina) - Departamento de Medicina. Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2018; 51p.
14. MARINHO MGL, et al. Estudo de consumo de antimicrobianos do Centro de Terapia Intensiva de um hospital Universitário da Região Norte. *Research, Society and Development*, 2022; 11(5): e0611527592-e0611527592.

15. MONTEIRO RFS, et al. O uso indiscriminado de antimicrobianos para o desenvolvimento de micro-organismos resistentes. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 2020; 53: e3597-e3597.
16. MOTA FS, et al. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2018; 50(3): 270-277.
17. SILVA JC, et al. Multifunctional characteristics of *Acinetobacter lwoffii* Bac109 for growth promotion and colonization in micropropagated sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 2021; 51: e69373.
18. SILVA LD. Segurança do paciente no contexto hospitalar. *Revista Enfermagem UERJ*, 2012; 20(3): 291-292.
19. SILVA L, et al. Uso indiscriminado de antibióticos durante a pandemia: o aumento da resistência bacteriana pós-COVID-19. *Revista Brasileira de Análise Clínica*, 2021; 53: 2.
20. TARTARI E, et al. Implementation of the infection prevention and control core components at the national level: a global situational analysis. *Journal of Hospital Infection*, 2021; 108: 94-103.
21. TAUFER J, et al. Caracterização das infecções relacionadas à assistência à saúde em um hospital de ensino. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, 2019; 9(3).
22. OLIVEIRA M, et al. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antibióticos: uma questão de saúde pública. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 2020; 6(11): 18-18.
23. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Américas notificam aumentam de infecções resistentes a medicamentos devido ao uso indevido de antimicrobianos durante pandemia. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/17-11-2021-americas-notificam-aumento-infeccoes-resistentes-medicamentos-devido-ao-uso#:~:text=Washington%2C%20DC%2C%2017%20de%20novembro,da%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Pan%2DAmericana%20da>. Acessado em: 14 de abril de 2022.
24. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Organização Mundial da Saúde pede melhor higienização das mãos e outras práticas de controle de infecções. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2021-oms-pede-melhor-higienizacao-das-maos-e-outras-praticas-controle-infeccoes>. Acessado em: 23/04/2022
25. PANG Z, et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 2019; 37(1): 177-192.
26. PÉREZ AUR. Infecciones asociadas a la asistencia sanitaria. Instrumento técnico-metodológico para la vigilancia microbiológica selectiva en áreas críticas. *Hig Sanid Ambient*, 2018; 18: 1669-1674.